

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491005 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.07.02

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.08.05

(54) АНТИТЕЛА К АЛЬФА-РЕЦЕПТОРУ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 ЧЕЛОВЕКА

(31) 63/229,836; 63/348,388

(32) 2021.08.05; 2022.06.02

(33) US

(86) PCT/US2022/074575

(87) WO 2023/015278 2023.02.09

(71) Заявитель:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:

Атвелл Шейн Круммен, Фэн Ицин,
Карта Майя Рейчел, Леунг Донмиенн
Доен Мун, На Сонгкинг, Пеллетьер
Лаура Энн, Руиз Диана Исабель,
Стокелл Дэвид Джон (US)

(74) Представитель:

Гизатуллина Е.М., Гизатуллин
Ш.Ф., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В., Костюшенкова М.Ю.
(RU)

(57) Изобретение относится к антителам, которые специфически связывают IL-4R α человека, композициям, содержащим такие антитела к IL-4R α , и способам применения таких антител к IL-4R α .

A1

202491005

202491005

A1

АНТИТЕЛА К АЛЬФА-РЕЦЕПТОРУ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 ЧЕЛОВЕКА

Настоящее описание относится к области медицины. В частности, настоящее описание относится к антителам, которые специфически связывают альфа-субъединицу рецептора интерлейкина-4 (IL-4) человека (IL-4R α), композициям, содержащим такие антитела к IL-4R α , и способам применения таких антител к IL-4R α .

Продолжающаяся эпидемия иммуно-воспалительных расстройств, таких как воспалительные заболевания 2-го типа, такие как, помимо прочих, атопический дерматит, астма, пищевая аллергия, представляют собой гетерогенный набор заболеваний, поражающих различные ткани-мишени. Иммунологические и генетические исследования выявили различные цитокины и рецепторы цитокинов, участвующие в воспалительных заболеваниях 2-го типа, в частности альфа-рецептор интерлейкина-4 и связанные с ним цитокины, интерлейкин-4 и интерлейкин-13 были идентифицированы как ключевые побуждающие факторы воспалительных путей 2-го типа.

Альфа-рецептор интерлейкина-4 человека (также известный как IL-4R α ; субъединица альфа-рецептора IL-4; CD124; рецептор фактора стимуляции В-клеток (BSF)) представляет собой трансмембранный гликопротеин из семейства цитокиновых рецепторов класса I, который играет важную роль в различных биологических процессах, включая иммунные ответы на основе Th2, активацию альтернативных макрофагов и дендритных клеток, иммунитет слизистой оболочки, аллергическое воспаление, прогрессирование опухоли и атерогенез. Сообщалось, что IL-4R α экспрессируется на Т- и В-лимфоцитах, эозинофилах, базофилах, моноцитах и макрофагах, дендритных клетках, эндотелиальных клетках, фибробластах, эпителиальных клетках дыхательных путей и гладкомышечных клетках. IL-4R α существует в 2 различных комплексах по всему организму: рецепторы типа I состоят из субъединицы IL-4R α с общей γ -цепью и специфически связывают IL-4, тогда как рецепторы типа II состоят из субъединицы IL-4R α , связанной с другой субъединицей, известной как IL-13R α 1. Рецепторы IL-4R α типа I и типа II называются рецепторами IL-4 (IL-4R). IL-4R α типа I обнаруживается, например, в лимфоцитах и миелоидных клетках, а IL-4R α типа II обнаруживается, например, в миелоидных клетках и негематопоэтических клетках. Эти рецепторы типа II обладают способностью связывать как интерлейкин -4, так и интерлейкин-13, два цитокина с тесно связанными биологическими функциями.

Интерлейкин-4 человека (также известный как IL-4; BSF-1) присутствует в различных тканях, включая гематопоэтическую, эндотелиальную, эпителиальную, мышечную, фибробласты, гепатоциты и ткани головного мозга. Было обнаружено, что IL-4 человека является ключевым регулятором гуморального и адаптивного иммунитета и играет роль, например, в стимуляции активированных В-клеток, пролиферации Т-клеток, дифференцировке В-клеток в плазматические клетки, индукции дифференцировки наивных CD4 + Т-клеток в эффекторные клетки Th2, усилении продукции ГКГС класса II, CD23 и IL-4R α на В-клетках и клетках миелоидного происхождения, таких как моноцитарные клетки, снижении продукции Th1-клеток, макрофагов, ИФН-гамма и дендритных клеток IL-12 (Hershey et al., N. Engl. J. Med. 1997, 337 (24): 1720–5).

Интерлейкин-13 человека (также известный как IL-13; P600) играет важную роль, например, в метаплазии бокаловидных клеток, сокращении гладкомышечных клеток и выработке слизи в эпителии дыхательных путей, например при аллергической астме. Связывание комплекса IL-13 с IL-4R α инициирует активацию множества путей трансдукции, включая тирозинкиназу 2 (Тук-2) и Янус-киназу 1 (JAK1). Таким образом, цитокины IL-4 и IL-13 активируют транскрипционный фактор STAT6, способствуют переключению класса В-клеток на IgE и хемотаксису эозинофилов, а также, как было обнаружено, играют потенциальную роль в пролиферации опухоли, выживаемости клеток, клеточной адгезии и метастазах (Suzuki, A., et al., Cytokine 2015; 75(1): 79–88). IL-13 экспрессируется множеством типов клеток, включая В-клетки, базофилы, эозинофилы, тучные клетки, эндотелиальные клетки, фибробласты, моноциты, макрофаги, эпителиальные клетки дыхательных путей и гладкомышечные клетки (Hershey et al., N. Engl. J. Med. 1997, 337 (24): 1720–5).

Методы терапии антителами, направленной против воспалительных заболеваний 2-го типа, известны и либо одобрены, либо находятся в стадии клинической разработки. Такие антитела включают дупилумаб, нацеленный на IL-4R α ; пасколизумаб, нацеленный на IL-4; лебрикизумаб, анрукинзумаб и тралокинумаб, нацеленные на путь IL-13 (Junttila, I., Frontiers in Immunology 2018, 9: 888). Однако, несмотря на разработку этих методов нацеленной терапии, по-прежнему существует потребность в дополнительных антителах к IL-4R α для применения у пациентов с воспалительными заболеваниями 2-го типа, такими как астма, атопический дерматит и/или эозинофильный эзофагит (ЭЭ), а также для пациентов, которые остаются резистентными к лечению или не демонстрируют стойкий ответ на современные методы терапии, такие как дупилумаб.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

В настоящем описании предложены антитела, которые специфически связывают IL-4R α человека и ингибируют реакции, опосредованные IL-4R, IL-4 и/или IL-13 (например, пролиферацию В-клеток, фосфорилирование STAT-6, экспрессию CD23), композиции, содержащие такие антитела к IL-4R α , и способы применения таких антител к IL-4R α . В частности, в настоящем описании предложены антитела к IL-4R α человека, которые связывают новый эпитоп, охватывающий N-концевые домены фибронектина III типа 1 и 2 IL-4R α человека и/или яванского макака, обладают желаемой аффинностью связывания, блокируют опосредованную как IL-4, так и IL-13 передачу сигналов IL-4R и/или обладают хорошими свойствами развиваемости, такими как вязкость и/или агрегация. Такие антитела человека к IL-4R α можно использовать для лечения воспалительных заболеваний 2-го типа, связанных с опосредованной IL-4 или IL-13 передачей сигналов IL-4R, включая атопический дерматит, эозинофильный эзофагит (ЭЭ), полипоз носа, астму, хронический риносинусит (ХРС), аллергическое заболевание, хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ) или хроническую спонтанную крапивницу (ХСК). Такие антитела к IL-4R α можно дополнительно применять для лечения рака. Таким образом, антитела к IL-4R α человека, предложенные в настоящем документе, имеют одно или более из следующих свойств: 1) связывают новый структурный эпитоп, охватывающий N-концевые домены фибронектина типа III 1 и 2 IL-4R α

человека и/или яванского макака, 2) связывают новый функциональный эпитоп с IL-4R α человека и/или яванского макака, 3) связывают IL-4R α человека и/или яванского макака с желаемой аффинностью связывания, 4) ингибируют опосредованную IL-4 передачу сигналов IL-4R, 5) ингибируют опосредованную IL-13 передачу сигналов IL-4R, 6) существенно не индуцируют клеточную гибель, опосредованную эффекторной функцией, 7) существенно не индуцируют связывание комплемента, 8) сохраняют связывание с Fc γ -рецептором и/или 9) имеют низкую вязкость, связывание с белками сыворотки и/или агрегацию.

В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию, которые специфически связывают IL-4R α человека, представляют собой полностью человеческие антитела.

10 В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию связывают новый структурный эпитоп IL-4R α человека, причем эпитоп охватывает домен 1 и домен 2 N-концевого домена фибронектина типа III IL-4R α . В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию связывают новый функциональный эпитоп IL-4R α человека. В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию специфически связывают IL-4R α человека на В-клетках, Т-клетках и миелоидных клетках. В дополнительных вариантах осуществления антитела по настоящему описанию связывают IL-4R α человека и/или яванского макака и блокируют связывание IL-4 и IL-13 с IL-4R α , таким образом предотвращая опосредованную IL-4R передачу сигналов. В некоторых вариантах осуществления антитела по настоящему описанию ингибируют индуцированное IL-4 и IL-13 фосфорилирование STAT-6 IL-4R, пролиферацию В-клеток и экспрессию CD23. В прочих дополнительных вариантах осуществления антитела по настоящему описанию существенно не индуцируют опосредованную эффекторной функцией клеточную гибель. В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека, имеющее IgG4P человека или основную цепь IgG1A человека, сохраняет связывание с Fc γ -рецептором. В таких вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека, имеющее основную цепь IgG4P человека или IgG1A человека, имеет улучшенное связывание с В-клетками и миелоидными клетками по сравнению с антителом IL-4R α человека, имеющим безэффекторную основную цепь (например, IgG1AAA).

15
20
25

В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L42, L43, E45, H47, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L42, L43, E45, H47, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения

30
35

аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, содержащим один или более аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L43, E45, H47, T48, C49, I50, H62, L64, M65, D66, D67, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15).

5 В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L43, E45, H47, T48, C49, I50, H62, L64, M65, D66, D67, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15).

10 В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, содержащим один или более аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, L39, F41, L42, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15).

15 В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, L39, F41, L42, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15).

20 В дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, содержащим один или более аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, T48, C49, I50, E52, H62, M65, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15).

25 В дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, T48, C49, I50, E52, H62, M65, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15).

30 В дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, содержащим один или более аминокислотных остатков, выбранных из R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15), причем эти остатки расположены в домене 2 N-концевых доменов фибронектина типа III IL-4R α . В прочих дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека,

35

содержащим по меньшей мере один или более из аминокислотных остатков D66, D67 и D125 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В прочих дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, содержащим по меньшей мере один из аминокислотных остатков D66 и D67 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В прочих дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, содержащим по меньшей мере один из аминокислотных остатков D66 и D125 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В прочих дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с эпитопом IL-4R α человека, содержащим аминокислотный остаток D66 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В других вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с структурным и/или функциональным эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп охватывает домен 1 и домен 2 N-концевых доменов фибронектина типа III IL-4R α . В конкретных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с новым структурным и/или функциональным эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп перекрывается с сайтом связывания IL-4 с IL-4R α . В таких вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент блокирует связывание IL-4 с IL-4R α человека. В конкретных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с новым структурным и/или функциональным эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп перекрывается с сайтом связывания IL-13 с IL-4R α . В таких вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент блокирует связывание IL-13 с IL-4R α человека. В конкретных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с новым структурным и/или функциональным эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп перекрывается с обоими сайтами связывания IL-4 и IL-13 с IL-4R α . В таких вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент блокирует связывание IL-4 и IL-13 с IL-4R α человека. В некоторых вариантах осуществления эпитоп IL-4R α определяют посредством рентгенокристаллографии, аланин-сканирующего мутагенеза, мутагенеза стерического несоответствия и/или масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS). В других вариантах осуществления эпитоп IL-4R α определяют посредством сайт-направленного мутагенеза.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает IL-4R α человека и содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), причем VH содержит определяющие комплементарности участки тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а VL содержит определяющие комплементарности участки легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3, при этом HCDR1 содержит SEQ ID NO: 1, HCDR2 содержит SEQ ID NO: 2, HCDR3 содержит SEQ ID

NO: 3, Lcdr1 содержит SEQ ID NO: 4, Lcdr2 содержит SEQ ID NO: 5, а Lcdr3 содержит SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает IL-4R α , содержит VH, содержащую и SEQ ID NO: 7, и VL, содержащую SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 33, и LC, содержащую SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 35, и LC, содержащую SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 9, и LC, содержащую SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 13, и LC, содержащую SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 37, и LC, содержащую SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 31, и LC, содержащую SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 50, и LC, содержащую SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 52, и LC, содержащую SEQ ID NO: 10.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает IL-4R α человека, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом VH содержит определяющие комплементарность участки тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а VL содержит определяющие комплементарность участки легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3, при этом HCDR1 содержит SEQ ID NO: 42, HCDR2 содержит SEQ ID NO: 2, HCDR3 содержит SEQ ID NO: 3, LCDR1 содержит SEQ ID NO: 22, LCDR2 содержит SEQ ID NO: 5, а LCDR3 содержит SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает IL-4R α , содержит VH, содержащую и SEQ ID NO: 44, и VL, содержащую SEQ ID NO: 45. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 46, и LC, содержащую SEQ ID NO: 47.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложено антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает IL-4R α человека, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом VH содержит определяющие комплементарность участки тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а VL содержит определяющие комплементарность участки легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3, при этом HCDR1 содержит SEQ ID NO: 19, HCDR2 содержит SEQ ID NO: 20, HCDR3 содержит SEQ ID NO: 3, LCDR1 содержит SEQ ID NO: 22, LCDR2 содержит SEQ ID NO: 5, а LCDR3 содержит SEQ ID NO: 24. В некоторых

вариантах осуществления антитела к IL-4R α человека содержат VH, содержащую SEQ ID NO: 25, и VL, содержащую SEQ ID NO: 26. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывает IL-4R α человека, содержит тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 27, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 28.

5 В некоторых вариантах осуществления настоящего описания антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающий IL-4R α человека, имеет изотип IgG1 человека или IgG4 человека.

В некоторых вариантах осуществления настоящего описания антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающий IL-4R α человека, имеет изотип IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека имеет модифицированную область Fc IgG1 человека, причем антитело содержит аланин в аминокислотном остатке 322 (замена K322A) (нумерация ЕС), также называемый IgG1A. В таких вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию имеет уменьшенную или устраненную комплементарную активность. В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную область Fc IgG1 человека, содержащую L234A, I235A и/или P329A, также называемую IgG1AA или IgG1AAA соответственно, которые имеют уменьшенное или подавленное связывание с рецепторами Fc γ и C1q (все остатки пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент, имеющее основную цепь IgG1A человека, имеет улучшенное связывание с В-клетками и миелоидными клетками по сравнению с антителом к IL-4R α человека, имеющим безэффекторную основную цепь человека IgG1AAA.

В некоторых вариантах осуществления настоящего описания антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, специфически связывающий IL-4R α человека, имеет изотип IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную шарнирную область IgG4 человека, содержащую замену S228P (нумерация ЕС), также называемую IgG4P, которая снижает обмен Fab-плечами с IgG4 *in vivo* (см. Labrijn, et al., Nat. Biotechnol. 2009, 27(8):767). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную область Fc IgG4 человека, содержащую F234A и/или L235A (нумерация ЕС), также называемую IgG4AA, которая снижает связывание с рецепторами Fc γ и C1q. Согласно некоторым вариантам осуществления настоящего описания область Fc содержит S228P, F234A и L235A (все остатки пронумерованы в соответствии с IMGT или нумерацией ЕС), также называемые IgG4PAA. В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент, имеющее основную цепь IgG4P человека, имеет улучшенное связывание с В-клетками и миелоидными клетками по сравнению с антителом к IL-4R α человека, имеющим безэффекторную основную цепь.

В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную область HC IgG4 человека, которая снижает вязкость антитела по сравнению с тем же антителом, что и человеческая константная область HC IgG4 дикого типа. В таких вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую аминокислотную замену в любом одном или более из следующих аминокислотных остатков по сравнению с человеческой константной областью HC IgG4 дикого типа: Q274K, Q355R, E419Q (все позиции пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС).

В других вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную область HC IgG4 человека, содержащую аминокислотную замену в любом одном или более из следующих аминокислотных остатков по сравнению с областью HC IgG4 человека дикого типа: E137G, D203N, Q274K, Q355R, E419Q (все позиции пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС).

В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замену E137G (нумерация ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замену D203N (нумерация ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замену Q274K (в соответствии с нумерацией ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замену Q355R (в соответствии с нумерацией ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замену E419Q (в соответствии с нумерацией ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замены Q274K и Q355R (все позиции пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замены Q274K и E419Q (все позиции пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замены Q355R и E419Q (все позиции пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замены Q274K, Q355R и E419Q (все позиции пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его

антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную человеческую константную область HC IgG4, содержащую замены S228P, Q274K, Q355R, E419Q (все позиции пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированную область HC IgG4 человека, содержащую замены S228P, E137G, D203N, Q274K, Q355R, E419Q (все позиции пронумерованы в соответствии с нумерацией ЕС).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит одно или более из следующего: глицин в аминокислотном остатке 137 (нумерация ЕС), аспарагин в аминокислотном остатке 203 (нумерация ЕС), лизин в аминокислотном остатке 274 (нумерация ЕС), аргинин в аминокислотном остатке 355 (нумерация ЕС) или глутамин в аминокислотном остатке 419 (нумерация ЕС).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: лизин в аминокислотном остатке 274 (нумерация ЕС), аргинин в аминокислотном остатке 355 и глутамин в аминокислотном остатке 419 (нумерация ЕС).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: глицин в аминокислотном остатке 137 (нумерация ЕС), аспарагин в аминокислотном остатке 203 (нумерация ЕС), лизин в аминокислотном остатке 274 (нумерация ЕС), аргинин в аминокислотном остатке 355 и глутамин в аминокислотном остатке 419 (нумерация ЕС).

В дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент имеет модифицированный константный домен IgG1 человека или IgG4 человека, содержащий сконструированные остатки цистеина для применения в создании соединений конъюгата антитела (также называемых биоконъюгатами) (см. WO 2018/232088 A1). Более конкретно, в таких вариантах осуществления настоящего описания антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент содержит цистеин в аминокислотном остатке 124 (нумерация ЕС), или цистеин в аминокислотном остатке 378 (нумерация ЕС), или цистеин в аминокислотном остатке 124 (нумерация ЕС) и цистеин в аминокислотном остатке 378 (нумерация ЕС).

В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывают IL-4R α с модифицированной каркасной областью IgG1 человека или IgG4 человека. В некоторых вариантах осуществления модификации находятся в каркасной области VH. В некоторых вариантах осуществления модификации находятся в каркасной области VL. В некоторых вариантах осуществления модификации находятся в каркасных областях VH и VL. В дополнительных вариантах осуществления модифицированная каркасная область IgG1 человека или IgG4 человека снижает риск иммуногенности антитела.

В некоторых вариантах осуществления настоящего описания антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию связывает IL-4R α и ингибирует связывание IL-4 человека и IL-13 человека с IL-4R α человека. В таких вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию ингибирует связывание

IL-4 человека с IL-4R α человека и, таким образом, ингибирует активацию IL-4R человека, фосфорилирование STAT-6, В-клеточную и/или Т-клеточную пролиферацию и экспрессию CD23. В таких вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию связывает IL-4R α человека и ингибирует связывание IL-4 человека с IL-4R α человека на 5 примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90% или примерно 100%. В дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию связывает IL-4R α человека на В- и Т-клетках и ингибирует индуцированное IL-4 фосфорилирование STAT-6 на примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, 10 примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90% или примерно 100%. В дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию связывает IL-4R α человека на В-клетках и ингибирует индуцированную IL-4 пролиферацию В-клеток на примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, 15 примерно 90% или примерно 100%. В других вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию связывает IL-4R α человека на миелоидных клетках и ингибирует индуцированную IL-4 экспрессию CD23 на миелоидных клетках человека на примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90% или примерно 100%.

20 В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию ингибирует связывание IL-13 человека с IL-4R α человека. В таких вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию ингибирует связывание IL-13 человека с IL-4R α человека и, таким образом, ингибирует активацию IL-4R человека, фосфорилирование STAT-6, В-клеточную и/или Т-клеточную пролиферацию и экспрессию CD23. В дополнительных вариантах 25 осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию связывает IL-4R α человека и ингибирует связывание IL-13 человека с IL-4R α человека на примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90% или примерно 100%. В прочих дополнительных вариантах 30 осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию связывает IL-4R α человека на В-клетках и ингибирует индуцированную IL-13 активацию STAT-6 на В-клетках на примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90% или примерно 100%. В дополнительных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по 35 настоящему описанию ингибирует связывание IL-13 человека с IL-4R α человека и ингибирует В-клеточную и/или Т-клеточную пролиферацию. В таких вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию связывает IL-4R α человека на В-клетках и/или Т-клетках и ингибирует индуцированную IL-13 пролиферацию В-

и/или Т-клеток на примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90% или примерно 100%. В других вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию связывает IL-4R α человека на миелоидных клетках и ингибирует индуцированную IL-13 экспрессию CD23 на миелоидных клетках человека на примерно 10%, примерно 20%, примерно 30%, примерно 40%, примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90% или примерно 100%.

В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему описанию ингибирует связывание IL-4 человека и IL-13 человека с IL-4R α посредством связывания с новым эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L42, L43, E45, H47, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент ингибирует связывание IL-4 человека и/или IL-13 человека с IL-4R α человека посредством связывания с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L43, E45, H47, T48, C49, I50, H62, L64, M65, D66, D67, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент ингибирует связывание IL-4 человека и/или IL-13 человека с IL-4R α человека посредством связывания с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, L39, F41, L42, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В некоторых вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент ингибирует связывание IL-4 человека и/или IL-13 человека с IL-4R α человека посредством связывания с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, T48, C49, I50, E52, H62, M65, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент ингибирует связывание IL-4 человека и/или IL-13 человека с IL-4R α человека посредством связывания с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15), причем эти остатки расположены в домене 2 N-концевого домена фибронектина типа III IL-4R α . В прочих дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент ингибирует связывание IL-4 человека и/или IL-13 человека с IL-4R α человека посредством связывания с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит по меньшей мере один из аминокислотных

остатков D66, D67 и D125 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В прочих дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент ингибирует связывание IL-4 человека и/или IL-13 человека с IL-4R α человека посредством связывания с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит по меньшей мере один из аминокислотных остатков D66 и D67 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В прочих дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент ингибирует связывание IL-4 человека и/или IL-13 человека с IL-4R α человека посредством связывания с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит по меньшей мере один из аминокислотных остатков D66 и D125 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15). В прочих дополнительных вариантах осуществления антитело к IL-4R α человека или его антигенсвязывающий фрагмент ингибирует связывание IL-4 человека и/или IL-13 человека с IL-4R α человека посредством связывания с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит аминокислотный остаток D66 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15).

В некоторых вариантах осуществления настоящего описания предложены нуклеиновые кислоты, кодирующие тяжелую цепь или легкую цепь, или VH или VL, новых антител, которые специфически связывают IL-4R α человека, или векторы, содержащие такие нуклеиновые кислоты.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании предложена нуклеиновая кислота, содержащая последовательность SEQ ID NO: 11, 12, 14, 29, 30, 32, 34, 36, 38, 48, 49, 51 или 53.

В некоторых вариантах осуществления предложены нуклеиновые кислоты, кодирующие тяжелую цепь или легкую цепь антител, специфически связывающих IL-4R α человека. В некоторых вариантах осуществления предложены нуклеиновые кислоты, содержащие последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 9, 10, 13, 27, 28, 31, 33, 35, 37, 46, 47, 50 или 52. В некоторых вариантах осуществления предложены нуклеиновые кислоты, содержащие последовательность, кодирующую тяжелую цепь антитела, которая содержит SEQ ID NO: 9, 13, 27, 31, 33, 35, 37, 46, 50 или 52.

Например, нуклеиновая кислота может содержать последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 11, 14, 29, 32, 34, 36, 38, 48, 51 или 53. В некоторых вариантах осуществления предложены нуклеиновые кислоты, содержащие последовательность, кодирующую легкую цепь антитела, которая содержит SEQ ID NO: 10, 28 или 47. Например, нуклеиновая кислота может содержать последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 12, 30 или 49.

В некоторых вариантах осуществления настоящего описания предложены нуклеиновые кислоты, кодирующие VH или VL антител, специфически связывающих IL-4R α человека. В некоторых вариантах осуществления предложены нуклеиновые кислоты, содержащие последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 7, 8, 25, 26, 44 или 45. В некоторых вариантах осуществления предложены нуклеиновые кислоты, содержащие последовательность, кодирующую VH антитела, которая содержит SEQ ID NO: 7, 25 или 44. В некоторых вариантах осуществления

кодирующую SEQ ID NO: 46, и второй вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 47.

