

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201991492** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2020.04.23

(51) Int. Cl. *C07K 16/24* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2017.12.18

(54) **АНТИТЕЛА К LIF И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) 16382617.5; 62/467,017; 17382683.5

(32) 2016.12.19; 2017.03.03; 2017.10.13

(33) EP; US; EP

(86) PCT/IB2017/001677

(87) WO 2018/115960 2018.06.28

(71) Заявитель:
МОЗАИК БИОМЕДИКАЛС,
С.ЛЮ.; ФУНДАСИО ПРИВАДА
ИНСТИТУСИО КАТАЛАНА
ДЕ РЕСЕРКА И ЭСТУДИС
АВАНКАТС; ФУНДАСИО ПРИВАДА
ИНСТИТУТ Д'ИНВЕСТИГАСИО
ОНКОЛЬОХИКА ДЕ ВАЛЬ ЭБРОН
(ES)

(72) Изобретатель:

Сеоане Суарез Джон, Анидо
Фолгуэйра Джудит (ES), Франссон
Йохан, Жулиен Жан-Филиппе, Раман
Швета (CA)

(74) Представитель:

Строкова О.В., Глухарёва А.О., Лыу
Т.Н., Угрюмов В.М., Гизатуллина
Е.М., Христофоров А.А., Гизатуллин
Ш.Ф., Костюшенкова М.Ю., Лебедев
В.В., Парамонова К.В. (RU)

(57) В настоящем документе описаны антитела, нацеленные на лейкоз-ингибирующий фактор (LIF). Также в настоящем документе описаны применения таких антител для лечения рака.

201991492
A1

201991492
A1

АНТИТЕЛА К LIF И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ОПИСАНИЕ

Перекрестные ссылки на родственные заявки

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно заявке на европейский патент № EP16382617.5, поданной 19 декабря 2016 года, предварительной заявке на патент Соединенных Штатов № 62/467017, поданной 3 марта 2017 года, и заявке на европейский патент № EP17382683.5, поданной 13 октября 2017 года, все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки во всей их полноте.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

[0002] Лейкоз-ингибирующий фактор (LIF) представляет собой интерлейкин 6 (IL-6)-подобный цитокин, который вовлечен в осуществление ряда видов биологической активности, включая ингибирование дифференцировки клеток. LIF человека представляет собой полипептид из 202 аминокислот, который проявляет биологические эффекты посредством связывания с рецептором LIF (LIFR или CD118) на клеточной поверхности, который гетеродимеризуется с gp130. Это приводит к активации стимулирующих рост сигнальных путей, таких как сигнальный путь с участием митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) и Янус-киназы (JAK/STAT). Было продемонстрировано, что высокие уровни экспрессии и высокие уровни LIF в сыворотке крови ассоциированы с неблагоприятным прогнозом при многих типах рака.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

[0003] В настоящем документе описаны новые антитела к LIF, которые оказывают антагонистическое действие в отношении активности LIF или блокируют ее. Такие антитела являются пригодными для лечения рака. Такие антитела могут быть гуманизированы с целью разработки клинической терапии форм рака, при которых на высоких уровнях экспрессируются LIF, рецептор LIF, или которые характеризуются LIF-зависимым ростом. Одно такое антитело, описанное в настоящем документе, характеризуется неожиданным улучшением в отношении аффинности связывания и биологического эффекта после процесса гуманизации.

[0004] Согласно одному аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1),

содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33; b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35; c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37; d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39; e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 25-27 или 41; и f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43, причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является деиммунизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело предусматривает Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 4 (GFTFSNAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 11 (QIKDKSDNYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 17 (TCWEWYLDLF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную

последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLHNNNGNTYLS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 тяжелой цепи (VH-FR1), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотной последовательности каркасной области 2 тяжелой цепи (VH-FR2), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в

любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотной последовательности каркасной области 3 тяжелой цепи (VH-FR3), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 тяжелой цепи (VH-FR4), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 легкой цепи (VL-FR1), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотной последовательности каркасной области 2 легкой цепи (VL-FR2), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотной последовательности каркасной области 3 легкой цепи (VL-FR3), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 легкой цепи (VL-FR4), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57,

аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело предназначено для применения в лечении рака. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника или рак легкого. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является компонентом фармацевтической композиции, содержащей рекомбинантное антитело и фармацевтически приемлемый носитель.

Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция составлена для внутривенного введения. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция составлена для интрацеребрального введения. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция предназначена для применения в лечении рака. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

[0005] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: а) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74; и б) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78. Согласно определенным вариантам осуществления последовательность VH по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

[0006] Согласно другому аспекту в настоящем документе описан способ лечения индивидуума с раком, предусматривающий введение индивидууму рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего: а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33; б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35; в) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37; д) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39; е) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO:

25-27 или 41; и f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43, причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является деиммунизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 4 (GFTFSNAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 11 (QIKDKSDNYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 17 (TCWEWYLDLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLHNNNGNTYLS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную

последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 тяжелой цепи (VH-FR1), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотной последовательности каркасной области 2 тяжелой цепи (VH-FR2), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотной последовательности каркасной области 3 тяжелой цепи (VH-FR3), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 тяжелой цепи (VH-FR4), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 легкой цепи (VL-FR1), по меньшей мере на

аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело вводят внутривенно. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело вводят интрацеребрально.

[0007] Согласно другому аспекту в настоящем документе описан способ лечения индивидуума с раком, предусматривающий введение индивидууму рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего: а) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74; и б) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной

последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78. Согласно определенным вариантам осуществления последовательность VH по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

[0008] Согласно другому аспекту в настоящем документе описан способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую : a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33; b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35; c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37; d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39; e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 25-27 или 41; и f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43, причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является деиммунизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. Согласно

определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 4 (GFTFSNAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 11 (QIKDKSDNYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 17 (TCWEWYLDLF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAFAY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLLHNNGNTYLS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную

последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 тяжелой цепи (VH-FR1), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотной последовательности каркасной области 2 тяжелой цепи (VH-FR2), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотной последовательности каркасной области 3 тяжелой цепи (VH-FR3), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 тяжелой цепи (VH-FR4), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 легкой цепи (VL-FR1), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотной последовательности каркасной области 2 легкой цепи (VL-FR2), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотной последовательности каркасной области 3 легкой цепи (VL-FR3), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 легкой цепи (VL-FR4), по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную

90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

[0009] Согласно другому аспекту в настоящем документе описан способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего: а) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74; и б) последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78. Согласно определенным вариантам осуществления последовательность VH по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

[0010] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR) крысиного происхождения и по меньшей мере одну каркасную область (FR) иммуноглобулина человеческого происхождения, причем по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области

антитела человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является деиммунизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-3, 9, 10, 15, 16, 21, 22, 25, 26 или 29. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна каркасная область иммуноглобулина человеческого происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 44-70. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29.

аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность FR1 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело дополнительно предусматривает фармацевтически приемлемый носитель. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело составлено для внутривенного введения. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело составлено для интрацеребрального введения. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело предназначено для применения в лечении рака. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

[0011] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78. Согласно определенным вариантам осуществления последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

[0012] Согласно другому аспекту в настоящем документе описан способ лечения субъекта с раком, предусматривающий введение индивидууму рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), где рекомбинантное антитело, которое специфически связывает (LIF), содержит по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR) крысиного происхождения и по меньшей мере одну каркасную область (FR) иммуноглобулина человеческого происхождения, где по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является деиммунизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-3, 9, 10, 15, 16, 21, 22, 25, 26 или 29. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1, 7, 11, 15, 17 и 19. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна каркасная область иммуноглобулина человеческого происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 44-70. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в

SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность FR1 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность FR2 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность FR3 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность FR1 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или

приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность FR1 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность FR2 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность FR3 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность FR1 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело вводят внутривенно. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело вводят интрацеребрально. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

[0013] Согласно другому аспекту в настоящем документе описан способ лечения субъекта с раком, предусматривающий введение индивидууму рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), причем

рекомбинантное антитело, которое специфически связывает (LIF), содержит последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78. Согласно определенным вариантам осуществления последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

[0014] Согласно другому аспекту в настоящем документе описан способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), причем рекомбинантное антитело, которое специфически связывает (LIF), содержит по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR) крысиного происхождения и по меньшей мере одну каркасную область (FR) иммуноглобулина человеческого происхождения, причем по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является деиммунизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-3, 9, 10, 15, 16, 21, 22, 25, 26 или 29. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29. Согласно определенным вариантам осуществления по меньшей мере одна каркасная область иммуноглобулина человеческого происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 44-70. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность FR1 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность FR2 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность FR3 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или

приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтически приемлемый носитель подходит для внутривенного введения. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтически приемлемый носитель подходит для интрацеребрального введения. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

[0015] Согласно другому аспекту в настоящем документе описан способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), причем рекомбинантное антитело, которое специфически связывает (LIF), содержит последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78. Согласно определенным вариантам осуществления последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

[0016] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое связывает LIF, причем антитело содержит: аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность FR1 тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную

последовательность FR2 тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность FR3 тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50,

аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29, аминокислотную последовательность FR1 легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

[0017] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, причем антитело содержит гуманизованную переменную область тяжелой цепи, по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72, и гуманизованную переменную область легкой цепи, по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76. Согласно определенным вариантам осуществления антитело составлено с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или наполнителем с образованием фармацевтической композиции.

[0018] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее: а) CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33; б) CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35; и с) CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37, причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления антитело составлено с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или наполнителем с образованием

фармацевтической композиции.

[0019] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее: а) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39; б) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 25-27 или 41; и с) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43, причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления антитело составлено с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или наполнителем с образованием фармацевтической композиции.

[0020] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое связывает LIF, причем антитело содержит: переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15, и переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 72. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 76. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 72; и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 76. Согласно определенным вариантам осуществления антитело составлено с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или наполнителем с образованием фармацевтической композиции.

[0021] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее: а) легкую цепь, содержащую

аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 91-94; и б) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 87-90, причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 91-94; и тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 87-90. Согласно определенным вариантам осуществления легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 92; и тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 88. Согласно определенным вариантам осуществления антитело составлено с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или наполнителем с образованием фармацевтической композиции.

[0022] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое связывает LIF, причем антитело содержит: CDR1 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 1, CDR2 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 9, CDR3 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 15, CDR1 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 21, CDR2 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 25, и CDR3 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления антитело составлено с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или наполнителем с образованием фармацевтической композиции.

[0023] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое связывает LIF, причем антитело содержит: CDR1 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 1, CDR2 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 9, CDR3 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по

сравнению с SEQ ID NO: 15, CDR1 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 21, CDR2 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 25, и CDR3 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления антитело составлено с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или наполнителем с образованием фармацевтической композиции.

[0024] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое связывает LIF и конкурирует с антителом, определяемым: CDR1 тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1, CDR2 тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9, CDR3 тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15, CDR1 легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21, CDR2 легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25, и CDR3 легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29. Согласно определенным вариантам осуществления антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления антитело составлено с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или наполнителем с образованием фармацевтической композиции.

[0025] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано выделенное моноклональное антитело, где, при связывании с LIF человека, моноклональное антитело связывается по меньшей мере с одним из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с A13. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с I14. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с R15. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с H16. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с P17. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с C18.

Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с H19. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с N20. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с Q25. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с Q29. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с Q32. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с D120. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с R123. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с S127. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с N128. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с L130. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с C131. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с C134. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с S135. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с H138. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается с двумя отличающимися альфа-спиралями LIF человека, причем две отличающиеся альфа-спирали разделены множеством аминокислот. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитело блокирует биологическую активность LIF человека в модели на культуре клеток. Согласно определенным вариантам осуществления биологическая активность представляет собой LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3. Согласно определенным вариантам осуществления антитело является химерным, гуманизированным или антителом человека. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция содержит выделенное моноклональное антитело и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или наполнитель. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция составлена для внутривенной инъекции. Согласно определенным вариантам осуществления выделенное моноклональное антитело или фармацевтическая композиция предназначены для применения в способе лечения рака. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описан способ лечения индивидуума с

диагностированным раком или с подозрением на его наличие, предусматривающий введение индивидууму моноклонального антитела или фармацевтической композиции.