5 Нуклеиновые кислоты согласно настоящему описанию могут быть экспрессированы в клетке-хозяине, например после того, как нуклеиновые кислоты были функционально связаны с последовательностью управления экспрессией. Последовательности управления экспрессией, способные к экспрессии нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны, хорошо известны в данной области техники. Вектор экспрессии может включать последовательность, кодирующую один или более сигнальных пептидов, которые облегчают секрецию полипептида (-ов) из клетки-хозяина. Векторы экспрессии, содержащие нуклеиновую кислоту, представляющую 10 интерес (например, нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или легкую цепь антитела), могут быть перенесены в клетку-хозяина посредством хорошо известных способов, например стабильной или временной трансфекции, трансформации, трансдукции или инфекции. Кроме того, векторы экспрессии могут содержать один или более селективных маркеров, например, тетрациклин, неомицин и дигидрофолатредуктазу, чтобы облегчить детектирование клеток-хозяев, трансформированных целевыми последовательностями нуклеиновых кислот. 15

В другом аспекте в настоящем документе предложены клетки, например, клетки-хозяева, содержащие нуклеиновые кислоты, векторы или композиции нуклеиновых кислот, описанные в настоящем документе. Клетка-хозяин может представлять собой клетку, стабильно или временно трансфицированную, трансформированную, трансдуцированную или инфицированную одним или 20 более векторами экспрессии, экспрессирующими полное антитело, описанное в настоящем документе, или его часть. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин может быть стабильно или временно трансфицирована, трансформирована, трансдуцирована или инфицирована вектором экспрессии, экспрессирующим полипептиды HC и LC антитела согласно настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин может быть стабильно или 25 временно трансфицирована, трансформирована, трансдуцирована или инфицирована первым вектором, экспрессирующим полипептиды HC, и вторым вектором, экспрессирующим полипептиды LC антитела, описанного в настоящем документе. Такие клетки-хозяева, например клетки-хозяева млекопитающих, могут экспрессировать антитела, которые специфически связывают IL-4R α человека, описанные в настоящем документе. Клетки-хозяева млекопитающих, о которых известно, что они способны экспрессировать антитела, включают клетки CHO, клетки HEK293, клетки COS и 30 клетки NS0.

В некоторых вариантах осуществления клетка, например клетка-хозяин, содержит вектор, содержащий первую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 9, 13, 27, 31, 33, 35, 37, 46, 50 или 52, и вторую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ 35 ID NO: 10, 28 или 47.

В некоторых вариантах осуществления клетка, например клетка-хозяин, содержит первый вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 9, 13, 27,

31, 33, 35, 37, 46, 50 или 52, и второй вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 10, 28 или 47.

5 В настоящем описании дополнительно предложен способ получения антитела или его антигенсвязывающих фрагментов, которое специфически связывает IL-4R α человека, описанный в настоящем документе, посредством культивирования клетки-хозяина, описанной выше, например клетки-хозяина млекопитающего, в условиях, в которых антитело экспрессируется, и выделения экспрессированного антитела из культуральной среды. Культуральная среда, в которую было секретировано антитело, может быть очищена посредством обычных методик. Могут быть использованы различные методы очистки белка, и указанные методы известны в данной области
10 техники и описаны, например, в Deutscher, *Methods in Enzymology* 182: 83–89 (1990) и Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, 3rd Edition, Springer, NY (1994).

В настоящем описании дополнительно предложены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, полученные любым из способов, описанных в настоящем документе.

15 В другом аспекте в настоящем документе предложены фармацевтические композиции, содержащие антитело, нуклеиновую кислоту или вектор, описанный в настоящем документе. Такие фармацевтические композиции могут также содержать один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов, разбавителей или носителей. Фармацевтические композиции могут быть получены способами, хорошо известными в данной области техники (например, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 22nd ed. (2012), A. Loyd et al., Pharmaceutical Press).

20 Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связывают IL-4R α человека, нуклеиновые кислоты, векторы или фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, можно использовать для лечения расстройств, связанных с IL-4R, таких как иммунные воспалительные заболевания, такие как воспалительные заболевания 2-го типа, включая, без ограничений, атопический дерматит, эозинофильный эзофагит, полипоз носа, астму,
25 хронический риносинусит (ХРС), аллергическое заболевание, хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ) или хроническую спонтанную крапивницу (ХСК). Таким образом, антитела по описанию можно дополнительно использовать для лечения рака, например рака, ассоциированного с В-клетками, такого как ХЛЛ, или других видов рака, таких как злокачественная глиома, рак яичника, рак легкого, плоскоклеточная карцинома головы и шеи (ПКГШ), рак поджелудочной
30 железы, почек, толстой кишки, предстательной железы и мочевого пузыря. Такие способы могут дополнительно включать введение субъекту одного или более химиотерапевтических препаратов. В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтический препарат вводят в одновременной, отдельной или последовательной комбинации с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое специфически связывает IL-4R α человека, описанный в настоящем документе,
35 или его фармацевтическую композицию. В вариантах осуществления настоящего описания дополнительно предложены способы лечения рака антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, которое специфически связывает IL-4R α человека или его фармацевтическую

композицию, в одновременной, отдельной или последовательной комбинации с ионизирующим излучением.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложены способы лечения нарушения, ассоциированного с IL-4R, например иммунного воспалительного расстройства, такого как иммунное воспалительное расстройство 2-го типа или рак, у субъекта (например, пациента-человека), нуждающегося в этом, посредством введения субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое специфически связывает IL-4Rα человека, нуклеиновой кислоты, кодирующей такое антитело, которое специфически связывает IL-4Rα человека, вектора, содержащего такую нуклеиновую кислоту, или фармацевтической композиции, содержащей такое антитело, которое специфически связывает IL-4Rα человека, нуклеиновую кислоту или вектор, описанные в настоящем документе. Антитела, нуклеиновые кислоты, векторы или фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, можно вводить парентеральными путями (например, подкожно и внутривенно). В различных вариантах осуществления IL-4Rα/IL-4 и/или IL-4Rα/IL-13-ассоциированное иммунное воспалительное расстройство представляет собой воспалительное расстройство 2-го типа. Такие воспалительные расстройства 2-го типа включают, без ограничений, атопический дерматит, эозинофильный эзофагит, полипоз носа, астму, хронический риносинусит (ХРС), аллергические заболевания, хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ) или хроническую спонтанную крапивницу (ХСК). В некоторых вариантах осуществления расстройство IL-4R представляет собой рак, например рак, ассоциированный с В-клетками, такой как ХЛЛ, или другие виды рака, такие как злокачественная глиома, рак яичника, рак легкого, плоскоклеточная карцинома головы и шеи (ПКГШ), рак поджелудочной железы, почек, толстой кишки, предстательной железы и мочевого пузыря.

В настоящем документе также предложены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связывают IL-4Rα человека, нуклеиновые кислоты, векторы или фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, для применения в терапии. Кроме того, в настоящем описании также предложены антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связывают IL-4Rα человека, нуклеиновые кислоты, векторы или фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, для применения в лечении расстройства IL-4R, например иммунных воспалительных расстройств, таких как воспалительное расстройство 2-го типа или рак. Такие воспалительные расстройства 2-го типа включают, без ограничений, атопический дерматит, эозинофильный эзофагит, полипоз носа, астму, хронический риносинусит (ХРС), аллергическое заболевание, хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ) или хроническую спонтанную крапивницу (ХСК). В некоторых вариантах осуществления IL-4R-ассоциированное расстройство представляет собой рак, например рак, ассоциированный с В-клетками, такой как ХЛЛ, или другие виды рака, такие как злокачественная глиома, рак яичника, рак легкого, плоскоклеточная карцинома головы и шеи (ПКГШ), рак поджелудочной железы, почек, толстой кишки, предстательной железы и мочевого пузыря.

В настоящем документе предложено применение антител или их антигенсвязывающих фрагментов, которые специфически связывают IL-4R α человека, нуклеиновые кислоты, векторы или фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, для применения при лечении расстройства IL-4R, например иммунных воспалительных расстройств, таких как воспалительное расстройство 2-го или рак. Такие воспалительные расстройства 2-го типа включают, без ограничений, атопический дерматит, эозинофильный эзофагит, полипоз носа, астму, хронический риносинусит (ХРС), аллергическое заболевание, хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ) или хроническую спонтанную крапивницу (ХСК). В некоторых вариантах осуществления IL-4R-ассоциированное расстройство представляет собой рак, например рак, ассоциированный с В-клетками, такой как ХЛЛ, или другие виды рака, такие как злокачественная глиома, рак яичника, рак легкого, плоскоклеточная карцинома головы и шеи (ПКГШ), рак поджелудочной железы, почек, толстой кишки, предстательной железы и мочевого пузыря.

Термин «IL-4R α », используемый в настоящем документе, если не указано иное, относится к любому нативному зрелому IL-4R α , который получается в результате обработки белка-предшественника IL-4R α в клетке. Термин включает IL-4R α из любого источника от позвоночных, включая млекопитающих, таких как приматы (например, люди и яванские макаки или макаки-резус) и грызуны (например, мыши и крысы), если не указано иное. Термин также включает варианты IL-4R α природного происхождения, например сплайсированные варианты или аллельные варианты. Аминокислотная последовательность примера IL-4R α человека известна в данной области техники, например эталонная последовательность UniProt P24394 (SEQ ID NO: 39). Аминокислотная последовательность примера IL-4R α яванского макака также известна в данной области техники, например эталонная последовательность NCBI XP_005591572.2 (SEQ ID NO: 40). Термин «IL-4R α » используется в настоящем документе для совокупного обозначения всех известных изоформ и полиморфных форм IL-4R α человека. Нумерация последовательностей, используемая в настоящем документе, основана на зрелом белке без сигнального пептида.

Термин «IL-4R», используемый в настоящем документе, если не указано иное, относится к комплексу субъединицы IL-4R α с общей γ -цепью (рецептор типа I) или комплексу субъединицы IL-4R α с IL-13R α 1 (рецептор типа II).

Термин «IL-4», используемый в настоящем документе, если не указано иное, относится к любому нативному зрелому IL-4, который получается в результате обработки белка-предшественника IL-4 в клетке. Термин включает IL-4 из любого источника от позвоночных, включая млекопитающих, таких как приматы (например, люди и яванские макаки или макаки-резус) и грызуны (например, мыши и крысы), если не указано иное. Термин также включает варианты IL-4 природного происхождения, например сплайсированные варианты или аллельные варианты. Аминокислотная последовательность примера IL-4 человека известна в данной области техники, например эталонная последовательность UniProt P05112 (SEQ ID NO: 17). Термин «IL-4» используется в настоящем документе для совокупного обозначения всех известных изоформ и полиморфных форм IL-4 человека.

Термин «IL-13», используемый в настоящем документе, если не указано иное, относится к любому нативному зрелому IL-13, который получается в результате обработки белка-предшественника IL-13 в клетке. Термин включает IL-13 из любого источника от позвоночных, включая млекопитающих, таких как приматы (например, люди и яванские макаки или макаки-резус) и грызуны (например, мыши и крысы), если не указано иное. Термин также включает варианты IL-13 природного происхождения, например сплайсированные варианты или аллельные варианты. Аминокислотная последовательность примера IL-13 человека известна в данной области техники, например эталонная последовательность UniProt P35225 (SEQ ID NO: 18). Термин «IL-13» используется в настоящем документе для совокупного обозначения всех известных изоформ и полиморфных форм IL-13 человека.

Термин «CD23», используемый в настоящем документе, если не указано иное, относится к любому нативному зрелому CD23, который получается в результате обработки белка-предшественника CD23 в клетке. Термин включает CD23 из любого источника от позвоночных, включая млекопитающих, таких как приматы (например, люди и яванские макаки или макаки-резус) и грызуны (например, мыши и крысы), если не указано иное. Термин также включает варианты CD23 природного происхождения, например сплайсированные варианты или аллельные варианты. Аминокислотная последовательность примера CD23 человека известна в данной области техники, например эталонная последовательность UniProt P06734 (SEQ ID NO: 41). Термин «CD23» используется в настоящем документе для совокупного обозначения всех известных изоформ и полиморфных форм CD23 человека.

Термин «IL-4R-ассоциированное расстройство», используемый в настоящем документе, относится к расстройству, ассоциированному с IL-4R-опосредованной передачей сигналов, такому как, например, расстройства, ассоциированные с передачей сигналов IL-4R типа I и IL-4R типа II. Такое IL-4R-ассоциированное нарушение, может, например, включать иммунные воспалительные расстройства. Такие иммунные воспалительные расстройства могут включать воспалительные расстройства 2-го типа, как описано в настоящем документе. IL-4R-ассоциированное расстройство может дополнительно включать рак.

Термин «антитело», используемый в настоящем документе, относится к молекуле иммуноглобулина, которая связывает антиген. Варианты осуществления антитела включают моноклональное антитело, поликлональное антитело, человеческое антитело, гуманизированное антитело, химерное антитело, биспецифичное или мультиспецифическое антитело или конъюгированное антитело. Антитела могут относиться к любому классу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA) и любому подклассу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4).

Пример антитела представляет собой антитело типа иммуноглобулина G (IgG), состоящее из четырех полипептидных цепей: двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), которые поперечно сшиты посредством межцепочечных дисульфидных связей. Аминоконцевая часть каждой из четырех полипептидных цепей включает переменную область из примерно 100–125 или более аминокислот, в первую очередь отвечающую за распознавание антигена. Карбоксиконцевая часть

каждой из четырех полипептидных цепей содержит константную область, в первую очередь, отвечающую за эффекторную функцию. Каждая тяжелая цепь состоит из переменной области тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи. Термин «константная область тяжелой цепи», используемый в настоящем документе, относится к области антитела, которая содержит область Fc и домен CH1 тяжелой цепи антитела. Каждая легкая цепь состоит из переменной области легкой цепи (VL) и константной области легкой цепи. Изотип IgG можно дополнительно разделить на подклассы (например, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4). Нумерация аминокислотных остатков в константной области соответствует нумерации индекса ЕС по Кабату. Kabat et al, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th edition, Bethesda, MD: U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health (1991). Термины «нумерация ЕС по индексу» или «нумерация ЕС» используются в настоящем документе взаимозаменяемо.

Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающимися с областями, которые являются более консервативными и называются каркасными областями (FR). CDR экспонируются на поверхности белка и являются важными участками антитела для специфичности связывания антигена. Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В настоящем документе три CDR тяжелой цепи обозначены как «HCDR1, HCDR2 и HCDR3», а три CDR легкой цепи обозначены как «LCDR1, LCDR2 и LCDR3». CDR содержат большинство остатков, которые формируют специфичные взаимодействия с антигеном. Определение принадлежности аминокислотных остатков к CDR может быть выполнено в соответствии с хорошо известными схемами, в том числе описанными в Kabat (Kabat et al., "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)), Chothia (Chothia et al., "Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins", *Journal of Molecular Biology*, 196, 901–917 (1987); Al-Lazikani et al., "Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins", *Journal of Molecular Biology*, 273, 927–948 (1997)), North (North et al., "A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations", *Journal of Molecular Biology*, 406, 228–256 (2011)), или в IMGT (международная база данных ImMunoGeneTics, доступная по адресу www.imgt.org; см. Lefranc et al., *Nucleic Acids Res.* 1999; 27:209–212). Определения CDR North используются для антител, которые специфически связывают IL-4R α человека, описанный в настоящем документе.

Варианты осуществления по настоящему описанию также включают фрагменты антитела или антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат по меньшей мере часть антитела, сохраняющую способность специфично взаимодействовать с антигеном, такие как фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, scFab, дисульфид-связанные Fv (sdFv), фрагмент Fd или линейные антитела, которые могут быть, например, слиты с областью Fc или константной областью тяжелой цепи IgG. слиты с областью Fc или константной областью тяжелой цепи IgG.

Термин «область Fc», используемый в настоящем документе, относится к области антитела, которая содержит домены CH2 и CH3 тяжелой цепи антитела. Необязательно область Fc может включать часть шарнирной области или всю шарнирную область тяжелой цепи антитела.

Биологические активности, такие как эффекторная функция, связаны с областью Fc, которая варьируется в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антител включают связывание рецептора Fc, антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC), антителозависимый клеточноопосредованный фагоцитоз (ADCP), связывание C1q, комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), фагоцитоз, угнетение рецепторов клеточной поверхности (например, В-клеточного рецептора); и активацию В-клеток.

Термин «эпитоп», используемый в настоящем документе, относится к аминокислотным остаткам антигена, которые связаны антителом. Эпитоп может представлять собой линейный эпитоп, конформационный эпитоп или гибридный эпитоп. Термин «эпитоп» может быть использован в отношении структурного эпитопа. Структурный эпитоп в соответствии с некоторыми вариантами осуществления может быть использован для описания области антигена, которая покрыта антителом (например, области узнавания антитела при связывании с антигеном). В некоторых вариантах осуществления структурный эпитоп может описывать аминокислотные остатки антигена, которые находятся в пределах заданной близости (например, в пределах указанного количества ангстрем) аминокислотного остатка антитела. Термин «эпитоп» может также быть использован в отношении функционального эпитопа. Функциональный эпитоп в соответствии с некоторыми вариантами осуществления может быть использован для описания аминокислотных остатков антигена, которые взаимодействуют с аминокислотными остатками антитела способом, способствующим энергии связывания между антигеном и антителом. Эпитоп может быть определен в соответствии с различными экспериментальными методиками, также называемыми «методиками картирования эпитопов». Следует понимать, что определение эпитопа может варьироваться в зависимости от используемых методик картирования эпитопов и может также варьироваться в зависимости от различных экспериментальных условий, например из-за конформационных изменений или расщеплений антигена, индуцированных конкретными экспериментальными условиями. Методики картирования эпитопов известны в данной области техники (например, Rockberg and Nilvebrant, *Epitope Mapping Protocols: Methods in Molecular Biology*, Humana Press, 3rd ed. 2018; Holst et al., *Molecular Pharmacology* 1998, 53(1): 166–175), включая, без ограничений, рентгенокристаллографию, спектроскопию посредством ядерного магнитного резонанса (ЯМР), сайт-направленный мутагенез, мутагенез с обменом видов, аланин-сканирующий мутагенез, мутагенез стерического несоответствия, водородно-дейтериевый обмен (HDX) и эпитоп перекрестные конкурентные анализы.

Термины «связывать» и «связывает», используемые в настоящем документе, предназначены для обозначения, если не указано иное, способности белка или молекулы образовывать химическую связь или взаимодействие на основании притяжения с другим белком или молекулой, что приводит

к близости двух белков или молекул, как определено обычными методами, известными в данной области техники.

5 Термин «нуклеиновая кислота», используемый в настоящем документе, относится к полимерам нуклеотидов, включая одноцепочечные и/или двухцепочечные молекулы, содержащие нуклеотиды, такие как молекулы ДНК, кДНК и РНК, включающие нативные, модифицированные нуклеотиды и/или их аналоги. Полинуклеотиды по настоящему описанию также могут включать субстраты, включенные в них, например, посредством ДНК- или РНК-полимеразы или синтетической реакции.

10 Термин «субъект», используемый в настоящем документе, относится к млекопитающему, включая, без ограничений, человека, шимпанзе, человекообразную обезьяну, обезьяну, крупный рогатый скот, лошадь, овцу, козу, свинью, кролика, собаку, кошку, крысу, мышь, морскую свинку и тому подобное. Предпочтительно субъект представляет собой человека.

15 Термин «терапевтически эффективное количество», используемый в настоящем документе, относится к количеству белка, или нуклеиновой кислоты, или вектора, или композиции, которые при однократном или многократном введении субъекту обеспечивают желаемый эффект у субъекта, подвергающегося диагностике или лечению. Термин «терапевтически эффективное количество», используемый в настоящем документе, дополнительно относится к количеству или дозе белка или нуклеиновой кислоты, или вектора, или композиции по описанию, которое будет вызывать биологический или медицинский ответ у субъекта, например уменьшение или ингибирование 20 активности фермента или белка или уменьшение симптомов, облегчение состояний, замедление или отсрочку прогрессирования заболевания или предотвращение заболевания и т. д. В не имеющем ограничительного характера варианте осуществления термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству (в дозировках и в течение периодов времени и для средств введения) белка или нуклеиновой кислоты, или вектора, или композиции, которое при введении 25 субъекту является эффективным для по меньшей мере частичного облегчения, ингибирования, предотвращения и/или улучшения состояния, или нарушения, или заболевания. Эффективное количество белка, или нуклеиновой кислоты, или вектора, или композиции может варьироваться в соответствии с факторами, такими как состояние заболевания, возраст, пол и масса индивида, а также способность белка, или нуклеиновой кислоты, или вектора, или композиции вызывать 30 желаемый ответ у индивида. Эффективным количеством является также количество, при котором любые токсические или вредные эффекты белка, или нуклеиновой кислоты, или вектора, или композиции настоящего изобретения перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами.

Термин «ингибирует», используемый в настоящем документе, относится, например, к сокращению, снижению, замедлению, уменьшению, остановке, нарушению, отмене, 35 противодействию или блокированию биологического ответа или активности, но не обязательно указывает на полное устранение биологического ответа или активности.

Термин «лечение» или «лечить», используемый в настоящем документе, относится ко всем процессам, при которых возможны замедление, контроль, отсрочка или остановка прогрессирования

нарушений или заболевания, описанного в настоящем документе, или уменьшение симптомов нарушения или заболевания, но не обязательно указывает на полное устранение всех симптомов нарушения или заболевания. Лечение включает введение белка или нуклеиновой кислоты, или вектора, или композиции для лечения заболевания или состояния у пациента, в частности, у человека.

В настоящем документе термин «примерно» означает «в пределах 5%».

В настоящем документе термин, обозначающий объект в единственном числе, и аналогичные термины, используемые в контексте настоящего описания (в частности, в контексте формулы описания), должны толковаться как охватывающие как единственное, так и множественное число, за исключением случаев, когда указано иное, или это явно противоречит контексту.

Термины «химиотерапевтический препарат» или «химиотерапевтический», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, представляют собой химический препарат или лекарственное средство, которое избирательно разрушает раковые клетки и ткани.

Химиотерапевтический препарат может включать, без ограничений, такие соединения, как соединения таксана, соединения, которые действуют через механизмы таксана, соединения платины, соединения антрациклина, антимаболиты, алкилирующие агенты, соединения эпоподофиллотоксина, соединения камптотецина, ингибиторы топоизомеразы, митотические ингибиторы или любую их комбинацию. Химиотерапевтические препараты можно вводить отдельно или в комбинации с другими терапевтическими агентами.

Термин «ионизирующее излучение», используемый в настоящем документе, представляет собой излучение определенных длин волн, используемое для разрушения или повреждения раковых клеток. Ионизирующее излучение включает радон, рентгеновские лучи, гамма-лучи и другие формы излучения высокой энергии. Ионизирующее излучение может включать внешнее излучение (или внешнее лучевое излучение), внутреннее излучение (или брахитерапию) или системное излучение.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На **ФИГ. 1** показано наложение рентгеновской кристаллической структуры Fab-части антитела IL-4R α 8660 человека, связанного с ECD IL-4R α , на кристаллическую структуру Fab-части дупилумаба с дизайном Crystal Карра в комплексе с IL-4R α человека (код доступа pdb 6WGL).

На **ФИГ. 2** показаны местоположения аминокислотных остатков функционального эпитопа (остатки IL-4R α человека Asp66 и Asp125) в кристаллической структуре Fab5F3-части с конструкцией Crystal Карра, в комплексе с ECD IL-4R α человека.

На **ФИГ. 3А–3В** демонстрируется специфичность связывания антител 5F3 и 5559 к IL-4R α человека с IL-4R α человека (3А) и IL-4R α яванского макака (3В), измеренную посредством анализа ИФА MSD.

На **ФИГ. 4А–4С** демонстрируется специфичность связывания антител 5559 к IL-4R α человека с IL-4R α на В-клетках (4А и 4С) и Т-клетках (4В) человека.

На **ФИГ. 5А–5В** показано, что антитела 5F3, 8660 и 5559 к IL-4R α человека блокируют связывание

IL-4 (5A) и IL-13 (5B) с IL-4R α в клеточном анализе.

На **ФИГ. 6A–6B** показано, что антитела 5559 к IL-4R α человека ингибируют индуцированное IL-4 фосфорилирование pSTAT6 в первичных В-клетках (6B) и Т-клетках (6A) человека. На **ФИГ. 6C** показано, что антитела 5559 к IL-4R α человека ингибируют индуцированное IL-13

5 фосфорилирование pSTAT6 в В-клетках человека.

На **ФИГ. 7** показано, что антитела 5559 к IL-4R α человека ингибируют индуцированную IL-4 пролиферацию В-клеток.

На **ФИГ. 8A–8B** показано, что антитела 5559 к IL-4R α человека ингибируют индуцированную IL-4 (8A) и IL-13 (8B) экспрессию CD23 в миелоидных клетках.

10 На **ФИГ. 9** показано, что антитела 5559 к IL-4R α человека не связывают компонент комплемента C1q в твердофазном ИФА.

На **ФИГ. 10A–10B** показано, что антитела 5559 к IL-4R α человека не индуцируют в значительной степени активность ADCC ни в анализе на основе гена-репортера (10A), ни в анализе на основе эмбриональных клеток (10B).

15 На **ФИГ. 11** показано, что антитела 5559 к IL-4R α человека не индуцируют активность CDC в клетках Дауди.

На **ФИГ. 12A–12B** показаны термограммы дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) антител 5559 к IL-4R α человека.

20 На **ФИГ. 13** показано наложение рентгеновской кристаллической структуры Fab-части антитела IL-4R α 5559 человека, связанного с ECD IL-4R α на кристаллическую структуру Fab-части дупилумаба с дизайном Crystal Каппа в комплексе с IL-4R α человека (код доступа pdb 6WGL).

На **ФИГ. 14** показаны положения аминокислотных остатков IL-4R α человека Asp66, Asp67 и Asp125 (все идентифицированы в структурном эпитопе; дополнительно Asp66 идентифицирован в функциональном эпитопе) в кристаллической структуре, составляющей Fab-части 5559, с
25 конструкцией Crystal Каппа в комплексе с ECD IL-4R α человека.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Создание и конструирование антител, которые связывают IL-4R человека α (антитела к IL-4R α человека)

30 **Создание антител.** Для разработки антител, специфичных к IL-4R α человека, трансгенных мышей с переменными областями иммуноглобулина человека иммунизировали Fc-меченым внеклеточным доменом (ECD) IL-4R α человека и стимулировали поочередно Fc-мечеными белками ECD IL-4R α человека и яванского макака. Скрининг проводили с использованием ECD IL-4R α человека и яванского макака, меченных гистидином, для выявления перекрестной реактивности
35 и в отсутствие или в присутствии избытка растворимого IL-4 для идентификации антител, блокирующих IL-4. Демонстрирующую перекрестную реактивность антитела клонировали в виде Fab, экспрессировали и очищали посредством стандартных процедур и тестировали на репортерной клеточной линии эмбриональных клеток почки человека (HEK)-Blue IL-4/IL-13 (InvivoGen) на

предмет блокирующей активности в отношении IL-4 и IL-13. Антитела отбирали и конструировали по их CDR, каркасным областям переменного домена и изотипу IgG для улучшения таких характеристик, как аффинность, стабильность, растворимость, вязкость, гидрофобность, а также для снижения агрегации.

5 Аминокислотная последовательность ECD IL-4R α человека представлена SEQ ID NO: 15, аминокислотная последовательность IL-4R α яванского макака представлена SEQ ID NO: 16, аминокислотная последовательность IL-4 человека представлена SEQ ID NO: 17, а аминокислотная последовательность IL-13 человека представлена SEQ ID NO: 18.

10 Антитела по изобретению могут быть синтезированы и очищены с использованием хорошо известных способов. Соответствующая клетка-хозяин, такая как клетки яичника китайского хомячка (CHO), может быть временно или стабильно трансфицирована экспрессионной системой для секреции антител, используя предварительно определенное соотношение векторов HC : LC, если используют два вектора, или систему одного вектора, кодирующую как тяжелую цепь, так и легкую цепь. Осветленные среды, в которые происходила секреция антитела, могут быть очищены с
15 использованием обычно используемых методик.

Конструирование антител к IL-4R α . Антитело 5F3 IgG4PAA к IL-4R α было разработано как Fab в экспрессионных векторах клеток млекопитающих с использованием высокопроизводительного протокола сайт-специфического насыщающего мутагенеза для поиска мутаций, которые улучшают аффинность и/или биофизические свойства (такие как термическая, химическая стабильность или
20 растворимость, уменьшение агрегации или гидрофобности). 5F3 IgG4PAA содержит замены аминокислотного остатка F234A и L235A в области Fc IgG4, которые снижают связывание с Fc γ R, и аминокислотную замену S228P, которая стабилизирует шарнир и предотвращает обмен плечами.

Вкратце, для конструирования каждую аминокислоту в CDR VL- и VH-цепей 5F3 IgG4PAA подвергали мутациям в отдельных реакциях мутагенеза с получением в общей сложности
25 18 вариантов (за исключением цистеина), а также с возвратом к исходному аминокислотному остатку (представляющему собой встроенный контроль дикого типа, WT), с использованием серии прямых и обратных олигонуклеотидов, расположенных на 384-луночном микротитровальном планшете. Реакции сайт-направленного мутагенеза проводили в соответствии с установленными процедурами, и расщепление плазмиды WT осуществляли посредством инкубации с
30 рестрикционным ферментом DpnI. Продукты переваривания преобразовывали в *E. coli*, а ДНК выделяли из основной массы трансформантов после инкубации в течение ночи при 37 °C. ДНК из каждой отдельной реакции мутагенеза VL и VH смешивали с соответствующей переменной областью антитела WT и экспрессировали в клетках CHO в 96-луночном планшете с глубокими лунками. Секретируемые антитела определяли количественно и нормализовали до постоянного
35 титра перед скринингом на предмет связывания с IL-4R α в формате ИФА с этапом термической проверки или без нее. Помимо оценки мутантов CDR, аналогичным образом оценивали мутанты, которые преобразуют атипичные остатки зародышевой линии в каркасных областях в более типичные аминокислоты.

Совпадения были подтверждены титрованием ИФА, Octet или Biacore8K, а впоследствии, руководствуясь структурными соображениями, были выбраны, объединены и введены в формат полноразмерного антитела и оценены на аффинность и биофизические свойства с использованием бутил-НИС, гепарина, взаимодействия с колонкой и эксклюзионной хроматографии размеров, дифференциальной сканирующей калориметрии и связывания с белками сыворотки посредством масс-спектрометрии.

Анализ связывающей аффинности показал, что антитело 5F3 IgG4PAA имеет умеренную аффинность к IL-4R α человека и яванского макака с K_D в диапазоне 10^{-9} М. Мутагенез аминокислотных остатков CDR в CDR 5F3 IgG4PA выявил замены: LCDR3 H91W, N92S, которые значительно улучшили аффинность полученного антитела в диапазоне 10^{-11} М.

Кроме того, были выявлены замены аминокислот, приводящие к улучшенной термостабильности в ИФА с термической проверкой: VH: A23V, N92S, I31H; VL: G28D. Кроме того, было обнаружено, что замены аминокислотных остатков: VH: A23V, I58V; VL: G28D снижают самоассоциацию и гидрофобность при сохранении аффинности. Было обнаружено, что замена аминокислотного остатка: VH: I31H снижает связывание белка сыворотки.

Кроме того, антитело 5F3 IgG4PAA содержит аспарагин в структуре HC 3 (N72), который дезамидируется в стрессовых условиях. Аминокислотный остаток N72 был заменен на более зародышевый Asp (N72D), что привело к устранению дезамидирования.

Анализ мутагенеза 5F3 IgG4PAA выявил 7 аминокислотных остатков для конструирования. Эти 7 аминокислотных остатков были заменены следующим образом: I31H, I58V, N72D в области VH и H91W и N92S в области VL объединены для создания варианта антитела 8660; и в дополнение к этим 5 заменам были добавлены A23V в области VH и G28D в области VL для создания вариантов антитела 5559. В таблице 1 показаны аминокислотные последовательности CDR иллюстративных антител.

Было создано несколько версий антител 5559 и 8660 с различными основными цепями IgG, включая те, которые представлены в таблицах 2. Разработка 7 аминокислотных остатков привела к получению вариантов антитела 5559, обладающих значительно улучшенной аффинностью и другими биофизическими свойствами, такими как термостабильность, сниженная самоассоциация, гидрофобность и/или связывание с белками сыворотки, при сохранении аффинности.

Конструирование константной области антитела для улучшения вязкости. Константную область тяжелой цепи человеческого антитела 5559 IgG4 к IL-4R α создали посредством балансировки заряда для улучшения вязкости и уменьшения потенциального электростатического взаимодействия между Fab и константными доменами антитела. Домены CH1, CH2 и CH3 в константной области HC антител IgG4 человека по сравнению с константной областью HC IgG1 человека имеют более низкие изоэлектрические точки (pI) из-за неравномерного распределения заряда. Соответственно, были идентифицированы пять ключевых аминокислотных остатков в доменах CH1, CH2 и CH3, влияющих на вязкость антител 5559 IgG4: 1) E137 (домен CH1), 2) D203 (домен CH1), 3) Q274 (домен CH2), 4) Q355 (домен CH3) и 5) E419 (домен CH3). Аналогичное

положение в константной области hIgG1 для этих 5 аминокислот различно и, как было обнаружено, влияет на общее значение pI каждого домена.

Для соответствия pI доменов CH2 и CH3 антитела IgG4 с антителом IgG1 и минимизации риска потенциального введения иммуногенного пептида остатки в трех из пяти идентифицированных положений в константной области IgG4 были преобразованы в соответствующий остаток, обнаруженный в константной области IgG1. Замены аминокислотных остатков включали: положительно заряженный лизин, заменяющий нейтрально заряженный глутамин в положении 274 (Q274K), положительно заряженный аргинин, заменяющий нейтрально заряженный глутамин в положении 355 (Q355R), и нейтрально заряженный глутамин, заменяющий отрицательно заряженную глутаминовую кислоту в положении 419 (E419Q). Полученный Fc IgG4 называли «KRQ».

Кроме того, сконструировали константную область IgG4, которую назвали «GNKRQ», содержащую замены во всех 5 идентифицированных аминокислотных остатках на те, которые обнаружены в IgG1 (E137G, D203N, Q274K, Q355R и E419Q).

Антитела IgG4 KRQ и IgG4 GNKRQ также включали мутацию S228P, называемую IgG4P, которая стабилизирует шарнир и предотвращает обмен плечами. Для завершения конструирования использовали CH1-домен IgG4 дикого типа вместе с константным доменом каппа человека. Антитела синтезировали, экспрессировали и очищали существенным образом так, как описано выше.

Выбор основной цепи IgG4P или IgG1A. Основная цепь IgG1A человека и/или IgG4P человека была выбрана для иллюстративных антител 5559 из-за неожиданного свойства связывания с В-клетками и миелоидными клетками. Как показано в таблице 5B и на Фиг. 4C, было выявлено, что иллюстративные антитела 5559 IgG4P и 5559 IgG1A к IL-4R α имеют более высокую аффинность связывания с В-клетками по сравнению с безэффеторным антителом 5559 IgG1AAA, что обозначает, таким образом, что Fc-участок антитела 5559, не сконструированный таким образом, чтобы быть безэффеторным, положительно влиял на связывание В-клеток.

Таблица 1. Аминокислотные последовательности CDR иллюстративных антител к IL-4R α человека

Антитело к	Последовательность CDR					
	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
5F3 IgG4PAA	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 24
5559 (все варианты)	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
8660 (все варианты)	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 2	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6

Таблица 2. Аминокислотные последовательности иллюстративных антител к IL-4R α человека

Антитело к IL-4R α	HC	LC	VH	VL
5F3 IgG4PAA	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 28	SEQ ID NO: 25	SEQ ID NO: 26
5559 IgG1A	SEQ ID NO: 33	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
5559 IgG1A 124C/378C	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
5559 IgG4P	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
5559 IgG4P 124C/378C	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
5559 IgG4P KRQ	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C	SEQ ID NO: 50	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
5559 IgG1AAA 124C/378C	SEQ ID NO: 52	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
8660 IgG4P 124C/378C	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 45

Пример 2. Структурный и функциональный эпитопы антител к IL-4R α человека

Структурный эпитоп иллюстративных антител к IL-4R α определяли посредством рентгенокристаллографии, а функциональный эпитоп иллюстративных антител к IL-4R α определяли посредством ИФА.

Пример 2а. Определение структурного эпитопа 8660 Fab посредством рентгенокристаллографии

Физический эпитоп Fab антитела 8660 к IL-4R α в отношении IL-4R α человека определяли посредством идентификации взаимодействующих интерфейсов между IL-4R α человека и иллюстративными антителами. Вкратце, для определения структурного эпитопа ECD IL-4R α человека кристаллизовали совместно с помощью Fab-части 8660. Структуру комплекса 8660 Fab и IL-4R α определяли посредством создания меченного гексагистидином варианта тяжелой цепи IgG1, усеченного после домена CH1, и версии «Crystal Kappa» легкой цепи 8660 Fab (см. Lieu et al., “Rapid and Robust Antibody Fab Fragment Crystallization Utilizing Edge-to-edge Beta-sheet Packing,” *PLoS One*, 15(9) (2020), которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Вариант 8660 экспрессировали совместно с меченой гексагистидином версией ECD IL-4R α человека, содержащей мутацию C182L, впоследствии комплекс очищали посредством аффинной

хроматографии с иммобилизованным металлом и подвергали скринингу с использованием стандартных коммерчески доступных экранов для кристаллизации. Получали кристаллы и собирали дифракционные данные рентгенографии Advanced Photon Source. Эти дифракционные данные были уменьшены и обработаны посредством молекулярной замены и уточнены, чтобы получить

5 структуру 2,8 Å иллюстративного комплекса с 8660 Fab и ECD IL-4R α . На основании полученной кристаллической структуры любые аминокислотные остатки IL-4R α в пределах 4,5 Å от атома совместно кристаллизованного 8660 Fab считали частью эпитопа (с использованием программного обеспечения для визуализации PyMOL [Schrödinger®]).

Анализ PyMOL продемонстрировал, что аминокислотные остатки IL-4R α (относительно

10 SEQ ID NO: 15), которые находятся в пределах 4,5 Å от 8660 Fab в комплексе с кристаллической структурой, составляют структурный эпитоп для иллюстративных антител. В частности, анализ показал, что структурный эпитоп содержит следующие аминокислотные остатки: Asp в положении 12, Met в положении 14, Ser в положении 15, Ile в положении 16, Thr в положении 37, Leu в положении 39, Phe в положении 41, Leu в положении 43, Glu в положении 45, His в положении 47,

15 Thr в положении 48, Cys в положении 49, Ile в положении 50, His в положении 62, Leu в положении 64, Met в положении 65, Asp в положении 66, Asp в положении 67, Val в положении 69, Asp в положении 72, Arg в положении 99, Pro в положении 121, Pro в положении 123, Pro в положении 124, Asp в положении 125. Анализ дополнительно показал, что структурный эпитоп охватывает домены 1 и 2 N-концевого домена фибронектина типа III IL-4R α . Кроме того, анализ показал, что

20 следующие аминокислотные остатки структурного эпитопа расположены в домене 2 N-концевых доменов фибронектина типа III IL-4R α : R99, P121, P123, P124, D125.

Наложение иллюстративного 8660 Fab и кристаллической структуры Fab дупилумаба с конструкцией Crystal Kappa в комплексе с IL-4R α человека (идентификационный код PDB 6WGL) дополнительно показало, что 8660 Fab связывается с новым эпитопом на IL-4R α по сравнению с дупилумабом (ФИГ. 1).

25

Кроме того, сопоставление иллюстративной кристаллической структуры комплекса IL-4R α 8660 Fab : IL-4R α с опубликованными комплексами IL-4 и IL-13 и их соответствующими рецепторами (идентификационные коды PDB 3BPN и 3BPO) на компоненте IL-4R α в каждой структуре (с использованием программного обеспечения для визуализации PyMOL) показало, что

30 иллюстративный эпитоп антитела 8660 Fab перекрывается с сайтами связывания IL-4 и IL-13 с IL-4R α , и это означает, что связывание иллюстративных антител с IL-4R α будет физически блокировать связывание цитокинов IL-4 и IL-13 с IL-4R α , когда часть варианта Fab иллюстративных антител связывается с IL-4R α .

Пример 2b. Определение функционального эпитопа 5F3 IgG4PAA

35 Функциональный эпитоп иллюстративного антитела 5F3 IgG4PAA к IL-4R α человека определяли посредством ИФА. Вкратце, тридцать замен поверхностных аминокислотных остатков были введены по отдельности во внеклеточный домен (ECD) IL-4R α человека, меченный гексагистидином, следующим образом: K2D, E6R, K22D, P26R, T31R, F41A, L42G, L43G, E45R,

G56R, D66R, A71R, Q82G, K87D, E94R, H107A, D108R, P124R, D125R, D143R, R148D, L155R, R160D, S164R, S168R, Q181R, P192R, K195D или H197G. Каждый мутантный белок, имеющий замену одного аминокислотного остатка, как описано выше, временно экспрессировали в клетках CHO и очищали с использованием стандартных методов аффинной хроматографии с

5 иммобилизованным металлом. Планшеты для ИФА покрывали 1 мкг/мл антитела козы к кашпа человека (Southern Biotech, № кат. 2060-01) в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS) при 4 °С в течение ночи, впоследствии промывали 3 раза в фосфатно-солевом буферном растворе (PBST) и блокировали PBS-казеином в течение 30 мин. при комнатной температуре. Впоследствии планшеты 3

10 раза промывали PBST и иллюстративное антитело IL-4Rα 5F3 IgG4PAA человека добавляли в лунки в конечной концентрации 1 мкг/мл в PBS-казеине и инкубировали в течение 1 часа. Планшеты 3

15 раза промывали PBST, мутантные белки IL-4Rα последовательно разводили 3 раза от 1 мкг/мл в PBS-казеине, и добавляли в планшет по 50 мкл/лунка, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшеты 3

20 раза промывали PBST и добавляли 5000-кратно разведенное антигистидиновое меточное антитело к HRP (R&D Systems, №. кат. MAB050H) в PBS-казеине и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Планшеты 3

25 раза промывали, добавляли субстрат TMB (Pierce, №. кат. 34021) в соответствии с инструкциями производителя, реакцию гасили H₂SO₄ и регистрировали поглощение при 450 нм на сканере для планшетов для ИФА. Функциональный эпитоп антитела определяли как мутированные аминокислотные остатки, соответствующие лункам, которые не демонстрировали сигнал связывания или демонстрировали

30 значительно сниженный сигнал связывания по сравнению с контрольными антителами.

Результаты, продемонстрированные в таблице 3, показывают, что функциональный эпитоп иллюстративного антитела 5F3 IgG4PAA содержит аминокислотные остатки D66 и D125. Среди аминокислотных остатков, идентифицированных в структурном эпитопе, замены аминокислотных остатков D66R и D125R на IL-4Rα оказывают значительное негативное влияние на связывание

35 иллюстративного 5F3 IgG4PAA с мутантным IL-4Rα соответственно. В частности, замена аминокислотного остатка D66 IL-4Rα на аргинин снижала связывание 5F3 IgG4PAA с мутированным IL-4Rα до уровня ниже, чем у контроля (0,04 OD₄₅₀ и 0,14 OD₄₅₀ соответственно). Кроме того, замена аминокислотного остатка D125 на аргинин, который расположен рядом с

40 аминокислотным остатком D66 в кристаллической структуре IL-4Rα (см. Фиг. 2), также продемонстрировала значительное снижение связывания 0,59 OD₄₅₀. Остальные аминокислотные замены находились либо в пределах диапазона положительного связывания, либо за пределами

45 определенного структурного эпитопа.

Таблица 3а. Определение функционального эпитопа иллюстративных антител к IL-4Rα человека

Аминокислотная замена	ИФА (OD ₄₅₀)
K2D	1,48
E6R	1,08
K22D	0,64
P26R	1,40
T31R	1,61

F41A	1,53
L42G	1,20
L43G	1,69
E45R	1,15
G56R	1,43
D66R	0,04
A71R	1,35
Q82G	1,59
K87D	1,16
E94R	1,46
H107A	1,54
T108R	1,21
V110R	1,47
P124R	1,35
D125R	0,59
D143R	1,51
R148D	1,39
L155R	1,53
R160D	1,54
S164R	1,56
S168R	1,53
Q181R	1,30
P192R	1,33
K195D	1,06
H197G	1,02
Буферный контроль (без рецептора)	0,14

Пример 2с. Структурный эпитоп антител 5559 к IL-4R α человека

Определение структурного эпитопа 5559 Fab посредством рентгенокристаллографии.

Физический эпитоп Fab антитела 5559 на IL-4R α человека определяли по существу так, как описано выше. Получали кристаллы и собирали дифракционные данные рентгенографии Advanced Photon Source. Эти дифракционные данные были уменьшены и обработаны посредством молекулярной замены и уточнены, чтобы получить структуру 2,49 Å иллюстративного комплекса с 5559 Fab и ECD IL-4R α . На основании полученной кристаллической структуры любые аминокислотные остатки IL-4R α в пределах 4,5 Å от атома совместно кристаллизованного 5559 Fab считали частью эпитопа (с использованием визуализации посредством программного обеспечения Molecular Operating Environment (MOE), программного обеспечения для моделирования и симуляций [Chemical Computing Group], Coot (стандартная общественная лицензия) и программного обеспечения для визуализации PyMOL [Schrödinger®]).

Анализ с помощью MOE, Coot и PyMOL продемонстрировал, что аминокислотные остатки IL-4R α (относительно SEQ ID NO: 15), которые находятся в пределах 4,5 Å от 5559 Fab в комплексе с кристаллической структурой, составляют структурный эпитоп. В частности, анализ показал, что структурный эпитоп содержит следующие аминокислотные остатки: Asp в положении 12, Met в положении 14, Ser в положении 15, Ile в положении 16, Leu в положении 39, Phe в положении 41, Leu в положении 42, Thr в положении 48, Cys в положении 49, Ile в положении 50, Glu в положении

52, His в положении 62, Leu в положении 64, Met в положении 65, Asp в положении 66, Asp в положении 67, Val в положении 68, Val в положении 69, Asp в положении 72, Arg в положении 99, Pro в положении 121, Pro в положении 123, Pro в положении 124, Asp в положении 125, Pro в положении 192. Asp в положении 66 был хорошо скоординирован и взаимодействовал на расстоянии 2,6–2,9 Å с тяжелой цепью 5559 Fab. Asp в положении 67 имел взаимодействия в более дальнем диапазоне, между 3,1 и 3,5 Å, и демонстрировал гибкость в своем положении связывания, о чем свидетельствует наличие избыточной плотности вокруг его боковой цепи. Анализ показал, что структурный эпитоп охватывает домены 1 и 2 N-концевого домена фибронектина типа III IL-4R α . Кроме того, анализ показал, что следующие аминокислотные остатки структурного эпитопа расположены в домене 2 N-концевых доменов фибронектина типа III IL-4R α : R99, P121, P123, P124, D125, P192.

Наложение иллюстративного 5559 Fab и кристаллической структуры Fab дупилумаба с конструкцией Crystal Kappa в комплексе с IL-4R α человека (идентификационный код PDB 6WGL) показало, что 5559 Fab связывается с новым эпитопом на IL-4R α по сравнению с дупилумабом (Фиг. 13).

Сопоставление иллюстративной кристаллической структуры комплекса IL-4R α 5559 Fab:IL-4R α с опубликованными комплексами IL-4 и IL-13 и их соответствующими рецепторами (идентификационные коды доступа PDB 3BPN и 3BPO) на IL-4R α в каждой структуре (с использованием программного обеспечения для визуализации PyMOL) показало, что иллюстративный эпитоп антитела 5559 Fab перекрывается с сайтами связывания IL-4 и с IL-13 с IL-4R α . Это показало, что связывание иллюстративных антител 5559 будет физически блокировать связывание цитокинов IL-4 и IL-13 с IL-4R α .

Пример 2d. Определение функционального эпитопа антител 5559 к IL-4R α человека

Функциональный эпитоп иллюстративного антитела 5559 IgG4P KRQ к IL-4R α человека определяли посредством ИФА. Вкратце, тридцать замен поверхностных аминокислотных остатков были введены по отдельности во внеклеточный домен (ECD) IL-4R α человека, меченный гексагистидином, следующим образом: K2D, E6R, K22D, P26R, T31R, F41A, L42G, L43G, E45R, E52R, G56R, D66R, A71R, Q82G, K87D, E94R, H107A, D108R, P124R, D125R, D143R, R148D, L155R, R160D, S164R, S168R, Q181R, P192R, K195D или H197G. Каждый мутантный белок, имеющий замену одного аминокислотного остатка, как описано выше, временно экспрессировали в клетках CHO и очищали с использованием стандартных методов аффинной хроматографии с иммобилизованным металлом. Планшеты для ИФА покрывали 1 мкг/мл антитела козы к IgG Fc человека (Jackson ImmunoResearch Laboratories, № кат. 109-005-098) в PBS при 4 °C в течение ночи, впоследствии промывали 3 раза в PBST и блокировали PBS-казеином в течение 1 часа при комнатной температуре. Впоследствии планшеты 3 раза промывали PBST и добавляли иллюстративное антитело IL-4R α 5559 IgG4P KRQ человека в лунки в конечной концентрации 1 мкг/мл в PBS-казеине и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшеты 3 раза промывали PBST, последовательно разводили мутантные белки IL-4R α 5 раз от 1 мкг/мл для

- 3 точек в PBS-казеине и добавляли в планшет по 50 мкл/лунка, и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшеты 3 раза промывали PBST и добавляли 1000-кратно разведенное антигистидиновое меточное антитело к HRP (R&D Systems, №. кат. MAB050H) в PBS-казеине и инкубировали в течение 45 минут при комнатной температуре. Планшеты 3 раза промывали,
- 5 добавляли субстрат TMB (Pierce, №. кат. 34028) в соответствии с инструкциями производителя, реакцию гасили H₂SO₄ и регистрировали поглощение при 450 нм на сканере для планшетов для ИФА. Функциональный эпитоп антитела определяли как мутированные аминокислотные остатки, соответствующие лункам, которые не демонстрировали сигнал связывания или демонстрировали значительно сниженный сигнал связывания по сравнению с контролем дикого типа.
- 10 Результаты, продемонстрированные в таблице 4, показывают, что функциональный эпитоп иллюстративного антитела 5559 IgG4P KRQ содержит аминокислотные остатки D66. Замена аминокислотного остатка D66 на D66R в IL-4R α снижала связывание 5559 IgG4P KRQ с IL-4R α D66R до уровня ниже, чем в отрицательном контроле (0,047 OD₄₅₀ и 0,063 OD₄₅₀ соответственно). Аминокислотный остаток D66 расположен рядом с остатками структурных эпитопов D67 и D125 в
- 15 кристаллической структуре IL-4R α (Фиг. 14). Остальные аминокислотные замены находились либо в пределах диапазона положительного связывания, либо за пределами определенного структурного эпитопа.

Таблица 3в. Определение функционального эпитопа иллюстративных антител 5559 к IL-4R α человека

Аминокислотная замена	ИФА 1 мкг/мл (OD ₄₅₀)	0,2 мкг/мл ИФА (OD ₄₅₀)	0,04 мкг/мл ИФА (OD ₄₅₀)
K2D	2,049	1,6064	1,0949
E6R	2,245	1,5049	0,9155
K22D	1,668	1,2977	0,5927
P26R	1,663	1,5241	0,8826
T31R	1,638	1,4901	0,9938
F41A	1,765	1,5448	1,1513
L42G	1,708	1,4848	0,9646
L43G	1,703	1,6986	1,3486
E45R	1,699	1,8614	1,5755
E52R	1,731	1,7126	1,0989
G56R	1,728	1,7032	1,1731
D66R	0,047	0,0425	0,0529
A71R	1,698	1,5651	0,9069
Q82G	1,742	1,5318	1,1029
K87D	1,748	1,5643	0,9115
E94R	1,733	1,6389	1,0337
H107A	1,889	1,8353	1,422
T108R	1,883	1,8157	1,4055
P124R	1,845	1,6964	1,1568

D125R	1,792	1,6089	1,0142
D143R	1,754	1,6923	1,2744
R148D	1,756	1,6005	1,0356
L155R	1,785	1,6802	1,1405
R160D	1,905	1,6992	1,2009
S164R	1,920	1,7747	1,4032
S168R	1,882	1,7138	1,1808
Q181R	1,909	1,7146	1,1669
P192R	1,939	1,749	1,2217
K195D	1,913	1,6531	0,992
H197G	1,851	1,6017	0,9666
Рецептор дикого типа	1,910	1,8555	1,6475
Буферный контроль (без рецептора)	0,063	0,0625	0,0625

Пример 3. Аффинность связывания и функциональная активность антител к IL-4R α человека

Аффинность связывания. Аффинность связывания иллюстративных антител к IL-4R α с IL-4R α человека и яванского макака измеряли с использованием конкурентного анализа связывания ИФА по методике Meso Scale Discovery (MSD). Постоянную концентрацию каждого антитела смешивали с серией 3-кратных разведений IL-4R α , чтобы получить конечную концентрацию 10 пМ для каждого антитела 5559 и 100 пМ для 5F3, а также разведений, начиная с 10 нМ IL-4R α для антител 5559 и 200 нМ IL-4R α для 5F3, и смесь инкубировали при 37 °C в течение 4 дней. 96-луночный планшет Multi-Array (Meso Scale Diagnostics, № кат. L15XA-3) покрывали при 4 °C в течение ночи 0,5 мкг/мл меченого гексагистицином IL-4R α ECD человека или яванского макака в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS). После нанесения покрытия планшеты промывали 10 раз по 200 мкл PBST (PBS с 0,05% Tween® 20) и блокировали 150 мкл/луночка буфера, блокирующего буфера PBS-казеин (Pierce, № кат. 37528) при 37 °C в течение 1 часа. Впоследствии планшеты промывали 10 раз, как указано выше, и переносили 50 мкл предварительно инкубированной серии разведений антител: IL-4R α в лунки и инкубировали при 37 °C при встряхивании со скоростью 300 об/мин в течение 150 секунд. Планшеты 10 раз промывали PBST, добавляли 50 мкл 1 мкг/мл сульфо-метки 20 антитела к клеткам человека (Meso Scale Diagnostics, № кат. R32AJ-1), и планшеты инкубировали при 37 °C при встряхивании со скоростью 300 об/мин в течение 30 минут. Планшеты 10 раз промывали PBST, в лунки добавляли 150 мкл/луночка буфера 1X Read T и анализировали на приборе SECTOR® Imager 6000 (Meso Scale Diagnostics) через 15 минут после добавления буфера. Кажущуюся KD определяют посредством аппроксимации сигмоидальной кривой ответа электрохемиллюминесценции (ECL) в зависимости от логарифма (концентрация растворимого IL-4R α) с использованием GraphPad Prism 9. Данные представлены на графике с нормализованными значениями ECL.

Результаты, продемонстрированные в таблице 4 и на Фиг. 3А и 3В, демонстрируют, что иллюстративные варианты антитела 5559 к IL-4R α имели значительное увеличение аффинности

связывания с IL-4R α как человека, так и яванского макака по сравнению с антителом 5F3 IgG4PAA. В частности, аффинность связывания с IL-4R α человека соответствующих вариантов антитела 5559 составляла 5559 IgG1A 124C/378C (45,08 пМ), 5559 IgG4P KRQ 124C/378C (20,82 пМ) и 5559 IgG4P 124C/378C (24,63 пМ) по сравнению с 5F3 IgG4PAA (1993 пМ).

5 **Таблица 4. Аффинности связывания иллюстративных антител к IL-4R α человека с IL-4R α человека и яванского макака**

Антитело к IL-4R α	Виды IL-4R α	K _D (пМ)
5F3 IgG4PAA	Человек	1993
	Яванский макак	1326
5559 IgG1A 124C/378C	Человек	45,08
	Яванский макак	38,88
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	Человек	20,82
	Яванский макак	23,32
5559 IgG4P 124C/378C	Человек	24,63
	Яванский макак	31,52

Связывание с В-клетками и Т-клетками. Связывание иллюстративных антител к IL-4R α человека с В-клетками и Т-клетками испытывали в анализе сортировки клеток с активацией флуоресценции (FACS). PBMC человека выделяли из образцов крови человека посредством стандартных методов центрифугирования в градиенте плотности Ficoll-Paque™ plus (GE HEALTHCARE). Свежевыделенные клетки PBMC ресуспендировали в концентрации 2×10^6 клеток/мл и оставляли на 15 минут при комнатной температуре, впоследствии помещали по 100 мкл/лунка в 96-луночный планшет с круглым дном (COSTAR®) и промывали буфером FACS (PBS, содержащим 2% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) от Corning®). Иллюстративные антитела к IL-4R α человека и соответствующие контрольные антитела к IgG, конъюгированные с Alexa Fluor® 647 в соответствии с протоколом производителя (Thermo Fisher Scientific), добавляли в лунки при 66,67 нМ и разводили в 4 раза в двух повторностях. Впоследствии добавляли в лунки эквивалентный двойной объем коктейля антител, содержащий: Human TruStain FcX™, антитела FITC к CD3 человека, антитела Alexa Fluor® 700 к CD4 человека (все от Biolegend®) и моноклональное антитело к CD20 (2H7), PerCP-Cyanine5.5 (Thermo Fisher Scientific). Клетки инкубировали при 4 °C в течение 30 минут, дважды промывали буфером для FACS и ресуспендировали в конечном объеме 100 мкл буфера для FACS. Добавляли краситель для оценки жизнеспособности Sytox™ синий (Thermo Fisher Scientific), и образцы анализировали с помощью проточного цитометра (LSRFortessa™ X-20; BD BIOSCIENCES). Анализ данных выполняли с использованием программного обеспечения FlowJo, а статистический анализ выполняли с использованием GraphPad Prism 9. Данные представляют собой среднее значение \pm станд. ош. среднего процента клеток, экспрессирующих IL-4R α , из популяций В-клеток CD20 и CD4-положительных Т-клеток от шести доноров. Кривые были получены посредством аппроксимации сигмоидальной кривой логарифма (концентрация антител) в

зависимости от процента клеток, экспрессирующих IL-4R α , из отдельных популяций клеток.

Результаты, представленные в таблице 5А и на Фиг. 4А и 4В, демонстрируют, что иллюстративные антитела 5559 IgG1A 124C/378C и 5559 IgG4P KRQ 124C/378C к IL-4R α связываются со сравнимой аффинностью с выделенными из PBMC В-клетками человека (EC₅₀ 0,14 нМ и 0,15 нМ соответственно) и Т-клетками CD4 (EC₅₀ 28,7 нМ и 26,3 нМ соответственно). Результаты дополнительно показали, что замены аминокислотных остатков KRQ и замены аминокислотных остатков 124C/378C не влияли на связывание иллюстративных антител против IL-4R α 5559 с В- или Т-клетками.

Кроме того, как показано в таблице 5В и на Фиг. 4С, безэфекторное антитело 5559 IgG1AAA 124C/378C показало неожиданно сниженную аффинность к В-клеткам (EC₅₀ 1,07 нМ) по сравнению с антителом 5559 IgG1A 124C/378C (EC₅₀ 0,27 нМ), и это указывает на то, что Fc-участок антитела может влиять на связывание иллюстративного антитела к IL-4R α с В-клетками.

Таблица 5А. Связывание иллюстративных антител к IL-4R α человека с В- и Т-клетками

Антитело к IL-4R α	EC ₅₀ В-клеток (нМ)	EC ₅₀ Т-клеток (нМ)
5559 IgG1A 124C/378C	0,14	28,7
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	0,15	26,3

Таблица 5В. Связывание иллюстративных антител к IL-4R α человека с В-клетками

Антитело	EC ₅₀ В-клеток (нМ)
5559 IgG1A 124C/378C	0,27
5559 IgG1AAA 124C/378C	1,07

Активность блокирования цитокинов IL-4 и IL-13 на клеточной основе. Антагонистическую активность иллюстративных антител к IL-4R α по отношению к IL-4 и IL-13 определяли с использованием клеточной линии HEK-Blue, экспрессирующей IL-4R и IL-13R (InvivoGen), посредством измерения активности выделяемой плацентарной щелочной фосфатазы (SEAP). Клетки HEK-Blue высевали в течение ночи из расчета 5×10^4 клеток/лунка в 50 мкл среды для выращивания в планшете, покрытом полилизинном. Иллюстративные антитела к IL-4R α (5F3 IgG4PAA, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG1A 124C/378C и 8660 IgG4P 124C/378C) получали в 96-луночном планшете с низкой степенью связывания белка Greiner при 4-кратных разведениях, начиная с 20 мкг/мл, в среде для выращивания. Серию разведений смешивали с равным объемом рекомбинантного IL-4 или IL-13 человека (Eli Lilly) в среде для выращивания. Впоследствии 50 мкл смеси добавляли в планшеты с клетками HEK-Blue до конечной концентрации 100 пг/мл IL-4 человека или 10 нг/мл IL-13 человека, а планшеты впоследствии инкубировали в течение ночи в инкубаторе культуры ткани при 37 °С. 20 мкл надосадочной жидкости из инкубированных в течение ночи планшетов переносили в 96-луночный планшет, обработанный для тканевого культивирования, добавляли по 180 мкл/лунка QUANTI-Blue™ (InvivoGen) и инкубировали смесь в течение 45 минут при 37 °С. Активность выделяемой плацентарной щелочной фосфатазы (SEAP)

измеряли при 650 нм на считывателе микропланшетов SpectraMax (Molecular Devices). Результаты были представлены в виде оптической плотности (ОП) при 650 нм, а статистический анализ выполняли с использованием GraphPad Prism 9. IC₅₀ и кривые были построены посредством аппроксимации сигмоидальной кривой логарифма (концентрация антител) в зависимости от ОП при 650 нм для каждого иллюстративного антитела.

Результаты, представленные в таблице 6 и на Фиг. 5А и 5В, показывают, что иллюстративные антитела 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C и 8660 IgG4P 124C/378C к IL-4R α ингибировали индуцированную как IL-4 (Фиг. 5А), так и IL-13 (Фиг. 5В) активность SEAP дозозависимым образом. В частности, как показано в таблице 6 и на Фиг. 5А, ингибирование IL-4-индуцированной активности SEAP для антител 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C и 8660 IgG4P 124C/378C приводило к значениям IC₅₀ 0,07, 0,08 и 0,03 нМ соответственно. Кроме того, как показано в таблице 6 и на Фиг. 5В, ингибирование IL-13-индуцированной активности SEAP для антител 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C и 8660 IgG4P 124C/378C приводило к сравнимым значениям IC₅₀ 0,51, 0,67 и 0,24 нМ соответственно.

Таблица 6. Активность блокирования IL-4 и IL-13 на клеточной основе посредством иллюстративных антител к IL-4R α человека

Антитело к IL-4R α	IL-4 IC ₅₀ (нМ)	IL-13 IC ₅₀ (нМ)
5F3 IgG4PAA	3,45	> 35
5559 IgG1A 124C/378C	0,07	0,51
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	0,08	0,67
8660 IgG4P 124C/378C	0,03	0,24

Ингибирование IL-4- и IL-13-индуцированного фосфорилирования pSTAT6 в PBMC человека.

Ингибирование опосредованного IL-4 и IL-13 фосфорилирования pSTAT6 IL-4R посредством иллюстративных антител к IL-4R α оценивали в первичных В- и/или Т-клетках. PBMC человека выделяли из образцов крови человека посредством стандартных методов центрифугирования в градиенте плотности Ficoll-Paque™ plus (GE HEALTHCARE). Выделенные клетки ресуспендировали в количестве 100–300 миллионов клеток в 100 мл полной среды (RPMI-1640 с 10% FBS, 1% раствором пенициллина и стрептомицина от Corning®, а также 1% GlutaMAX™ и 0,1% β -меркаптоэтанола от Gibco™) в колбу T175 (FALCON) и стимулировали 2 мкг/мл ФГА (SIGMA), 0,5 мкг/мл ЛПС (SIGMA) и 100 нг/мл рекомбинантного IL-6 человека в течение ночи. Клетки промывали свежей средой и высевали в количестве от 5×10^4 до 2×10^5 клеток/лунка в 96-луночные круглодонные планшеты (Corning®) в 100 мкл полной среды, содержащей иллюстративные антитела в концентрации 10 мкг/мл, с 4-кратным разведением и титрованием для 11 точек. Клетки инкубировали с антителами в течение 30 минут при комнатной температуре, а впоследствии стимулировали 120 нг/мл (6-кратная концентрация) рекомбинантного IL-4 человека или рекомбинантного IL-13 человека (R&D Systems) в 20 мкл полной среды в течение 12 минут при

комнатной температуре. Стимуляцию останавливали добавлением 120 мкл 1 объема лизирующего/фиксирующего буфера (BD BIOSCIENCES) на 5 минут, впоследствии планшеты центрифугировали при 2000 об/мин в течение 2 минут и удаляли надосадочную жидкость. Клеточные осадки ресуспендировали в 100 мкл ледяного метанола (SIGMA), помещали на лед на 20 минут и промывали фосфатно-солевым буфером Дульбекко (DPBS), содержащим 2% FBS (Corning®). Клетки ресуспендировали в 50 мкл коктейля антител к следующим белкам: CD4, CD33, CD8 и CD3 (Thermo Fisher Scientific) фосфорилировали STAT6 (Biolegend®) и CD20 (BD BIOSCIENCES) и инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре, а впоследствии промывали DPBS, содержащим 2% FBS. Образцы клеток анализировали с помощью проточного цитометра. Анализ проводили с использованием программного обеспечения FlowJo, а статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism 9. Кривые были получены посредством аппроксимации сигмоидальной кривой логарифма (концентрация антител) в зависимости от процента ингибирования фосфорилированного STAT-6 из отдельных популяций клеток от двух доноров.

Результаты, как показано в таблице 7 и на Фиг. 6А и 6В, показывают, что иллюстративные антитела к IL-4Rα ингибировали индуцированное IL-4 фосфорилирование STAT6 как в CD4+ Т-клетках (Фиг. 6А), так и в В-клетках (Фиг. 6В) дозозависимым образом. В частности, значения IC₅₀ для ингибирования фосфорилирования pSTAT6, индуцированного IL-4, посредством иллюстративных антител 5559 IgG1A 124C/378C и 5559 IgG4P KRQ 124C/378C составляли 0,07 мкг/мл в Т-клетках CD4 и 0,05 мкг/мл в В-клетках для обоих антител.

Кроме того, результаты, продемонстрированные в таблице 8 и на Фиг. 6С, показывают, что иллюстративные антитела к IL-4Rα также ингибировали индуцированное IL-13 фосфорилирование STAT6 в В-клетках (Фиг. 6С) дозозависимым образом. В частности, значения IC₅₀ для ингибирования IL-13-индуцированного фосфорилирования pSTAT6 в В-клетках антителами 5559 IgG1A 124C/378C и 5559 IgG4P KRQ 124C/378C составляли 0,06 мкг/мл для обоих антител.

Таблица 7. Ингибирование индуцированного IL-4 фосфорилирования STAT6 в Т- и В-клетках человека посредством иллюстративных антител человека к IL4Rα

Антитело к IL-4Rα	Ингибирование фосфорилирования STAT6	
	EC ₅₀ Т-клеток (мкг/мл)	EC ₅₀ В-клеток (мкг/мл)
5559 IgG1A 124C/378C	0,07	0,05
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	0,07	0,05

Таблица 8. Ингибирование индуцированного IL-13 фосфорилирования STAT6 в В-клетках человека посредством иллюстративных антител человека к IL4Rα

Антитело к IL-4Rα	Ингибирование фосфорилирования STAT6 в В-клетках, IC ₅₀ (мкг/мл)
5559 IgG1A 124C/378C	0,06

5559 IgG4P KRQ 124C/378C	0,06
--------------------------	------

Ингибирование IL-4-индуцированной пролиферации В-клеток. Ингибирование пролиферации В-клеток иллюстративными антителами к IL-4Rα человека оценивали на первичных В-клетках, выделенных из PBMC человека. PBMC человека выделяли из образцов крови человека посредством стандартных способов центрифугирования в градиенте плотности Ficoll-Paque™ plus (GE HEALTHCARE), а первичные В-клетки выделяли из суспензии PBMC посредством негативной селекции посредством набора EasySep™ Human Naïve B-cell Enrichment Kit в соответствии с протоколом производителя (STEMCELL™ Technologies). Выделенные первичные В-клетки человека ресуспендировали при 1×10^6 клеток/мл и помещали в 96-луночные полистироловые планшеты с U-образным дном в полной среде (RPMI-1640, содержащая 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 1X MEM-незаменимые аминокислоты, 1 мМ пирувата натрия, 1X раствор пенициллина-стрептомицина (все от Corning®) и GlutaMAX™ (Gibco™), 0,1% β-меркаптоэтанола (Life Technologies). Клетки предварительно обрабатывали антителами к IL-4Rα или изотипическим контролем в течение 0,5–1 часа при 66,67 нМ, разведенных в 4 раза, и титровали по 10 точкам. Клетки стимулировали антителом к CD40/TNFRSF5 человека (200 нг/мл; R&D SYSTEMS) и рекомбинантным человеческим белком IL-4 (5 нг/мл; R&D SYSTEMS) в течение 2 дней при 37 °C и 5% CO₂. Впоследствии в клетки вводили [³H]-тимидин (1 мкКи тимидина/луночка; PerkinElmer®) в течение 18 часов при 37 °C и измеряли уровень включения [³H]-тимидина посредством считывателя микропланшетов (MicroBeta²; PerkinElmer®) и выражали в виде количества клеток в минуту (CCPM). Статистический анализ выполняли с использованием GraphPad Prism 9, а кривые строили посредством аппроксимации сигмоидальной кривой логарифма (концентрация антител) в зависимости от CCPM.

Результаты, продемонстрированные в таблице 9 и на Фиг. 7, показывают, что иллюстративные антитела к IL-4Rα ингибировали индуцированную IL-4 пролиферацию В-клеток дозозависимым образом. В частности, IC₅₀ для ингибирования IL-4-индуцированной пролиферации В-клеток антителами 5559 IgG1A 124C/378C и 5559 IgG4P KRQ 124C/378C составляла 0,95 нМ и 1,32 нМ соответственно.

Таблица 9. Ингибирование IL-4-индуцированной пролиферации В-клеток посредством иллюстративных антител к IL-4Rα человека

Антитело к IL-4Rα	Ингибирование пролиферации В-клеток, IC ₅₀ (нМ)
5559 IgG1A 124C/378C	0,95
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	1,32

30

Ингибирование IL-4- и IL-13-индуцированной экспрессии CD23 в миелоидных клетках.

Ингибирование индуцированной IL-4 и IL-13 экспрессии CD23 иллюстративными антителами к IL-4Rα человека оценивали в миелоидных клетках. PBMC человека выделяли из образцов крови

человека посредством стандартных методов центрифугирования в градиенте плотности Ficoll-Paque™ plus (GE HEALTHCARE). Клетки высевали из расчета 2×10^5 клеток/лунка в 96-луночный планшет с плоским дном. В лунки добавляли 50 мкл последовательно разведенных в 3 раза антител и инкубировали при 37 °C с 5% CO₂ в течение 30 минут. Впоследствии в лунки добавляли 50 мкл 3X стимуляции рекомбинантного IL-4 или IL-13 человека (R&D Systems) в полной среде до конечной концентрации 10 нг/мл. Планшеты инкубировали при 37 °C с 5% CO₂ в течение 48 часов, клетки промывали и ресуспендировали в буфере для FACS, содержащем Human TruStain FcX™, антитела Brilliant Violet 785™ к CD33 человека, антитела FITC к CD3 человека (от Biolegend®), моноклональное антитело CD20 (2H7) PerCP-Cyanine5.5 и моноклональное антитело CD23 (EBVCS2), APC (от Thermo Fisher Scientific). Клетки инкубировали при 4 °C в течение 30 минут, дважды промывали буфером для FACS и ресуспендировали в конечном объеме 100 мкл буфера для FACS. Добавляли в лунки краситель для оценки жизнеспособности Sytox™ синий (Thermo Fisher Scientific) и анализировали образцы с помощью проточного цитометра (LSRFortessa™ X-20; BD BIOSCIENCES). Анализ данных проводили с использованием ПО FlowJo. Миелоидные клетки были идентифицированы как Sytox™ синий-, CD3- и CD20-отрицательные, CD33-положительные клетки. Данные были представлены в виде сигмоидальной кривой ингибирования в процентах в зависимости от логарифма (концентрация антител) двух доноров, а статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism 9.

Результаты, представленные в таблице 10 и на Фиг. 8А и 8В, показывают, что иллюстративные антитела к IL-4Rα ингибировали индуцированную как IL-4 (Фиг. 8А), так и IL-13 (Фиг. 8В) экспрессию CD23 на миелоидных клетках. В частности, значения IC₅₀ для ингибирования IL-4-индуцированной экспрессии CD23 антителами 5559 IgG1A 124C/378C и 5559 IgG4P KRQ 124C/378C составляли 4,44 нМ и 18,25 нМ соответственно. Кроме того, значения IC₅₀ для ингибирования IL-13-индуцированной экспрессии CD23 антителами 5559 IgG1A 124C/378C и 5559 IgG4P KRQ 124C/378C составляли 1,28 нМ и 5,37 нМ соответственно.

Таблица 10. Ингибирование IL-4- и IL-13-индуцированной экспрессии CD23 в миелоидных клетках иллюстративными антителами к IL-4Rα человека

Антитело к IL-4Rα	Ингибирование экспрессии CD23	
	IL-4 индуцированная, IC ₅₀ (нМ)	IL-13 индуцированная, IC ₅₀ (нМ)
5559 IgG1A 124C/378C	4,44	1,28
5559 IgG4P KRQ 124C/378C	18,25	5,37

Пример 4. Активность эффекторной функции антител к IL-4Rα человека

Связывание Fcγ-рецептора человека. Аффинность связывания иллюстративных антител к IL-4Rα с Fcγ-рецепторами человека оценивали посредством анализа поверхностного плазмонного резонанса (ППР). Чип CM5 серии S (Cytiva P/N BR100530) готовили с использованием набора для связывания

по аминогруппе EDC/NHS в соответствии с изготовителем (Cytiva P/N BR100050). Вкратце, поверхности всех 4 проточных ячеек (FC) активировали посредством введения смеси EDC / NHS в соотношении 1 : 1 в течение 7 минут со скоростью 10 мкл/минута. Белок А (Calbiochem P/N 539202) разводили до 100 мкг/мл в 10 мМ ацетатном буфере, pH 4,5 и иммобилизовали для приблизительно 4000 RU на всех 4 проточных ячейках посредством 7-минутного введения при скорости потока 10 мкл/минута. Непрореагировавшие участки блокировали путем 7-минутного введения этаноламина со скоростью 10 мкл/минута. Для удаления любого нековалентно связанного белка использовали введение 2 x 10 мкл глицина, pH 1,5. Подвижный буфер представлял собой 1x HBS EP+ (TEKNOVA, P/N H8022). Внеклеточные домены FcγR (ECD) -FcγRI (CD64), FcγRIIA_131R и FcγRIIA_131H (CD32a), FcγRIIA_158V, FcγRIIA_158F (CD16a) и FcγRIIb (CD32b) были получены из стабильной экспрессии клеток CHO и очищены с использованием IgG-сефарозы и эксклюзионной хроматографии размеров. Для связывания FcγRI антитела разводили в подвижном буфере до 2,5 мкг/мл и приблизительно 150 RU каждого антитела захватывали в проточные ячейки 2–4 (RU-захват). FC1 представляла собой эталонную проточную ячейку, следовательно, в FC1 антитело не захватывали. ECD FcγRI разводили до 200 нМ в подвижном буфере, а впоследствии подвергали двукратному серийному разведению в подвижном буфере до 0,78 нМ. Осуществляли двойное введение каждой концентрации во все проточные ячейки со скоростью 40 мкл/минута в течение 120 секунд с последующей фазой диссоциации 1200 секунд. Регенерацию проводили посредством введения 15 мкл 10 мМ глицина, pH 1,5, со скоростью 30 мкл/минута во все проточные ячейки. Данные за вычетом эталона собирали как FC2-FC1, FC3-FC1 и FC4-FC1, а измерения проводили при 25 °C. Аффинность (KD) рассчитывали с использованием либо анализа установившегося равновесия с помощью программного обеспечения для оценки Scrubber 2 Biacore Evaluation, либо модели «связывания 1 : 1 (Ленгмюра)» в BIA Evaluation. Для связывания FcγRIIa, FcγRIIb и FcγRIIIa антитела разводили до 5 мкг/мл в подвижном буфере и приблизительно 500 RU каждого антитела захватывали в проточные ячейки 2–4). FC1 представляла собой эталонную проточную ячейку. ECD Fcγ-рецептора разводили до 10 мкМ в подвижном буфере, а впоследствии последовательно подвергали 2-кратному разведению в подвижном буфере до 39 нМ. Осуществляли двойное введение каждой концентрации во все проточные ячейки со скоростью 40 мкл/минута в течение 60 секунд с последующей фазой диссоциации 120 секунд. Регенерацию проводили посредством введения 15 мкл 10 мМ глицина, pH 1,5, со скоростью 30 мкл/минута во все проточные ячейки. Данные за вычетом эталона собирали как FC2-FC1, FC3-FC1 и FC4-FC1, а измерения проводили при 25 °C. Аффинность (KD) рассчитывали с использованием анализа установившегося равновесия с помощью программного обеспечения для оценки Scrubber 2 Biacore Evaluation. Каждый рецептор подвергали анализу по меньшей мере два раза.

Результаты, как показано в таблице 11, представляют аффинность связывания (KD) иллюстративных антител 5559 IgG4P KRQ 124C/378C и 5559 IgG1A 124C/378C к IL-4Rα с ECD рецепторов FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb и FcγRIIIa человека.

Таблица 11. Аффинности связывания иллюстративных антител к IL-4R α человека с Fc γ -рецепторами человека

Fc γ -рецептор	IgG1 человека		IgG4 SP человека		5559 IgG4P KRQ 124C/378C		5559 IgG1A 124C/378C	
	Среднее K _D	Станд. откл.	Среднее K _D	Станд. откл.	Среднее K _D	Станд. откл.	Среднее K _D	Станд. откл.
FcγRI	52,1 пМ	2,1	418,7 пМ	16,5	442,3 пМ	21,4	42,8 пМ	3,9
FcγRIIA_131H	0,68 мкМ	0	5,31 мкМ	0,03	3,75 мкМ	0,11	1,24 мкМ	0,01
FcγRIIA_131R	0,74 мкМ	0	2,31 мкМ	0,07	1,67 мкМ	0,06	0,78 мкМ	0,03
FcγRIIb	3,11 мкМ	0,1	2,78 мкМ	0,42	2,05 мкМ	0,2	3,02 мкМ	0,34
FcγRIIA_158V	0,20 мкМ	0,01	7,35 мкМ	0,84	6,22 мкМ	0,8	0,44 мкМ	0,01
FcγRIIA_158F	1,29 мкМ	0,04	> 10 мкМ		> 10 мкМ		2,63 мкМ	0,18

Связывание C1q. Связывание иллюстративных антител к IL-4R α с C1q человека определяли

- 5 посредством ИФА. 96-луночные микропланшеты покрывали 100 мкл/луночка каждого иллюстративного антитела, разведенного в PBS Дульбекко (Dulbecco's HyClone) от 10 мкг/мл до 0,19 мкг/мл и инкубировали в течение ночи при 4 °С. Покрывающий реагент удаляли, планшеты блокировали с помощью 200 мкл/луночка казеинового блокирующего буфера (Thermo) и инкубировали в течение 2 часов при комнатной температуре (комн. темп.). Планшеты промывали
- 10 3 раза промывочным буфером (1 x TBE с 0,05% Tween 20) и добавляли 10 мкг/мл C1q человека (MS Biomedical), разведенного казеиновым блокирующим реагентом (100 мкл/луночка) и инкубировали в течение 3 часов при комн. темп. Гуманизированные изотипические контрольные антитела IgG1 и гуманизированные IgG4P использовали в качестве положительного и отрицательного контроля соответственно. Впоследствии планшеты трижды промывали промывочным буфером перед
- 15 добавлением 100 мкл/луночка 1 : 800 разведения антитела овцы к C1q-HRP человека (Abscam № ab46191) в казеиновом блокирующем реагенте и инкубацией в течение 1 часа при комн. темп. Впоследствии планшеты 6 раз промывали промывочным буфером и в каждую луночку добавляли 100 мкл/луночка субстрата TMB (Pierce) и инкубировали в течение 7 минут. Добавляли 100 мкл/луночка 1 н. HCl для остановки реакции. Оптическую плотность сразу же измеряли при 450 нм на
- 20 колориметрическом считывателе микропланшетов. Данные анализировали с использованием программного обеспечения для сбора и анализа данных SoftMax Pro 7.1.

Результаты, представленные на Фиг. 9, показывают, что иллюстративные антитела 5559 IgG1A 124C/378C и 5559 IgG4P KRQ 124C/378C не связывали компонент компонента C1q.

Антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность (ADCC). Анализы ADCC *in vitro* для иллюстративных антител оценивали либо с помощью анализа ADCC на основе гена-репортера, либо с помощью анализа ADCC на основе первичных NK- и Th2-клеток человека.

25

Для анализа ADCC на основе гена-репортера использовали клетки Дауди (ATCC, №CCL-213), экспрессирующие IL-4R α человека и CD20 человека, в качестве линии клеток-мишеней, и клетки Юркат, экспрессирующие функциональный Fc γ RIIIa (V158)-NFAT-Luc (Eli Lilly and Company) в качестве эффекторной клеточной линии. Все тестовые антитела и клетки разводили в среде для анализа, содержащей RPMI-1640 (без фенолового красного) с 0,1 мМ заменимых аминокислот (NEAA), 1 мМ пирувата натрия, 2 мМ L-глутамина, 500 ЕД/мл пенициллина-стрептомицина и 0,1% мас./об. BSA. Тестовые антитела сначала разводили до 3X концентрации 3,3 мкг/мл, а впоследствии последовательно разбавляли 7 раз в соотношении 1 : 4. По 50 мкл/лунка каждого антитела аликвотировали в двух повторностях в 96-луночный планшет с белым непрозрачным дном (Costar, № 3917). В качестве положительного контроля использовали антитело CD20. Впоследствии клетки-мишени Дауди добавляли в планшеты по 5×10^4 клеток/лунка в аликвотах по 50 мкл и инкубировали в течение 1 часа при 37 °С. Затем в лунки добавляли клетки Юркат V158 по 150 000 клеток/лунка аликвотами по 50 мкл и инкубировали в течение 4 часов при 37 °С с последующим добавлением 100 мкл/лунка субстрата люциферазы One-Glo (Promega, №E8130). Содержимое планшетов перемешивали с помощью шейкера для планшетов на низкой скорости, инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут и считывали сигнал люминесценции на считывателе микропланшетов BioTek (BioTek Instruments) с использованием интегрирования 0,2 имп/с. Данные анализировали с использованием GraphPad Prism 9 и наносили относительные единицы люминесценции (RLU) для концентрации каждого антитела на график в формате разброса концентрации антител в зависимости от RLU. Результаты были репрезентативными для двух независимых экспериментов.

Для анализа ADCC на основе первичных NK- и Th2-клеток человека использовали первичные В-клетки человека и клетки Th2 человека, совместно культивированные с первичными NK-клетками человека. Первичные В-клетки человека, NK-клетки и наивные CD4 T-клетки выделяли из свежечищенных PBMC человека методом иммуномагнитной негативной селекции в соответствии с протоколами производителя (набор Human B cell Enrichment Kit, Stemcell Technologies № 19054; набор Human NK Cell Isolation Kit, Stemcell Technologies № 17955; набор Human Naïve CD4+ T cell Isolation Kit II, Stemcell Technologies № 17555). Th2-клетки человека дифференцировали *in vitro* посредством культивирования очищенных наивных T-клеток CD4 с антителом к CD3 человека (BioXCell № BE0001-2), антителом к CD28 человека (BioLegend № 302934), антителом к IFN γ человека (R&D Systems № MAB285-500), рекомбинантным IL-2 человека (R&D Systems № 202-IL-050/CF) и рекомбинантным IL-4 человека (R&D Systems № 6507-IL-100/CF) в течение 14 дней. Окрашивание методом проточной цитометрии использовали для оценки чистоты клеток на анализаторе клеток BD LSRFortessa. NK-клетки были подтверждены как CD56⁺ (к CD56-PE/Dazzle-594 человека, BioLegend № 318348) и Fc γ RIII⁺ (к CD16-SuperBright-702 человека, Fisher Scientific № 67-0168-42), В-клетки были подтверждены как CD19⁺ (к CD19-PE-Cy5 человека, Fisher Scientific № 15-0199-42) и IL-4R α ⁺ (5559-Alexa Fluor-647, Lilly), а Th2-клетки были подтверждены как CD4⁺ (к CD4-eFluor -450 человека, Fisher Scientific № 48-0047-42), GATA3⁺ (к

GATA3-PerCP/Cyanine5.5 человека, BioLegend № 653812) и IL-4Rα⁺ . 5 × 10⁴ В-клеток или Th2-клеток на лунку обрабатывали 30 мкг/мл или 5 мкг/мл антитела 5559 IgG1 A 124C/378C соответственно и совместно культивировали с 250 000 NK-клетками в течение 24 часов при 37 °С. Лунки с положительным контролем обрабатывали антителом к CD52 человека (Eli Lilly and Company). ADCC измеряли с помощью анализа цитотоксичности CytoTox-Glo (Promega № G9292) в соответствии с протоколом производителя. Относительную люминесценцию регистрировали с помощью многорежимного считывающего устройства Biotek Cytation 5 Imaging. Данные являются репрезентативными для трех технических повторностей для каждого донора. Статистический анализ выполняли с использованием GraphPad Prism 9. Данные представляют среднее ± станд. откл. относительных единиц люминесценции. Различия в лечении оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа для каждого типа клеток по отдельности, а групповые сравнения с группой без антител оценивали с использованием критерия Тьюки для множественных сравнений с уровнем значимости 0,05.

Результаты анализа на основе гена-репортера, как показано на Фиг. 10А, показывают, что иллюстративные антитела к 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C и 5559 IgG4P 124C/378C к IL-4Rα в значительной степени отсутствовали или не имели ADCC-активности, по сравнению с положительным контролем.

Кроме того, результаты анализа ADCC на основе первичных NK- и Th2-клеток человека, как показано на Фиг. 10В, показывают, что иллюстративное антитело 5559 IgG1A 124C/378C к IL-4Rα не индуцирует активность ADCC в первичных В-клетках человека и Th2-клетках человека по сравнению с положительным контролем, который продемонстрировал значительную активность ADCC как в первичных В-клетках (p < 0,0001), так и в Th2-клетках человека (p = 0,032) по сравнению с группами отрицательного контроля.

Комплемент-зависимая клеточная цитотоксичность (CDC). Анализы CDC иллюстративных антител *in vitro* проводили с использованием клеток Дауди (ATCC, № CCL-213). Все тестовые антитела, комплемент и клетки разводили в среде для анализа, состоящей из RPMI-1640 (без фенолового красного) с 0,1 мМ заменимых аминокислот (NEAA), 1 мМ пирувата натрия, 2 мМ L-глутамина, 500 ЕД/мл пенициллина-стрептомицина. и 0,1% мас./об. BSA. Тестовые антитела сначала разводили до 3X концентрации 100 мкг/мл, а впоследствии последовательно разбавляли 7 раз в соотношении 1 : 4. По 50 мкл/лунку каждого антитела (включая антитело к CD20 в качестве положительного контроля) аликвотировали в двух повторностях в 96-луночный планшет с белым непрозрачным дном (Costar, № 3917). Клетки-мишени Дауди добавляли по 5 × 10⁴ клеток/лунка в аликвотах по 50 мкл/лунка и инкубировали в течение 1 часа при 37 °С. Затем комплемент человеческой сыворотки (Quidel, № A113), быстро размороженный на водяной бане при 37 °С, разбавляли 1 : 6 в среде для анализа и добавляли по 50 мкл/лунка в аналитический планшет. Планшет инкубировали в течение 2 часов при 37 °С с последующим добавлением 100 мкл субстрата CellTiter Glo (Promega, № G7571). Содержимое планшетов перемешивали с помощью шейкера для планшетов на низкой скорости, инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут и

считывали сигнал люминесценции на считывателе микропланшетов BioTek (BioTek Instruments) с использованием интегрирования 0,2 имп/с. Данные анализировали с использованием GraphPad Prism 9 и наносили относительные единицы люминесценции (RLU) для концентрации каждого антитела на график в формате разброса концентрации антител в зависимости от RLU. Результаты отражают данные, полученные в ходе двух независимых экспериментов.

Результаты, продемонстрированные на Фиг. 11, показывают, что иллюстративные антитела 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C и 5559 IgG4P 124C/378C к IL-4R α не индуцируют активность CDC по сравнению с положительным контролем.

10 **Пример 5. Биофизические свойства антител к IL-4R α человека**

Оценивали биофизические свойства иллюстративных антител 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P 124C/378C и 5559 IgG4P KRQ 124C/378C к IL-4R α человека.

Агрегация из клеточной культуры. Иллюстративные антитела временно экспрессировали в клетках CHO. Титры антител и процентное содержание высокомолекулярных (% BM) соединений после очистки аффинной хроматографией на белке А приведены в таблице 12. Результаты, представленные в таблице 12, показывают, что включение сконструированных цистеинов в иллюстративные антитела или введение мутаций KRQ в иллюстративные антитела 5559 IgG4P не оказали существенного влияния на титр антител или агрегацию антител.

Вязкость. Образцы иллюстративных антител концентрировали до примерно 125 мг/мл в матрице стандартного буфера для приготовления состава при pH 6, содержащей 5 мМ гистидина с эксципиентами. Вязкость каждого антитела измеряли с использованием VROC® initium (RheoSense) при 15 °C, используя среднее значение из 9 повторных измерений. Как показано в таблице 12, результаты показывают, что антитела 5559 IgG4P KRQ 124C/378C и 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C продемонстрировали значительно улучшенную вязкость — 11,6 сП и 9,6 сП соответственно, по сравнению с антителами 5559 IgG4P 124C/378C, у которых отсутствуют замены аминокислотных остатков KRQ. Результаты дополнительно показали, что антитела 5559 IgG4P KRQ 124C/378C и 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C имели сравнимую вязкость с антителом 5559 IgG1A 124C/378C. Низкая вязкость иллюстративных антител обозначает желательную способность антител к развиваемости.

Термостабильность. Дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК) использовали для оценки стабильности иллюстративных антител против термической денатурации. Температуры термического плавления антител в PBS, pH 7,2 указаны в таблице 12. Хотя температуры термического перехода для каждого домена не были хорошо определены ни в конструкциях IgG1, ни в IgG4P, данные, показанные в таблице 12 и на Фиг. 12A и 12B, показывают, что включение сконструированных цистеинов в иллюстративные антитела или введение мутаций KRQ в иллюстративном антителе 5559 IgG4P не оказывали негативного влияния на термическую стабильность антител и не изменяли их структурную целостность.

Агрегация при температурном стрессе. Стабильность раствора иллюстративных антител во времени оценивали приблизительно в 100 мг/мл в обычном 5 мМ гистидиновом буфере, pH 6,0, и эксципиентами. Концентрированные образцы инкубировали в течение 4 недель при 5 °С и 35 °С соответственно. После инкубации образцы анализировали на процентное содержание высокомолекулярных (%ВММ) частиц с помощью эксклюзионной хроматографии размеров (SEC). Иллюстративные результаты, продемонстрированные в таблице 12, показывают, что включение сконструированных цистеинов в иллюстративные антитела или введение мутаций KRQ в иллюстративные антитела 5559 IgG4P не повлияли на профиль агрегации антител в течение 4-недельного периода времени ни при 5 °С, ни при 35 °С; в частности, иллюстративные результаты показывают, что антитела имеют сопоставимую стабильность раствора.

Таблица 12. Иллюстративные биофизические свойства иллюстративных антител к IL-4Ra человека

	5559 IgG1A	5559 IgG1A 124C/378C	5559 IgG4P 124C/378C	5559 IgG4P KRQ 124C/378C	5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C
Титр tCHO (г/л)	1,0	1,0	1,1	0,9	
% ВМ после хроматографии с белком А	0,8	0,9	1,2	1	
Вязкость (сП)	7,9	9,2	43	11,6	8,7
T_{нач} (°С)	60,8	61,3	59,0	59,1	
T_{m1} (°С)	69,8	69,5	69,8	69,9	
T_{m2} (°С)	81,7	83,4	-	-	
% ВМ после инкубирования в течение 4 недель при 5 °С	0,8	1,4	0,1	0,2	
% ВМ после инкубирования в течение 4 недель при 35 °С	1,7	3,0	2,4	2,2	

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

5559 IgG1A 124C/378C

5 **SEQ ID NO: 1 HCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**
VASGFTFSHSSMN

10 **SEQ ID NO: 2 HCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**
YISRATGAVY

15 **SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA**
AREPVFDY

20 **SEQ ID NO: 4 LCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**
RASQDISNYLA

25 **SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA**
YAASSLQS

30 **SEQ ID NO: 6 LCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**
LQWSSYPRT

35 **SEQ ID NO: 7 VH для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**
QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 8 VL для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
5 GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 9 HC для 5559 IgG1A 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSSASTKGPCVFPLAPS
10 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKA
LPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICEVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

15

SEQ ID NO: 10 LC для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
20 GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 11 HC ДНК для 5559 IgG1A 124C/378C

25 CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGTGCCTCTGGATTCACCTCAGTCATTCTAGCATGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA
AGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTGCTACTGGTGCCGCTACTACGCAGACTCTGT
AAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG
CCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGGACTACTGGGG
30 CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCCCTGGC
ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT
CCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAAGTCAAGGCGCACTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG
CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
35 AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAGTCAACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAC
TCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCC
GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCA
ACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC

AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAAGACTGGCTGAATGGCAAG
GAGTACAAGTGCGCCGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA
GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGAC
CAAGAACCAAGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCTGCGTGGA
5 GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTTATTCCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT
GTCTCCGGGCAAA

10 **SEQ ID NO: 12 LC ДНК для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGTCCGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAA
15 GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACG
GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
ACTTATTACTGTCTACAGTGGTCCAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT
20 GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA
CAGGGGAGAGTGC

25 **5559 IgG4P KRQ 124C/378C**

**SEQ ID NO: 1 HCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

VASGFTFSHSSMN

30

**SEQ ID NO: 2 HCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**

YISRATGAVY

35

**SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA**

AREPVFDY

SEQ ID NO: 4 LCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

SEQ ID NO: 6 LCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

SEQ ID NO: 7 VH для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 8 VL для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQKPKGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 13 HC для 5559 IgG4P KRQ 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSSASTKGPCVFPLAPC
SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTY
TCNVDPKPKSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSII
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICEVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSTLG

SEQ ID NO: 10 LC для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRTVITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
5 GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSSTLTLISKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 14 HC ДНК для 5559 IgG4P KRQ 124C/378C

10 CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGTGCGCCTCTGGATTACCTCAGTCATTCTAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA
AGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTGCTACTGGTGCCGCTACTACGCAGACTCTGT
AAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG
CCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGG
15 CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCCTAGC
GCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT
CCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG
CTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
20 AGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG
GACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA
GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCAAGTTCAACTGGTACG
TGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACG
TACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAG
25 TGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGG
CAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGAGAGGAGATGACCAAGAACCA
GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCTGCGTGGAGTGGGAAAG
CAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTT
CTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAATGTCTTCTCATG
30 CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGG
T

SEQ ID NO: 12 LC ДНК для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGTGCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTTAGCAGAAACCAGGGAAA
GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACG

GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
ACTTATTACTGTCTACAGTGGTCCAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGT
5 GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA
CAGGGGAGAGTGC

10 **SEQ ID NO: 15 Внеклеточный домен IL-4R α человека**

MKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKMGPTNCSTELRLLYQLVFLLEAHNTPENNGGAGCVCHLLM
DDVVSADNYTLDLWAGQQLLWKGSEFKPSEHVKPRAPGNLTVHTNVSDTLTLLTWSNPYPPDNYLY
NHLTYAVNIWSENDPADFRIYNVTYLEPSLRIAASTLKSISYRARRVRAWAQCYNNTTWEWSPSTK
WHNSYREPFQEH

15

SEQ ID NO: 16 Внеклеточный домен IL-4R α яванского макака

MKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKMGPTNCSAELRLLYQLVFQSSETHTCVPENNGGVGCVCHLL
MDDVVSMDNYTLDLWAGQQLLWKGSEFKPSEHVKPRAPGNLTVHTNVSDTVLLTWSNPYPPDNY
LYNDLTYAVNIWSENDPAYSRHNVTYLKPTLRIPASTLKSISYRARRVRAWAQHYNTTWEWSPS
20 TKWYNSYREPFQQR

SEQ ID NO: 17 IL-4 человека

MGLTSQLLPPLFFLLACAGNFVHGHKCDITLQEIITLNSLTEQKTLCTELTVTDIFAASKNTTEKET
FCRAATVLRQFYSHHEKDRCLGATAQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAGLNSCPVKEANQSTL
25 ENFLERLKTIMREKYSKCSS

SEQ ID NO: 18 IL-13 человека

MHPLLNPLLLALGLMALLLTTVIALTCLGGFASPGPVPSTALRELIEELVNITQNQKAPLCNGSMV
WSINLTAGMYCAALESINVSAGCSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSSLHVRDTKIEVAQFVKDLL
30 LHLKCLFREGRFN

5F3 IgG4PAA

SEQ ID NO: 19 HCDR1 (North) для 5F3 IgG4PAA

AASGFTFSISSMN

35

SEQ ID NO: 20 HCDR2 (North) для 5F3 IgG4PAA

YISRATGAIY

SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

5

SEQ ID NO: 22 LCDR1 (North) для 5F3 IgG4PAA и 8660 IgG4P 124C/378C

RASQGISNYLA

SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

10

YAASSLQS

SEQ ID NO: 24 LCDR3 (North) для 5F3 IgG4PAA

15

LQHNSYPRT

SEQ ID NO: 25 VH для 5F3 IgG4PAA

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSISSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAIYYADSVK
GRFTISRNNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLVTSS

20

SEQ ID NO: 26 VL для 5F3 IgG4PAA

DIQMTQSPSAMSASVGDRTITCRASQGISNYLAWFQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 27 HC для 5F3 IgG4PAA

25

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSISSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAIYYADSVK
GRFTISRNNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLVTSSASTKGPSVFPLAPCS
RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYT
CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI
30 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGL

SEQ ID NO: 28 LC для 5F3 IgG4PAA

35

DIQMTQSPSAMSASVGDRTITCRASQGISNYLAWFQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 29 HC ДНК для 5F3 IgG4PAA

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTCAGTATCTCTAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG
5 AAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAAGTCGTGCTACTGGTGCCATATACTACGCAGACTCT
GTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAAACAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAA
AGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTACTACTGG
GGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTTCTACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGTA
GCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC
10 TTCCCGAACC GG TGACGGTGTCTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC
CCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCA
GCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC
AAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGGGCCGCGGG
GGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTG
15 AGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTAC
GTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCAC
GTACCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCCTGACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAA
GTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG
GCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACC
20 AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAA
GCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT
TCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCAT
GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGG
GT

25

SEQ ID NO: 30 LC ДНК для 5F3 IgG4PAA

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTTAGCAGAAACCAGGGAAA
GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACGC
30 GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
ACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGAACTGTGGCGGCGCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CCGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
35 AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA
CAGGGGAGAGTGC

5559 IgG4P 124C/378C

SEQ ID NO: 1 HCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

5 VASGFTFSHSSMN

SEQ ID NO: 2 HCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

10 YISRATGAVY

SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

15 AREPVFDY

SEQ ID NO: 4 LCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

20 RASQDISNYLA

SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

25 YAASSLQS

SEQ ID NO: 6 LCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

30 LQWSSYPRT

SEQ ID NO: 7 VH для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

35 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 8 VL для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
5 GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 31 HC для 5559 IgG4P 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSSASTKGPCVFPLAPC
10 SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKTY
TCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICEVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSSFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
15

SEQ ID NO: 10 LC для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
20 GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADYEEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 32 HC ДНК для 5559 IgG4P 124C/378C

25 CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGTGCCTCTGGATTCACCTCAGTCATTCTAGCATGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA
AGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTGCTACTGGTGCCGCTACTACGCAGACTCTGT
AAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG
CCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGGACTACTGGGG
30 CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCCTAGC
GCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT
CCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAG
CTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
35 AGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG
GACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA
GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGT
GGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGT

ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT
GCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGC
AGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAG
GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCTGCGTGGAGTGGGAAAGC
5 AATGGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCCCTGGTGGACTCCGACGGCTCCTTC
TTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

SEQ ID NO: 12 LC ДНК для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P

10 **124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGTCTGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAA
GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGC
15 GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
ACTTATTACTGTCTACAGTGGTCCAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
20 AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCTCACAAAGAGCTTCAA
CAGGGGAGAGTGC

5559 IgG1A

25 **SEQ ID NO: 1 HCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

VASGFTFSHSSMN

30 **SEQ ID NO: 2 HCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**

YISRATGAVY

35 **SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA**

AREPVFDY

SEQ ID NO: 4 LCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

5

SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

10

SEQ ID NO: 6 LCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

15

SEQ ID NO: 7 VH для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV

20

KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 8 VL для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

25

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 33 HC для 5559 IgG1A

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV

30

KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
35 PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

SEQ ID NO: 10 LC для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRTVITCRASQDISNYLAWFQKPKGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
5 GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 34 HC ДНК для 5559 IgG1A

10 CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGTCGCCTCTGGATTCACCTCAGTCATTCTAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA
AGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTGCTACTGGTGCCGCTACTACGCAGACTCTGT
AAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG
CCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGGGG
15 CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGC
ACCCTCCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT
CCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG
CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
20 AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAAC
TCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCCG
GACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCA
ACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC
AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGACCAAGACTGGTGAATGGCAAG
25 GAGTACAAGTGCGCCGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA
GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGAC
CAAGAACCAAGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGA
GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCG
ACGGCTCCTTCTTCTTCTATTCCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG
30 TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT
GTCTCCGGGCAAA

SEQ ID NO: 12 LC ДНК для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

35 GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGTCTGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTTAGCAGAAACCAGGGAAA
GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACG

GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
ACTTATTACTGTCTACAGTGGTCCAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGT
5 GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCTCACAAAGAGCTTCAA
CAGGGGAGAGTGC

10 **5559 IgG4P KRQ**

**SEQ ID NO: 1 HCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

VASGFTFSHSSMN

15

**SEQ ID NO: 2 HCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**

YISRATGAVY

20

**SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA**

AREPVFDY

25

**SEQ ID NO: 4 LCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

RASQDISNYLA

30

**SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA**

YAASSLQS

35

**SEQ ID NO: 6 LCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**

LQWSSYPRT

SEQ ID NO: 7 VH для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

5 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 8 VL для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

10 DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 35 HC для 5559 IgG4P KRQ

15 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPC
SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTY
TCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI
20 EKTIKAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 10 LC для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

25 DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADYEEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

30

SEQ ID NO: 36 HC ДНК для 5559 IgG4P KRQ

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGTCGCCTCTGGATTCACCTCAGTCATTCTAGCATGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA
AGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTGCTACTGGTGCCGCTACTACGCAGACTCTGT
35 AAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG
CCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTACTACTGGGG
CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCTAGC
GCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT

CCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG
CTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
AGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG
5 GACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA
GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCAAGTTCAACTGGTACG
TGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACG
TACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAG
TGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGG
10 CAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGAGAGGAGATGACCAAGAACCA
GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAG
CAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTT
CTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAATGTCTTCTCATG
CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGG
15 T

**SEQ ID NO: 12 LC ДНК для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

20 GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGTCTGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAA
GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACG
GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
ACTTATTACTGTCTACAGTGGTCCAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
25 ATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGT
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCTCACAAGAGCTTCAA
30 CAGGGGAGAGTGC

5559 IgG4P

**SEQ ID NO: 1 HCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
35 5559 IgG1AAA 124C/378C**

VASGFTFSHSSMN

SEQ ID NO: 2 HCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

5

SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

10

SEQ ID NO: 4 LCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

15

SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

20

SEQ ID NO: 6 LCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

25

SEQ ID NO: 7 VH для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV

30

KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 8 VL для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

35

DIQMTQSPSAMSASVGDRTVITCRASQDISNYLAWFQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 37 HC для 5559 IgG4P

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPC
SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKY
TCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQ
5 EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLG

**SEQ ID NO: 10 LC для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C,
10 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA
124C/378C**

DIQMTQSPSAMSASVGDRTVITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLKADYEEKHKVYACEVTHQ
15 GLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 38 HC ДНК для 5559 IgG4P

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGTGCCTCTGGATTCACCTCAGTCATTCTAGCATGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA
20 AGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTGCTACTGGTGCCGCTCTACTACGCAGACTCTGT
AAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG
CCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGGACTACTGGGG
CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCTAGC
GCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT
25 CCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAG
CTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
AGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCTGGGGG
GACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA
30 GGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGT
GGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGT
ACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGTCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGT
GCAAGGTCTCAACAAAGGCCTCCCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGC
AGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAG
35 GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGC
AATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCTCCTC
TTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

SEQ ID NO: 12 LC ДНК для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

5 GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGTCTGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTTAGCAGAAACCAGGGAAA
GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTACGC
GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
ACTTATTACTGTCTACAGTGGTCCAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
10 ATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA
15 CAGGGGAGAGTGC

SEQ ID NO: 39 IL-4R α человека

MWLC SGLLFPVSCLVLLQVASSGNMKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKMN GPTNCSTELRLLYQLV
FLLSEAH TICPENNGGAGCVCHLLMDDVVSADNYTLDLWAGQQLLWKGSFKPSEHV KPRAPGNL
20 TVHTNVSDTLLL TWSNPYPPDNYL YNHLTYAVNIWSENDPADFRIYNVTYLEPSLR IAASTLKS GIS
YRARVRAWAQCYN TTWSEWSPSTKWHNSYREPF EQHLLLGVSVSCIVILAVCLLCYVSITKIKKE
WWDQIPNPARSRLVAIIIQDAQSQWEKRSRGQEP AKCPHWKNCLTKLLPCFLEHNMKRDEDPHK
AAKEMPFQSGKSAWCPVEISKTVLWPESISVVRCVELFEAPVECEEEEEVEEEKGSFCASPESSRD
DFQEGREGIVARL TESLFDLLGEENGGFCQQDMGESCLLPPSGSTSAHMPWDFEPSAGPKEAPPW
25 GKEQPLHLESP PASPTQSPDNL TCTETPLVIAGNPA YRSFSNSLSQSPCPRELGPDP LLARHLEEVEP
EMPCVPQLSEPTTPQPEPETWEQILRRNVLQHGAAAAPVSAP TSGYQEFVHAVEQGGTQASAVV
GLGPPGEAGYKAFSSLLASSAVSPEKCGFGASSGEEGYKPFQDLIPGCPGDPAPVPVPLFTFGLDRE
PPRSPQSSHL PSSPEHLGLEPGEKVEDMPKPLPQEQA TDPLVDSL GSGIVYSAL TCHLCGHLKQC
HGQEDGGQTPVMASPCCGCCGDRSSPPTPLRAPDPSPGGVPLEASLCPASLAPSGISEKSKSSSSF
30 HPAPGNAQSSSQTPKIVNFVSVGPTYMRVS

SEQ ID NO: 40 IL-4R α яванского макака

MWLC SGLLFPVSCLVLLQVASSGCSCVSPGSMKVLQEPTCVSDYMSISTCEWKMG GPTNCSAEL
RLLYQLVFQSSETHTCVPENNGGVGCVCHLLMDDVVSMDNYTLDLWAGQQLLWKGSFKPSEHV
35 KPRAPGNLTVHTNVSDTVLL TWSNPYPPDNYL YNDLTYAVNIWSENDPAYSRIHNVTYLKP TLRIP
ASTLKS GISYRARVRAWAQHYNTTWSEWSPSTK WYNSYREPF EQRLWGVSAACVFILFFCLSCY
FSVTKIKKEWWDQIPNPARSHLVAIIIQDAQESQWEKRSRGQEA AKCPYWKNC LTKLLPCFLEHN
MKRDEDPHKA VKDL PFRGSGKSAWCPVEISKTVLWPESISVVRCVELFEAPVECKEEEEVEEEKGS

FCTSSSESNRDDFQEGREGIVARL TESLFLDLLGGENGFFQQDMGESCLLPPLGSTSAHVPWDEFPS
AGSKEVPPWGKEQPLHQEPSPPASPTQSPDNPTCTEMPLVISSNPA YRSFSNSLSQSPCPRELGPDP
LARHLEEVDPEMPCAPQLSEPTTVAPAEPETWEQILRRNVLQHGAAPASAPTSYREFVHAVQ
QGGIQASAVAGLGPPGEAGYKAFSSLLASSAVSPGECGFGASSGEEGYKPFQDLTPGCPGDPAPVP
5 VPLFTFGLDREPPHSPQSSHLPSNSPEHLALEPGEKVEDMQKPPLPPEQATDPLGDSL GSGIVYSAL
TCHLCGHLKQCHGQEDGGQAPVVASPCCGCCCGDRSSPTTPLRAPDPSLGGVPLEASLCPASLAPS
GISEKSKSSL SFHPAPGSAQSSSQTPQIVNFVSVGPTCMRVS

SEQ ID NO: 41 CD23 человека

10 MEEGQYSEIEELPRRRCCRRGTQIVLLGLVTAALWAGLLTLLLLWHWDTTQSLKQLEERAARNVS
QVSKNLESHHGDMQMAQKSQSTQISQELEELRAEQRLKSQDLELSWNLNGLQADLSSFKSQELNE
RNEASDLLERLREEVTKLRMELQVSSGFVCNTCPEKWINFQRKCYFYGKGTKQWVHARYACDDM
EGQLVSIHSPPEQDFLTKHASHTGSWIGLRNLDLKGFIWVDGSHVDYSNWAPGEPTSRSQGEDCV
MMRGSGRWNDAFCDRKLGAWVCDRLATCTPPASEGSAESMGPDSRPDPDGRLLPTPSAPLHS

15

8660 IgG4P 124C/378C

SEQ ID NO: 42 HCDR1 (North) для 8660 IgG4P 124C/378C

AASGFTFSHSSMN

20 **SEQ ID NO: 2 HCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**

YISRATGAVY

25 **SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA**

AREPVFDY

30 **SEQ ID NO: 22 LCDR1 (North) для 5F3 IgG4PAA и 8660 IgG4P 124C/378C**

RASQGISNYLA

**SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA**

35

YAASSLQS

SEQ ID NO: 6 LCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

5

SEQ ID NO: 44 VH для 8660 IgG4P 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSS

10 **SEQ ID NO: 45 VL для 8660 IgG4P 124C/378C**

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 46 HC для 8660 IgG4P 124C/378C

15 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV
KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSSASTKGPCVFPLAPC
SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKY
TCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSII
20 EKTIKAKAGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICEVEWESNGQPENNYKTTTPVVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSTLG

SEQ ID NO: 47 LC для 8660 IgG4P 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
25 GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 48 HC ДНК для 8660 IgG4P 124C/378C

30 CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGCAGCCTCTGGATTCACCTCAGTCATTCTAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG
AAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTGCTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCT
GTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAAC
AGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTGACTACTGG
35 GGCCAGGGAACCTGGTACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCCTA
GCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC
TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC
CCGGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCA

GCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC
AAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCCTGGGG
GGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTG
AGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTAC
5 GTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCAC
GTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAA
GTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG
GCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACC
AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCTGCGTGGAGTGGGAAA
10 GCAATGGGCAGCCGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCT
TCTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCAT
GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGG
GT

15 **SEQ ID NO: 49 LC ДНК для 8660 IgG4P 124C/378C**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGTGCGGGCAGTCAAGGCATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTTAGCAGAAACCAGGGAAA
GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGC
GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCTACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
20 ACTTATTACTGTCTACAGTGGTCCAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGT
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
25 CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA
CAGGGGAGAGTGC

5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C

30 **SEQ ID NO: 1 HCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

VASGFTFSHSMN

35 **SEQ ID NO: 2 HCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P
GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C**

YISRATGAVY

SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

5

SEQ ID NO: 4 LCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

10

SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

15

SEQ ID NO: 6 LCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

20

SEQ ID NO: 7 VH для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV

25

KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 8 VL для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

30

SEQ ID NO: 50 HC для 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV

35

KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGTLLTVSSASTKGPCVFPLAPC
SRSTSGSTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKITY
TCNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQ
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI

EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICEVEWESNGQPENNYKTTPPVL
DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLGLG

**SEQ ID NO: 10 LC для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C,
5 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA
124C/378C**

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL
LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLISKADYEEKHKVYACEVTHQ
10 GLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 51 HC ДНК для 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC
TGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA
15 AGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTGCTACTGGTGCCGCTCTACTACGCAGACTCTGT
AAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG
CCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTTGACTACTGGGG
CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCCTAGC
GCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGGCAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT
20 CCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG
CTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAACACACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
AGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCTGGGGG
GACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGA
25 GGTACAGTGCCTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCAAGTTCAACTGGTACG
TGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACG
TACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAG
TGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGG
CAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGAGAGGAGATGACCAAGAACCA
30 GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCTGCGTGGAGTGGGAAAG
CAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTT
CTTCCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAATGTCTTCTCATG
CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGG
T

35

**SEQ ID NO: 12 LC ДНК для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
ACTTGTCTGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTTAGCAGAAACCAGGGAAA
GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGC
GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
5 ACTTATTACTGTCTACAGTGGTCCAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
CTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAAGTACAGT
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
10 CAAAGTCTACGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA
CAGGGGAGAGTGC

5559 IgG1AAA 124C/378C

SEQ ID NO: 1 HCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
15 **124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и**
5559 IgG1AAA 124C/378C

VASGFTFSHSSMN

SEQ ID NO: 2 HCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
20 **124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P**
GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

YISRATGAVY

SEQ ID NO: 3 HCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
25 **124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P**
GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

AREPVFDY

SEQ ID NO: 4 LCDR1 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
30 **124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и**
5559 IgG1AAA 124C/378C

RASQDISNYLA

SEQ ID NO: 5 LCDR2 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
35 **124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P**
GNKRQ 124C/378C, 5559 IgG1AAA 124C/378C и 5F3 IgG4PAA

YAASSLQS

SEQ ID NO: 6 LCDR3 (North) для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 8660 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

LQWSSYPRT

5

SEQ ID NO: 7 VH для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV

10

KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO: 8 VL для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

15

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 52 HC для 5559 IgG1AAA 124C/378C

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSHSSMNWVRQAPGKGLEWVSYISRATGAVYYADSV

20

KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAREPVFDYWGQGLVTVSSASTKGPCVFPLAPS
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT

YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA

LAAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDICEVEWESNGQPENNYKTT

25

PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 10 LC для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P 124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и 5559 IgG1AAA 124C/378C

30

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWFQKPGKVPTRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS
GTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL

LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLTKADYEEKHKVYACEVTHQ

GLSSPVTKSFNRGEC

35

SEQ ID NO: 53 HC ДНК для 5559 IgG1AAA 124C/378C

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCC

TGTGTCGCCTCTGGATTCACCTTCAGTCATTCTAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA

AGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTCGTGCTACTGGTGCCGTCTACTACGCAGACTCTGT

AAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAG
CCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTACTGTGCGAGAGAGCCGGTTTTTACTACTGGGG
CCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCCCTGGC
ACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTT
5 CCCCGAACCGGTGACGGTGTGCGTGGAACTCAGGCGCACTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC
GGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCCTGCCCTCCAGCAG
CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAG
CCGCCGGGGGACCGTCAGTCTTCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCC
10 GGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC
AACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTA
CAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAAGACTGGCTGAATGGCAA
GGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCGCCGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA
AGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGA
15 CCAAGAACCAAGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCTGCGTGG
AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCC
GACGGCTCCTTCTTCTTCTATTCCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC
GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCC
CTGTCTCCGGGCAA

20

**SEQ ID NO: 12 LC ДНК для 5559 IgG1A, 5559 IgG1A 124C/378C, 5559 IgG4P, 5559 IgG4P
124C/378C, 5559 IgG4P KRQ, 5559 IgG4P KRQ 124C/378C, 5559 IgG4P GNKRQ 124C/378C и
5559 IgG1AAA 124C/378C**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTGCCATGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATC
25 ACTTGTCGGGCGAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTTAGCAGAAACCAGGGAAA
GTCCCTACGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGC
GGCAGTGGATCTGGGACAGAATTC ACTCTCACAATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCA
ACTTATTA CTGTCTACAGTGGTCCAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAA
ATCAAACGGACCGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAAT
30 CTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAAGTACAGT
GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGC
AAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACA
CAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA
CAGGGGAGAGTGC

35

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с эпитопом IL-4R α человека, причем эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из:
- 5
- i. D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L42, L43, E45, H47, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15);
 - 10 ii. D12, M14, S15, I16, Y37, L39, F41, L43, E45, H47, T48, C49, I50, H62, L64, M65, D66, D67, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15); или
 - 15 iii. D12, M14, S15, I16, L39, F41, L42, T48, C49, I50, E52, H62, L64, M65, D66, D67, V68, V69, D72, R99, P121, P123, P124, D125, P192 (положения аминокислотных остатков соответствуют SEQ ID NO: 15).
2. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, причем эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из D12, M14, S15, I16, Y37, L39, T48, C49, I50, E52, H62, M65, R99, P121, P123, P124, D125, P192.
- 20
3. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1–2, причем эпитоп содержит один или более аминокислотных остатков, выбранных из R99, P121, P123, P124, D125, P192.
4. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, причем эпитоп содержит по
- 25
- меньшей мере один или более аминокислотных остатков, выбранных из D66, D67 и D125.
5. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, причем эпитоп содержит по меньшей мере один из аминокислотных остатков, выбранных из D66 и D67.
- 30
6. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, причем эпитоп содержит по меньшей мере один из аминокислотных остатков, выбранных из D66 и D125.
7. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, причем эпитоп содержит аминокислотный остаток D66.
- 35
8. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1–7, причем антитело ингибирует связывание IL-4 человека с IL-4R α человека.

9. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1–8, причем антитело ингибирует связывание IL-13 человека с IL-4R α человека.
10. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связывают IL-4R α человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом VH содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а VL содержит определяющие комплементарность области легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3, при этом:
- 10 HCDR1 содержит SEQ ID NO: 1;
HCDR2 содержит SEQ ID NO: 2;
HCDR3 содержит SEQ ID NO: 3;
LCDR1 содержит SEQ ID NO: 4;
LCDR2 содержит SEQ ID NO: 5; и
15 LCDR3 содержит SEQ ID NO: 6.
11. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 10, в котором VH содержит SEQ ID NO: 7, а VL содержит SEQ ID NO: 8.
12. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связывают IL-4R α человека, причем антитело содержит переменную область тяжелой цепи (VH) и переменную область легкой цепи (VL), при этом VH содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а VL содержит определяющие комплементарность области легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3, при этом:
- 25 HCDR1 содержит SEQ ID NO: 42;
HCDR2 содержит SEQ ID NO: 2;
HCDR3 содержит SEQ ID NO: 3;
LCDR1 содержит SEQ ID NO: 22;
30 LCDR2 содержит SEQ ID NO: 5; и
LCDR3 содержит SEQ ID NO: 6.
13. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 12, в котором VH содержит SEQ ID NO: 44, а VL содержит SEQ ID NO: 45.
- 35 14. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 10–13, причем антитело содержит:
- i. тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 33, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 10;

- ii. тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 35, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 10;
 - iii. тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 9, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 10;
 - 5 iv. тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 13, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 10;
 - v. тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 31, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 10;
 - 10 vi. тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 37, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 10;
 - vii. тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 52, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 10;
 - viii. тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 50, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 10; или
 - 15 ix. тяжелую цепь (HC), содержащую SEQ ID NO: 46, и легкую цепь (LC), содержащую SEQ ID NO: 47.
15. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1–13, причем антитело содержит изотип IgG1 человека.
- 20 16. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 15, причем антитело содержит аланин в аминокислотном остатке 322 (нумерация ЕС).
- 25 17. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1–13, причем антитело содержит изотип IgG4 человека.
18. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 17, причем антитело содержит одно или более из следующего:
глицин в аминокислотном остатке 137 (нумерация ЕС);
30 аспарагин в аминокислотном остатке 203 (нумерация ЕС);
лизин в аминокислотном остатке 274 (нумерация ЕС);
аргинин в аминокислотном остатке 355 (нумерация ЕС); или
глутамин в аминокислотном остатке 419 (нумерация ЕС);
- 35 19. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 17, причем антитело содержит:
лизин в аминокислотном остатке 274 (нумерация ЕС), аргинин в аминокислотном остатке 355 и глутамин в аминокислотном остатке 419 (нумерация ЕС).

20. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 17, причем антитело содержит:
5 глицин в аминокислотном остатке 137 (нумерация ЕС), аспарагин в аминокислотном остатке 203 (нумерация ЕС), лизин в аминокислотном остатке 274 (нумерация ЕС), аргинин в аминокислотном остатке 355 и глутамин в аминокислотном остатке 419 (нумерация ЕС).
21. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое специфически связывает IL-4R α человека, причем антитело содержит вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), при этом VH содержит определяющие комплементарность области тяжелой цепи HCDR1, HCDR2 и HCDR3, а VL содержит определяющие комплементарность области легкой цепи LCDR1, LCDR2 и LCDR3, при этом:
10 HCDR1 содержит SEQ ID NO: 19;
HCDR2 содержит SEQ ID NO: 20;
15 HCDR3 содержит SEQ ID NO: 3;
LCDR1 содержит SEQ ID NO: 22;
LCDR2 содержит SEQ ID NO: 5; и
LCDR3 содержит SEQ ID NO: 24.
22. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по п. 21, в котором VH содержит SEQ ID NO: 25, а VL содержит SEQ ID NO: 26.
20
23. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из п. 21 или 22, причем антитело содержит HC, содержащую SEQ ID NO: 27, и LC, содержащую SEQ ID NO: 28.
25
24. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 14–20 или 23, причем антитело содержит:
цистеин в аминокислотном остатке 124 (нумерация ЕС);
цистеин в аминокислотном остатке 378 (нумерация ЕС); или
30 цистеин в аминокислотном остатке 124 (нумерация ЕС) и цистеин в аминокислотном остатке 378 (нумерация ЕС).
25. Нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, кодирующую SEQ ID NO: 9, 10, 13, 27, 28, 31, 33, 35, 37, 46, 47, 50 или 52.
35
26. Вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по п. 25.

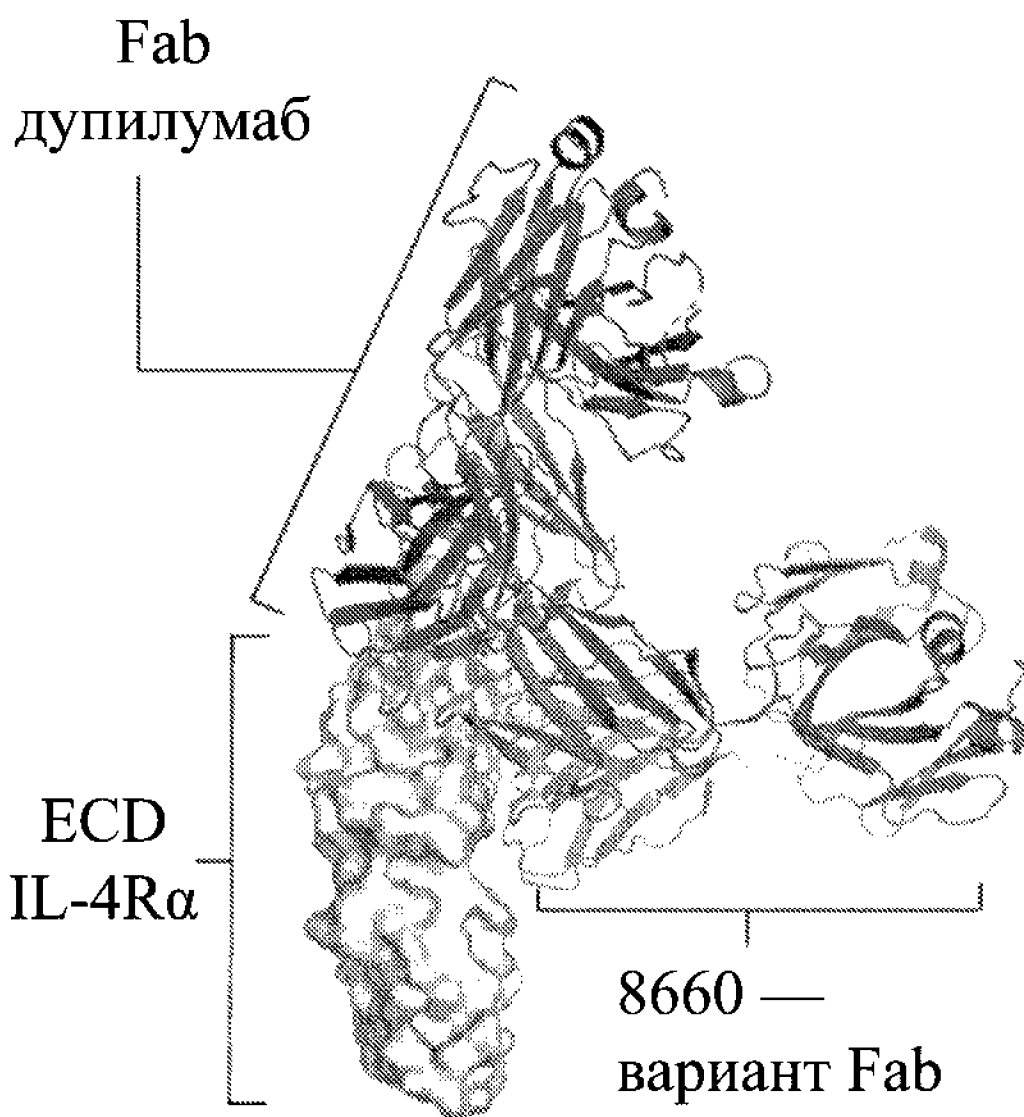
27. Вектор по п. 26, содержащий первую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 9, 13, 31, 33, 35, 37, 46, 50 или 52, и вторую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 10 или 47.
- 5 28. Вектор по п. 26, содержащий первую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 27, и вторую последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 28.
- 10 29. Композиция, содержащая первый вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 9, 13, 31, 33, 35, 37, 46, 50 или 52, и второй вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 10 или 47.
- 15 30. Композиция, содержащая первый вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 27, и второй вектор, содержащий последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую SEQ ID NO: 28.
31. Клетка, содержащая вектор по любому из п. 26 или 28.
- 20 32. Клетка по п. 31, представляющая собой клетку млекопитающего.
33. Способ получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включающий культивирование клетки по любому из пп. 31–32 в таких условиях, что происходит экспрессия антитела и выделение экспрессируемого антитела из культуральной среды.
- 25 34. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, полученное способом по п. 33.
35. Конъюгат антитело-лекарственное средство, содержащий антитело по любому из пп. 1–24 или 34.
- 30 36. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, по любому из пп. 1–24 или 34 и фармацевтически приемлемый эксципиент, разбавитель или носитель.
- 35 37. Способ лечения IL-4R-ассоциированного расстройства у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп. 1–24 или 34 или фармацевтической композиции по п. 36.

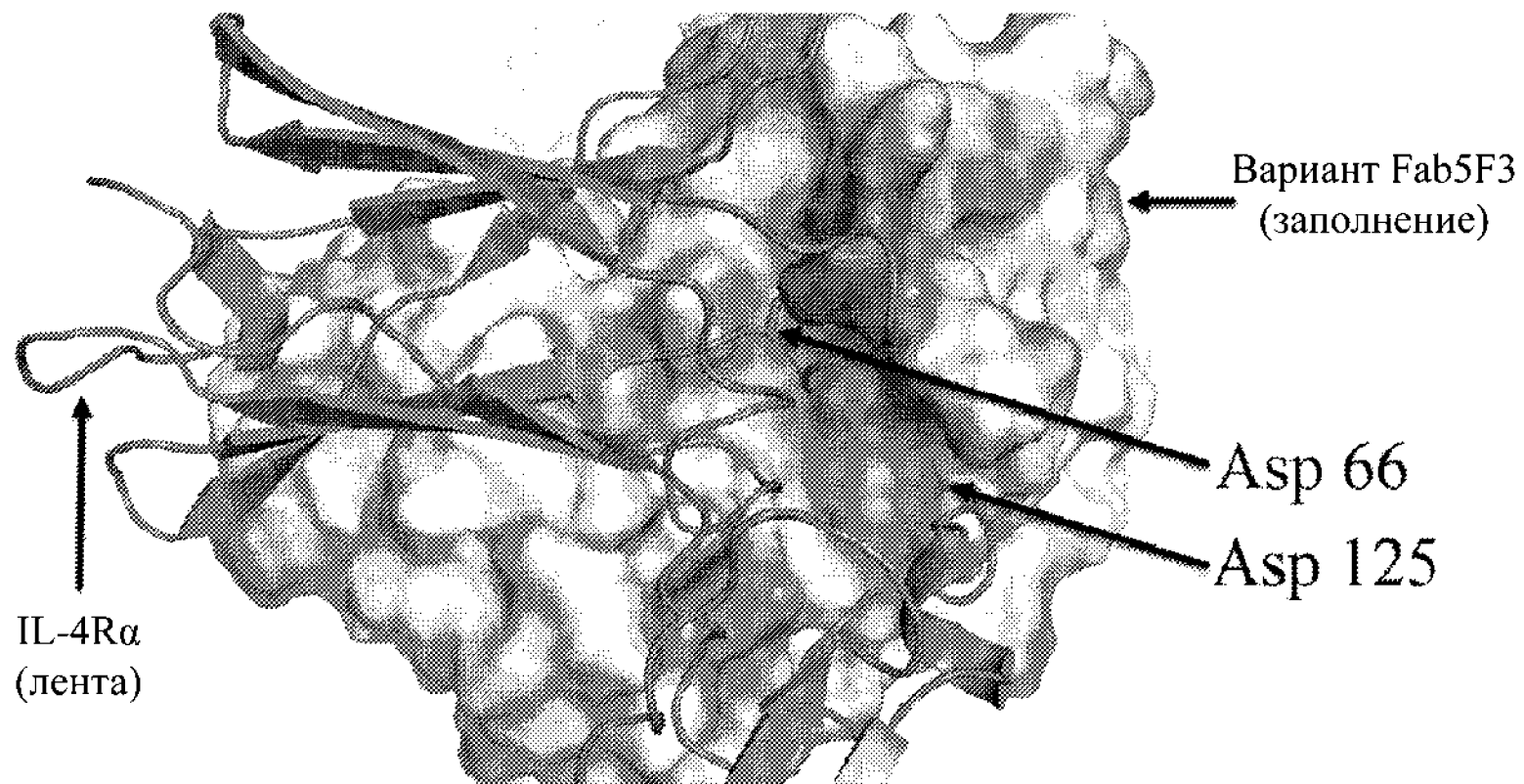
38. Способ по п. 37, в котором IL-4R-ассоциированное расстройство представляет собой иммунное воспалительное расстройство.
- 5 39. Способ по п. 38, в котором иммунное воспалительное расстройство представляет собой воспалительное расстройство 2-го типа.
- 10 40. Способ по п. 39, в котором воспалительное расстройство 2-го типа выбрано из атопического дерматита, эозинофильного эзофагита, полипоза носа, астмы, хронического риносинусита (ХРС), аллергического заболевания, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) или хронической спонтанной крапивницы (ХСК).
- 15 41. Способ по п. 37, в котором IL-4R-ассоциированное расстройство представляет собой рак.
- 20 42. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1–24 или 34 для применения в терапии.
- 25 43. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1–24 или 34 или фармацевтическая композиция по п. 36 для применения в лечении IL-4R-ассоциированного расстройства.
- 30 44. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическая композиция для применения по п. 43, причем IL-4R-ассоциированное расстройство представляет собой иммунное воспалительное расстройство.
- 35 45. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или фармацевтическая композиция для применения по п. 44, причем иммунное воспалительное расстройство представляет собой воспалительное расстройство 2-го типа.
- 40 46. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или фармацевтическая композиция для применения по п. 45, причем воспалительное расстройство 2-го типа выбрано из атопического дерматита, эозинофильного эзофагита, полипоза носа, астмы, хронического риносинусита (ХРС), аллергического заболевания, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) или хронической спонтанной крапивницы (ХСК).
- 45 47. Антитело или фармацевтическая композиция для применения по п. 43, причем IL-4R-ассоциированное расстройство представляет собой рак.

48. Применение антитела по любому из пп. 1–24 или 34 в производстве лекарственного препарата для лечения IL-4R-ассоциированного расстройства.
- 5 49. Применение по п. 48, причем IL-4R-ассоциированное расстройство представляет собой иммунное воспалительное расстройство.
50. Применение по п. 49, причем иммунное воспалительное расстройство представляет собой воспалительное расстройство 2-го типа.
- 10 51. Применение по п. 50, причем воспалительное расстройство 2-го типа выбрано из атопического дерматита, эозинофильного эзофагита, полипоза носа, астмы, хронического риносинусита (ХРС), аллергического заболевания, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) или хронической спонтанной крапивницы (ХСК).
- 15 52. Применение по п. 51, причем IL-4R-ассоциированное расстройство представляет собой рак.

ФИГУРЫ

ФИГ. 1

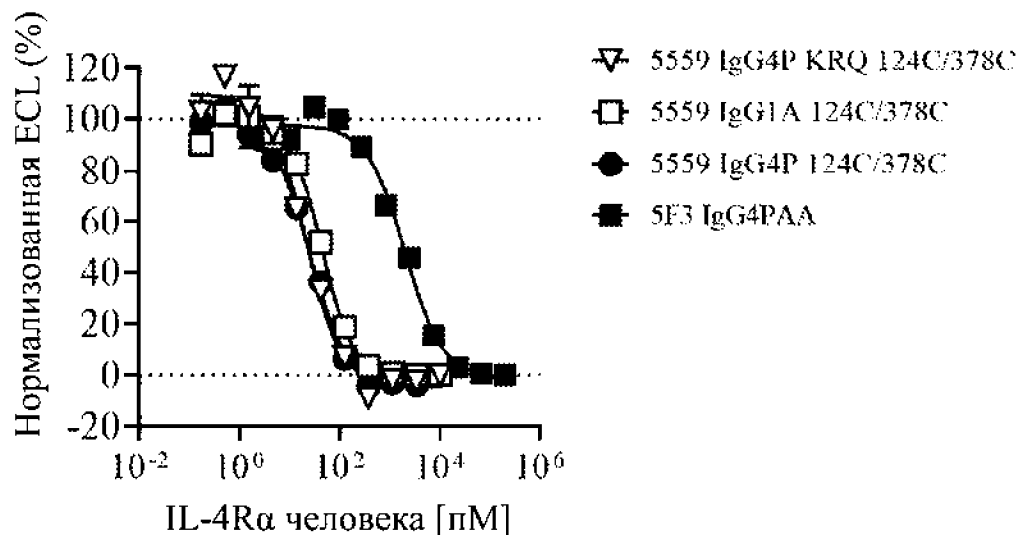




ФИГ. 2

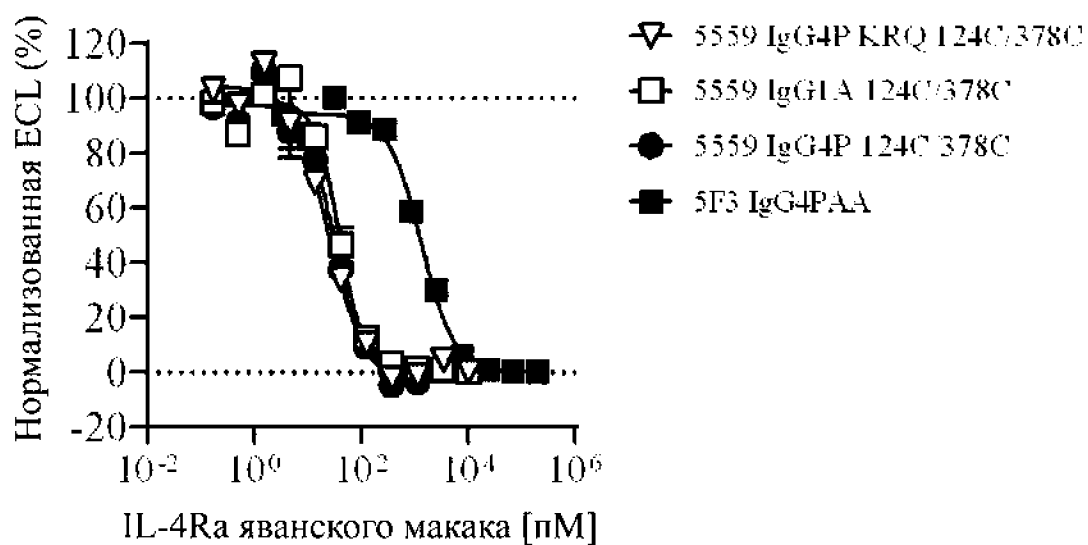
ФИГ. 3А

Аффинность связывания иллюстративных
антител к IL-4R α с IL-4R α человека



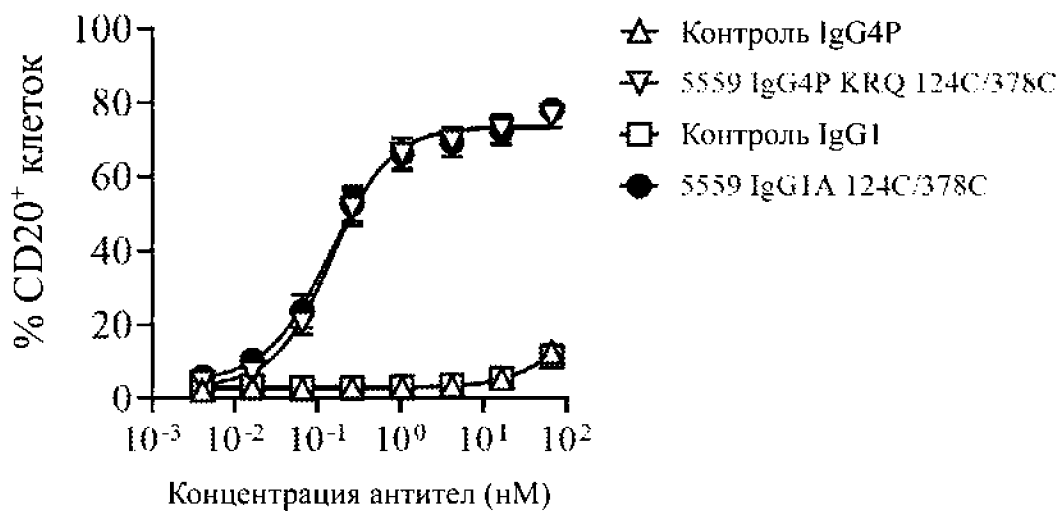
ФИГ. 3В

Аффинность связывания иллюстративных антител к
IL-4R α с IL-4R α яванского макака



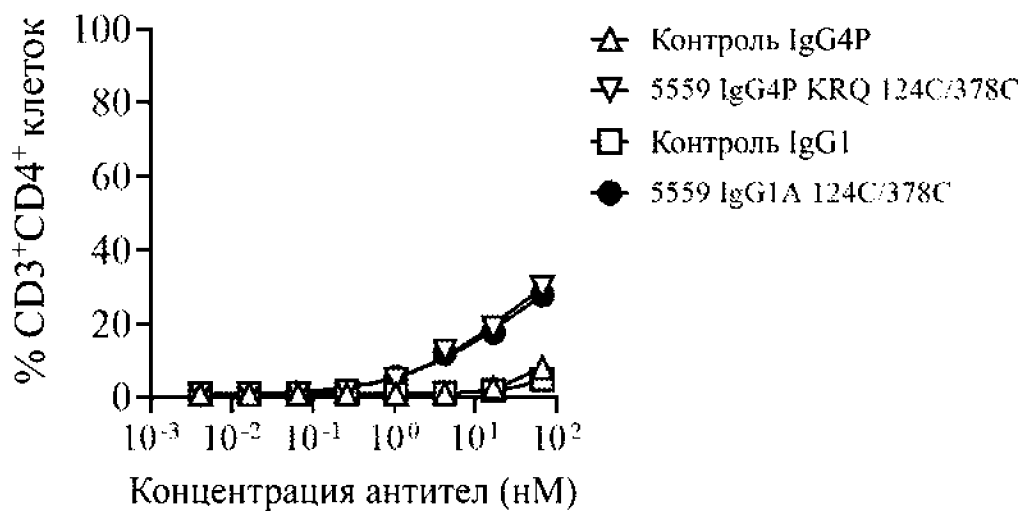
ФИГ. 4А

Связывание иллюстративных антител к
IL-4R α с В-клетками человека



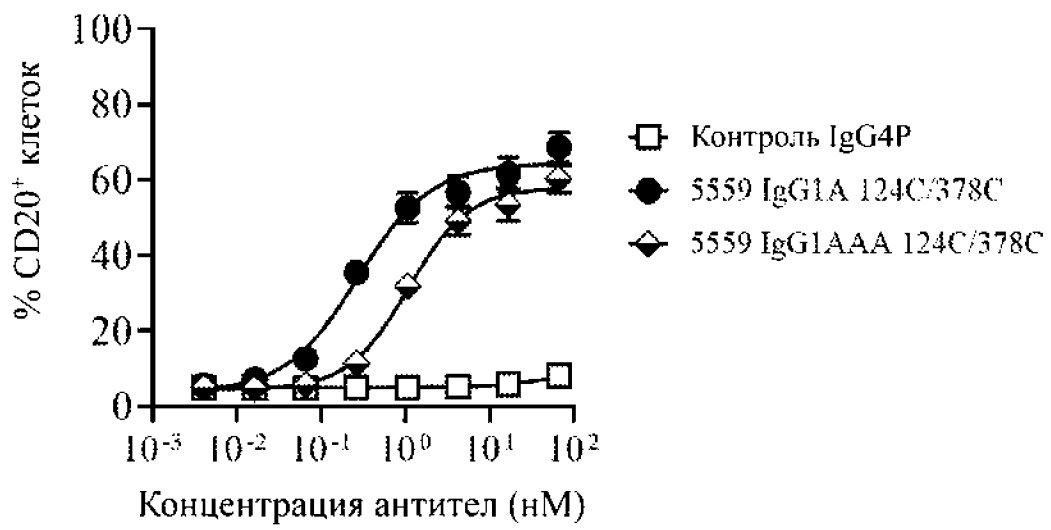
ФИГ. 4В

Связывание иллюстративных антител к
IL-4R α с Т-клетками человека



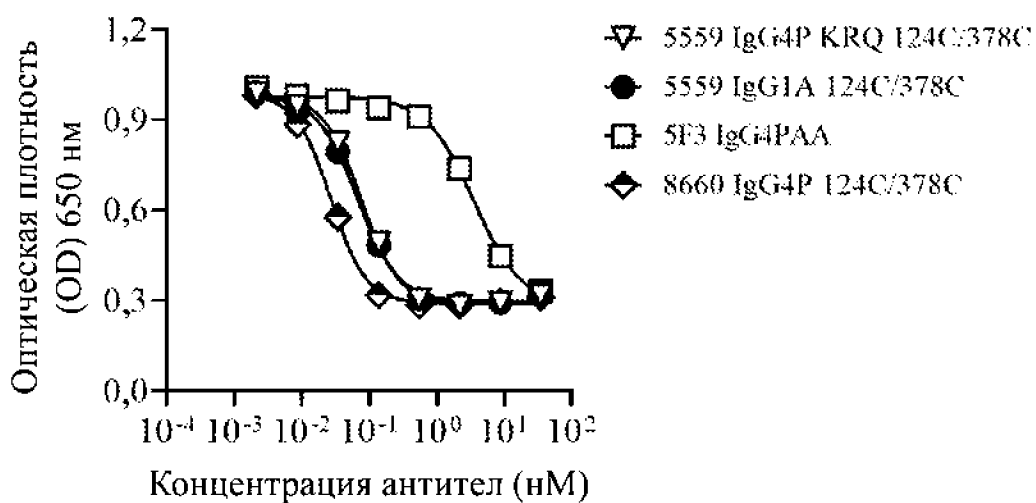
ФИГ. 4С

Связывание иллюстративных антител к
IL-4R α с В-клетками человека



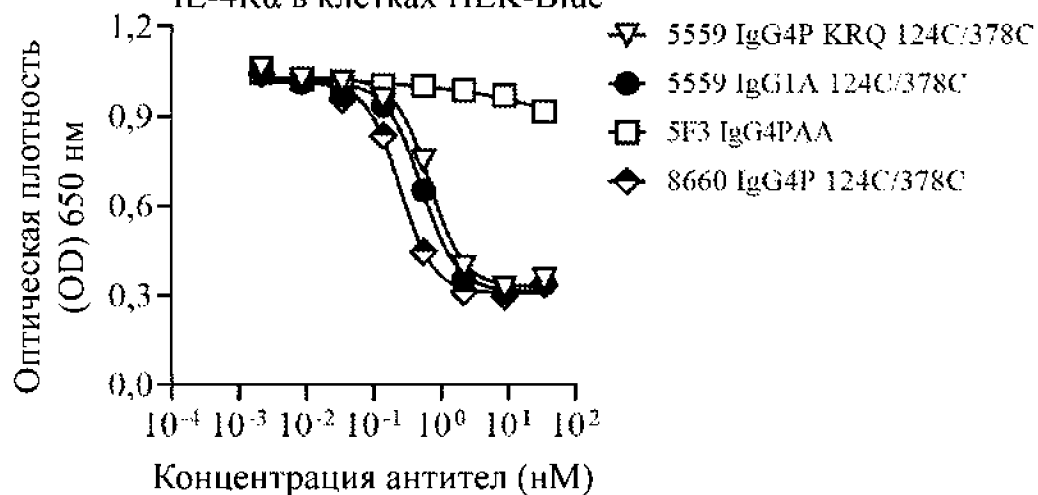
ФИГ. 5А

Активность блокирования IL-4
 посредством иллюстративных
 антител IL-4R α в клетках HEK-Blue



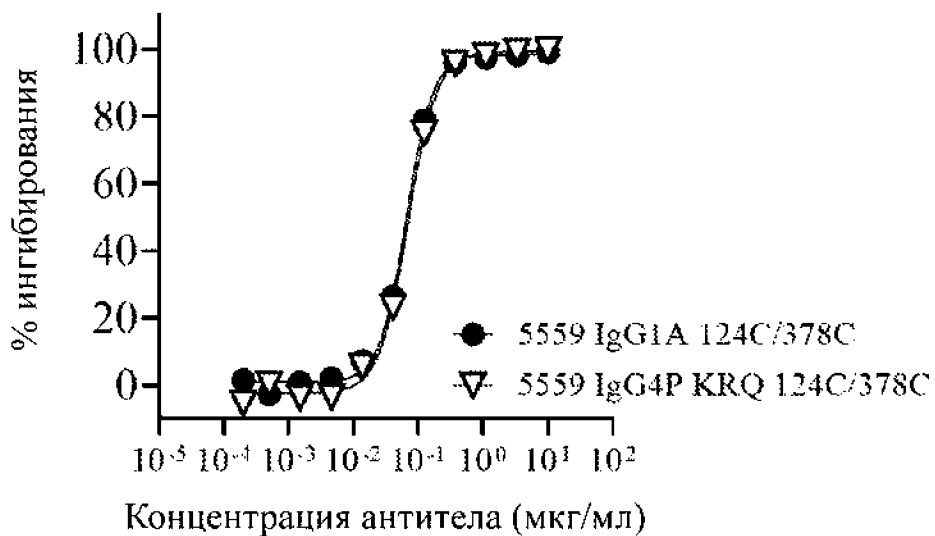
ФИГ. 5В

Активность блокирования IL-13
 посредством иллюстративных антител
 IL-4R α в клетках HEK-Blue



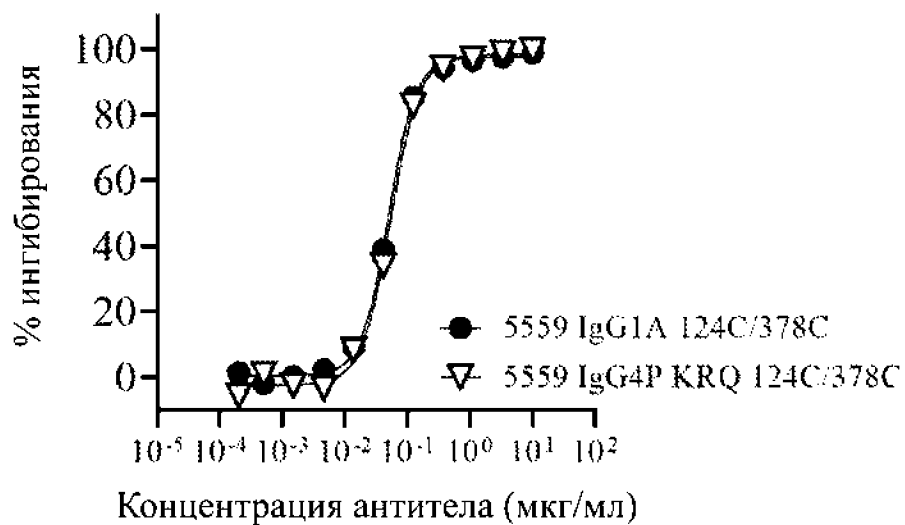
ФИГ. 6А

Ингибирование IL-4-индуцированного
фосфорилирования pSTAT6 в Т-клетках человека



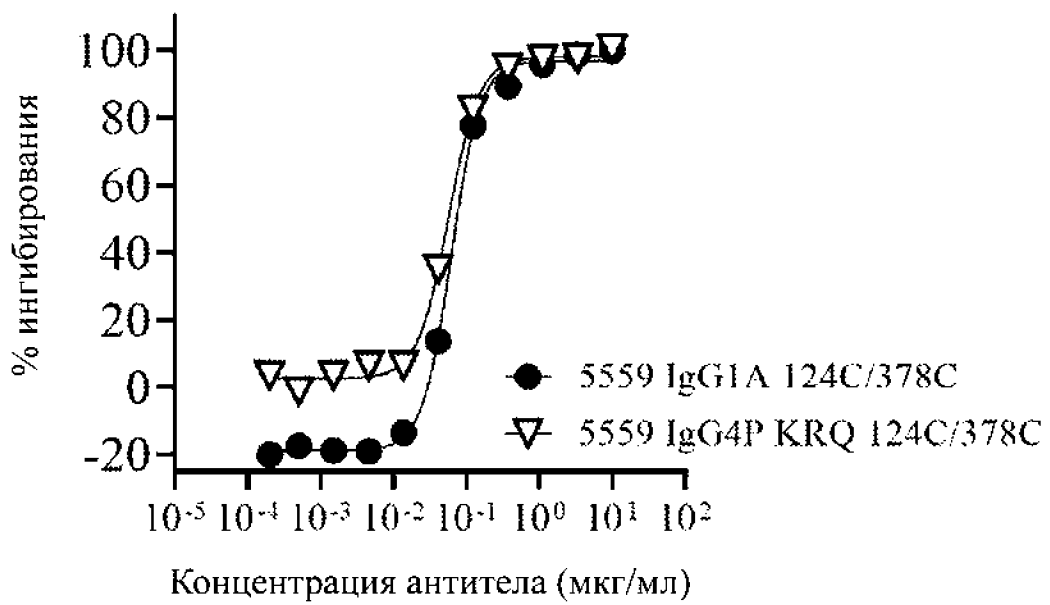
ФИГ. 6В

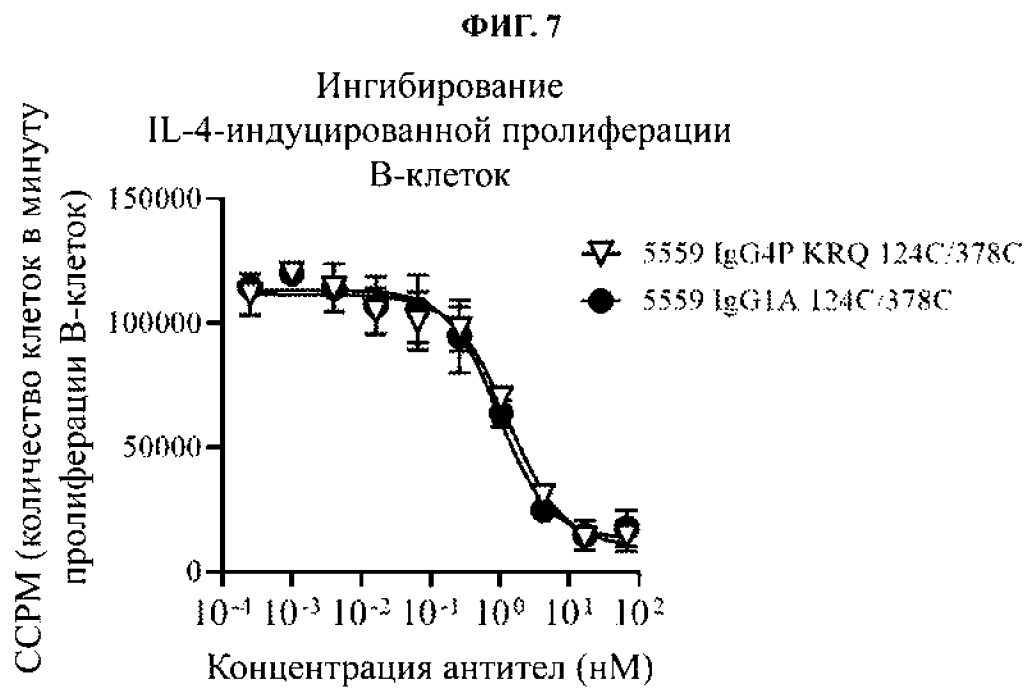
Ингибирование IL-4-индуцированного
фосфорилирования pSTAT6 в В-клетках человека

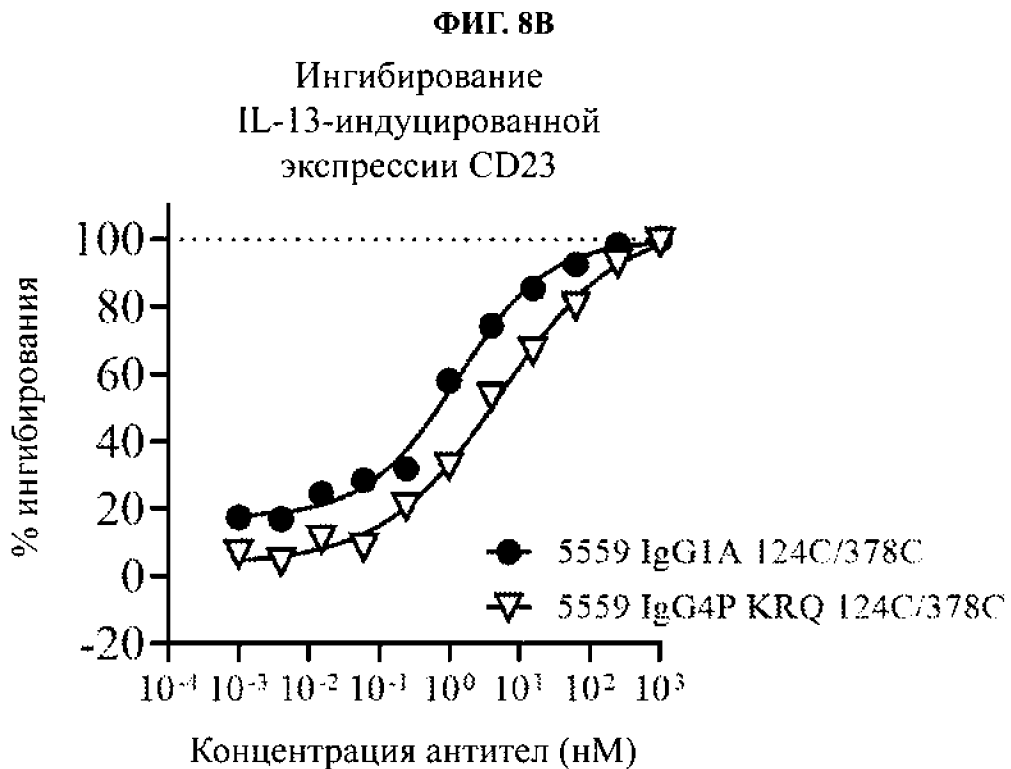
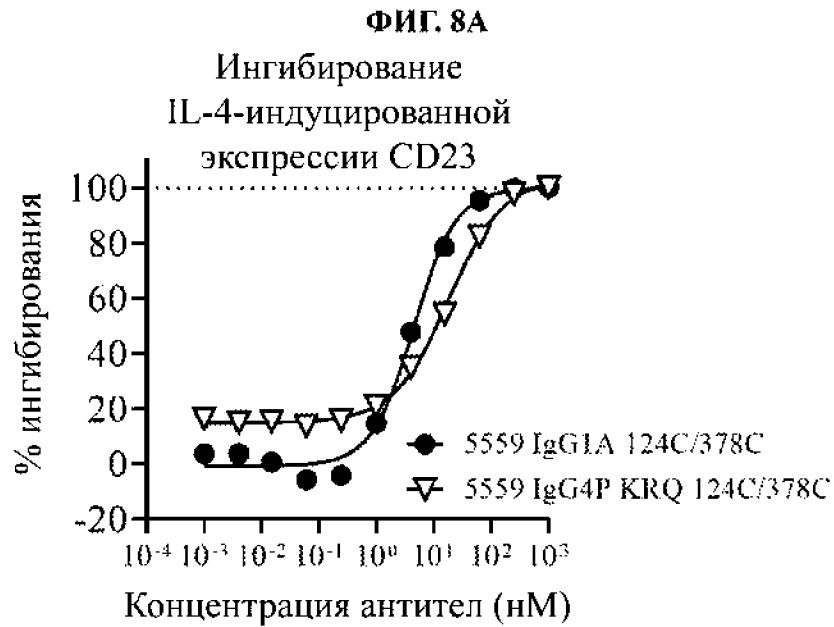


ФИГ. 6С

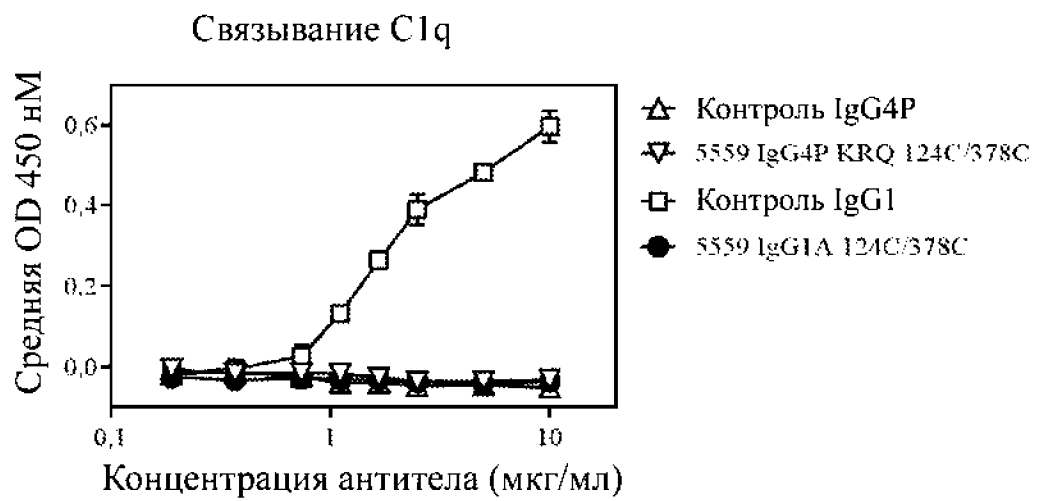
Ингибирование IL-13-индуцированного
фосфорилирования pSTAT6 в В-клетках человека





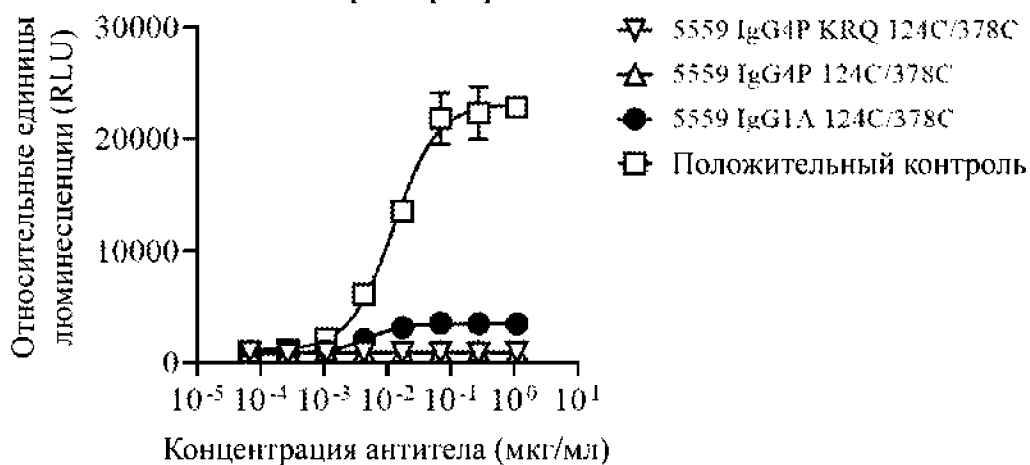


ФИГ. 9



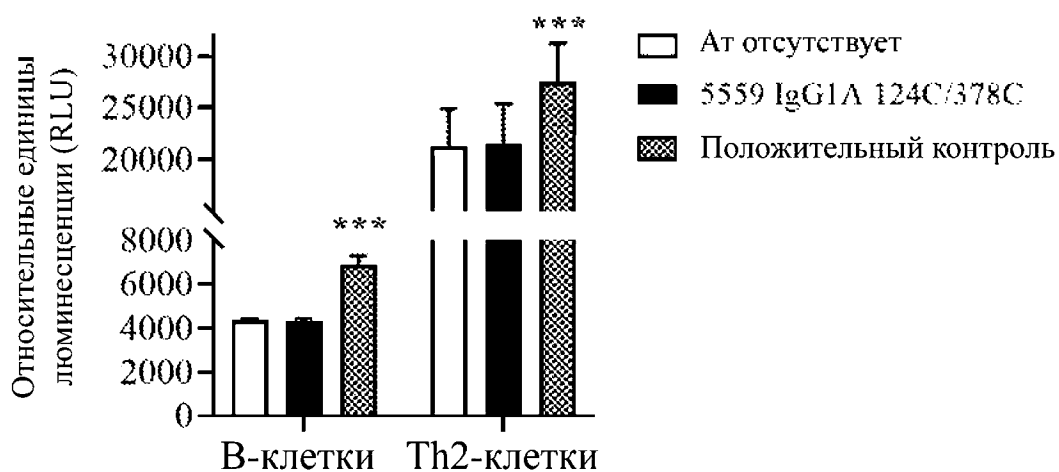
ФИГ. 10А

Анализ ADCC на основе
гена-репортера

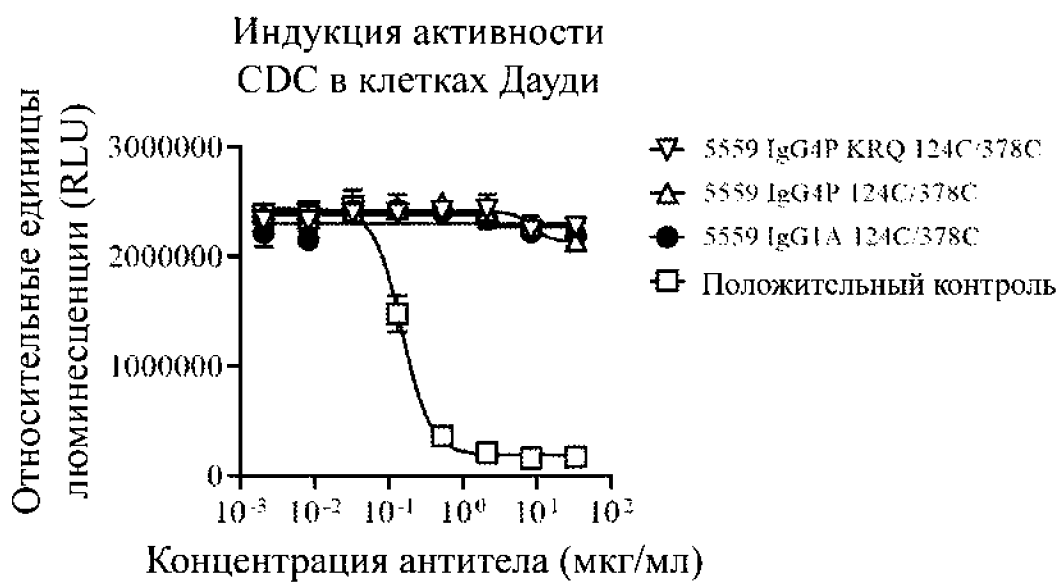


ФИГ. 10В

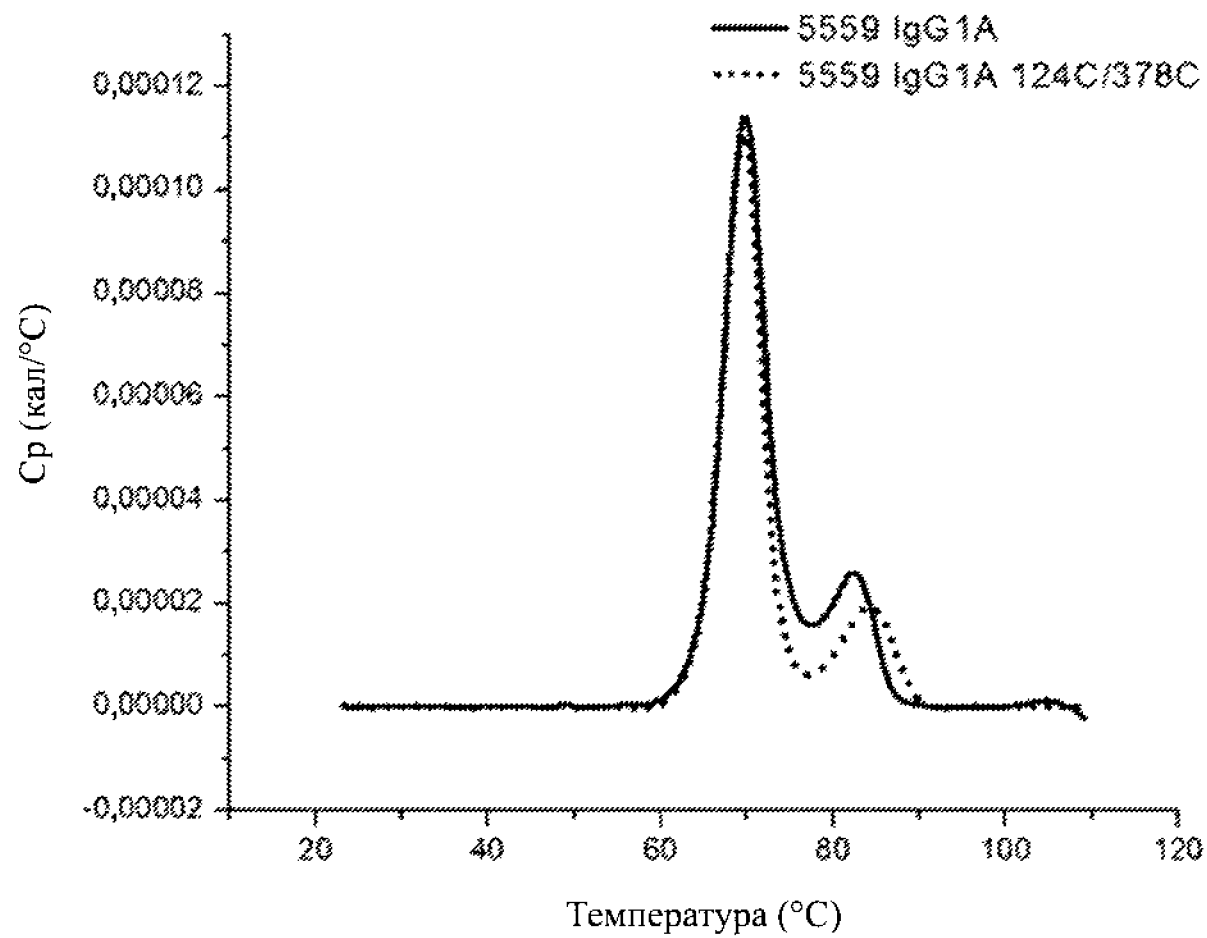
Анализ ADCC на основе первичных
NK- и Th2-клеток человека



ФИГ. 11

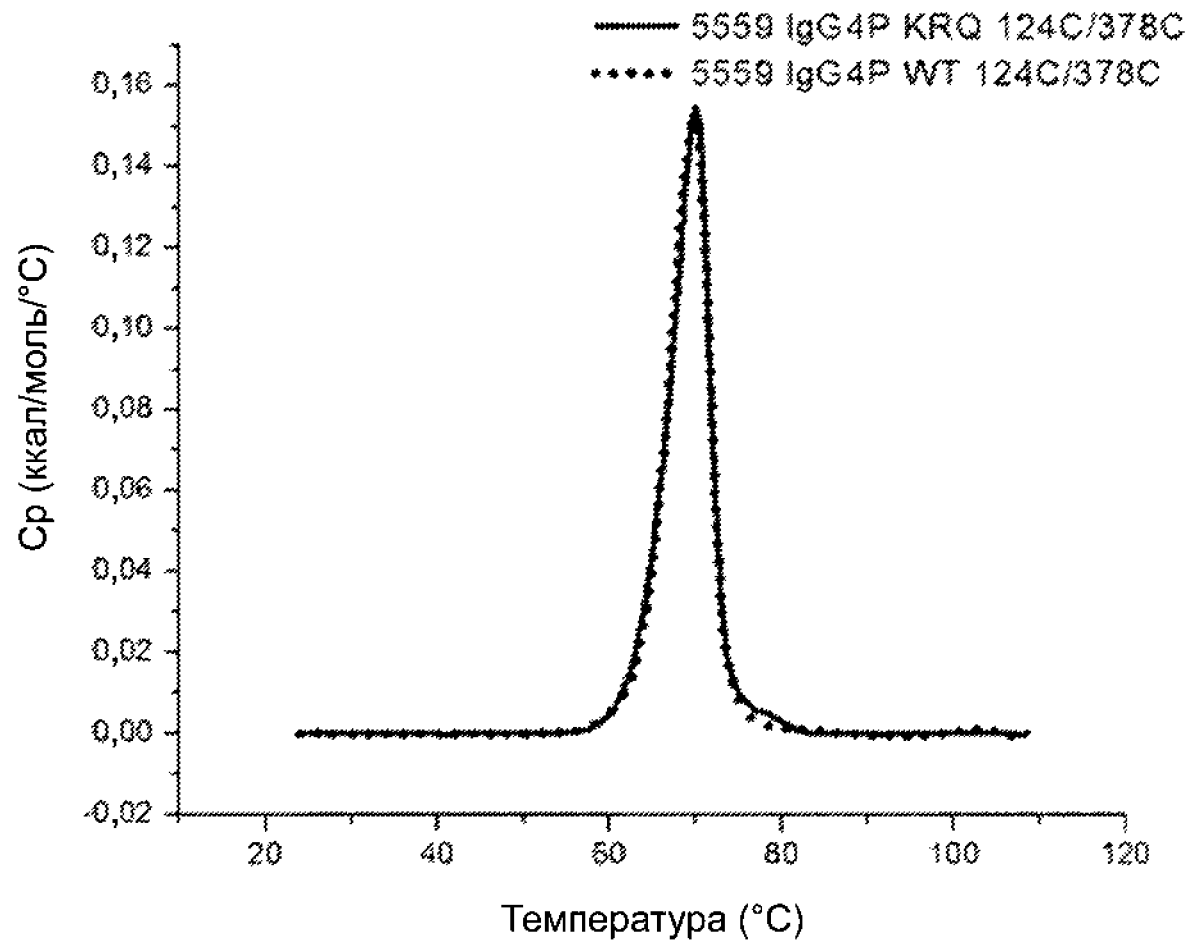


Термограмма ДСК иллюстративных антител к IL-4R α

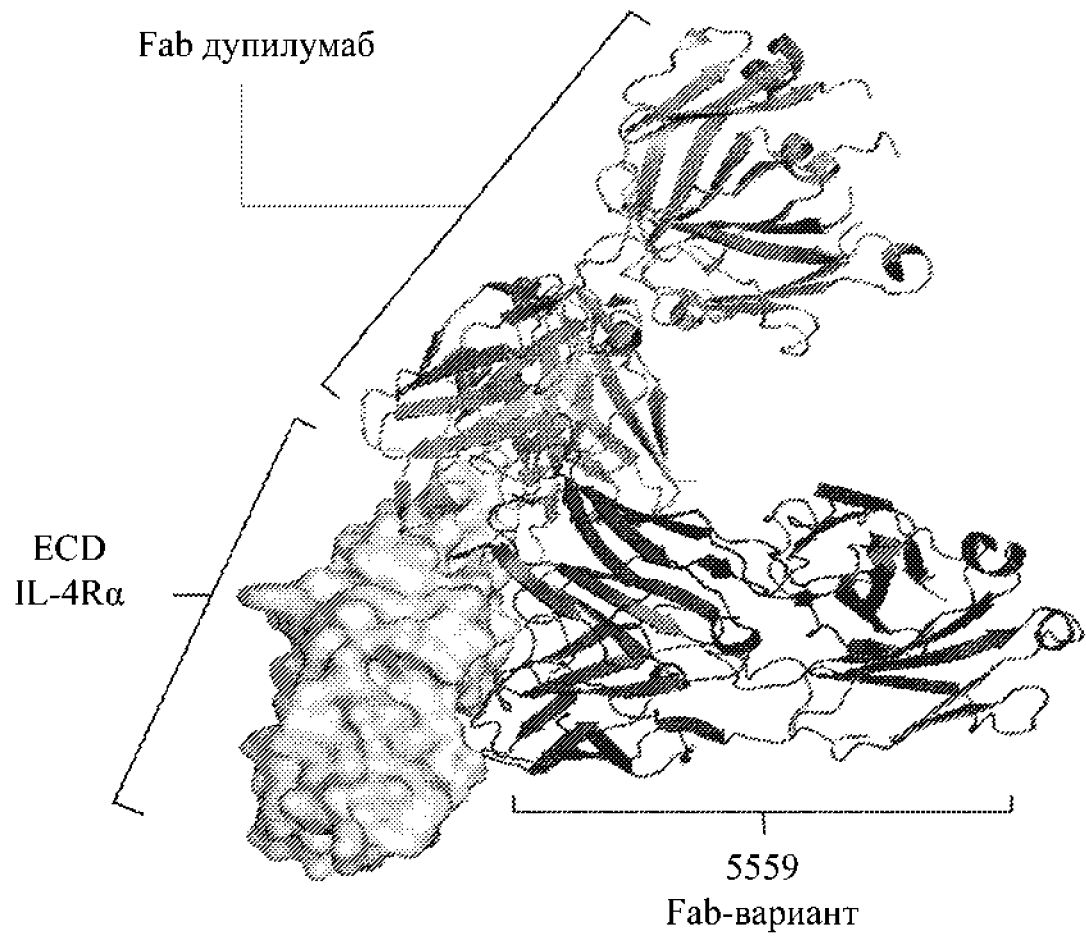


ФИГ. 12А

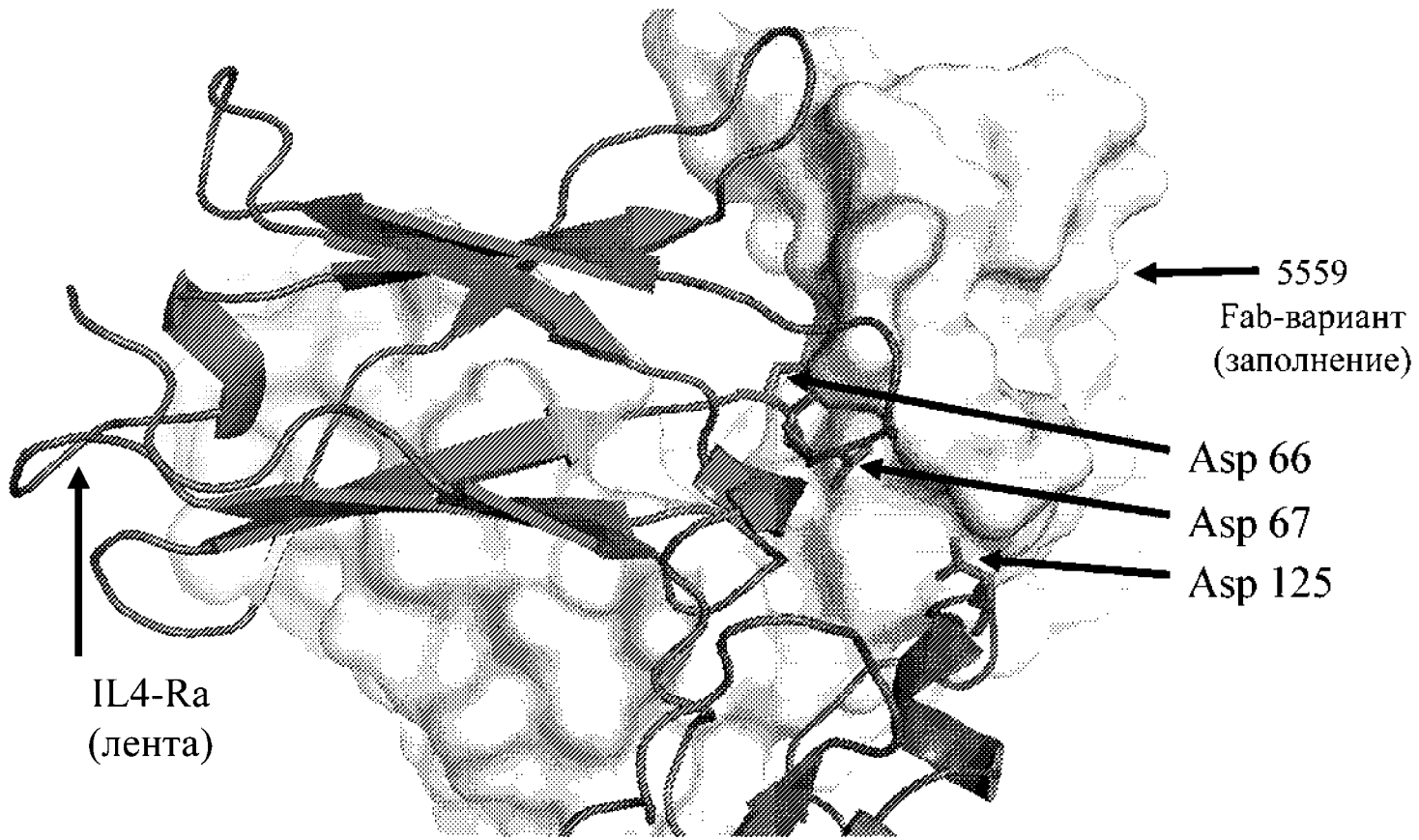
Термограмма ДСК иллюстративных антител к IL-4R α



ФИГ. 12В



ФИГ. 13



ФИГ. 14