[0026] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано выделенное моноклональное антитело, где, при связывании с LIF человека, моноклональное антитело связывается по меньшей мере с одним из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с двумя из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с пятью из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с 10 из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается с двумя отличающимися альфа-спиралями LIF человека, причем две отличающиеся альфа-спирали разделены множеством аминокислот. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитело блокирует биологическую активность LIF человека в модели на культуре клеток. Согласно определенным вариантам осуществления биологическая активность представляет собой LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3. Согласно определенным вариантам осуществления антитело является химерным, гуманизированным или антителом человека. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция содержит выделенное моноклональное антитело и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или наполнитель. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция составлена для внутривенной инъекции. Согласно определенным вариантам осуществления выделенное моноклональное антитело или фармацевтическая композиция предназначены для применения в способе лечения рака. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описан способ лечения индивидуума с диагностированным раком или с подозрением на его

наличие, предусматривающий введение индивидууму моноклонального антитела или фармацевтической композиции.

[0027] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано выделенное моноклональное антитело, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, и причем моноклональное антитело связывается по меньшей мере с одним из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с двумя из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с пятью из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с 10 из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается с двумя отличающимися альфа-спиралями LIF человека, причем две отличающиеся альфа-спирали разделены множеством аминокислот. Согласно определенным вариантам осуществления

моноклональное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитело блокирует биологическую активность LIF человека в модели на культуре клеток. Согласно определенным вариантам осуществления биологическая активность представляет собой LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3. Согласно определенным вариантам осуществления антитело является химерным, гуманизированным или антителом человека. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция содержит выделенное моноклональное антитело и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или наполнитель. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция составлена для внутривенной инъекции. Согласно определенным вариантам осуществления выделенное моноклональное антитело или фармацевтическая композиция предназначены для применения в способе лечения рака. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описан способ лечения индивидуума с диагностированным раком или с подозрением на его наличие, предусматривающий введение индивидууму моноклонального антитела или фармацевтической композиции.

[0028] Согласно другому аспекту в настоящем документе описано выделенное моноклональное антитело, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 95 (TSWEWDLDF), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLDSDGHTYLN), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, и причем моноклональное антитело связывается по меньшей мере с одним из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с двумя из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123,

S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с пятью из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается по меньшей мере с 10 из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело связывается с двумя отличающимися альфа-спиралями LIF человека, причем две отличающиеся альфа-спирали разделены множеством аминокислот. Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитело блокирует биологическую активность LIF человека в модели на культуре клеток. Согласно определенным вариантам осуществления биологическая активность представляет собой LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3. Согласно определенным вариантам осуществления антитело является химерным, гуманизированным или антителом человека. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция содержит выделенное моноклональное антитело и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или наполнитель. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция составлена для внутривенной инъекции. Согласно определенным вариантам осуществления фармацевтическая композиция составлена для интрацеребральной инъекции. Согласно определенным вариантам осуществления выделенное моноклональное антитело или фармацевтическая композиция предназначены для применения в способе лечения рака. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описан способ лечения индивидуума с диагностированным раком или с подозрением на его наличие, предусматривающий введение индивидууму моноклонального антитела или фармацевтической композиции.

[0029] Согласно определенному аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 2; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2),

содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 10; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

[0030] Согласно определенному аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 3; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

[0031] Согласно определенному аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 3; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 10; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26; и определяющую комплементарность область 3 легкой

цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

[0032] Согласно определенному аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 3; б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 10; в) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16; д) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22; е) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26; и ф) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29, причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является деиммунизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело предусматривает Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит

аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 95 (TSWEWDLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит последовательность VH, по меньшей мере на приблизительно 80% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL, по меньшей мере на приблизительно 80% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит последовательность VH, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, при связывании с LIF, связывается по меньшей мере с одним из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело, при связывании с LIF, связывает все из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело включено в фармацевтическую композицию, содержащую рекомбинантное антитело и фармацевтически приемлемый носитель. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело или фармацевтическая композиция предназначены для применения в способе лечения рака. Согласно определенным вариантам осуществления способ лечения рака у индивидуума предусматривает введение рекомбинантного антитела или фармацевтической композиции индивидууму. Согласно

определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. Согласно определенным вариантам осуществления способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком предусматривает смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела.

[0033] Согласно определенному аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 4-7 или 33; b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 11-13 или 35; c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 17-19 или 37; d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39; e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 25-27 или 41; и f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43; причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является деиммунизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 6 (NAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в

SEQ ID NO: 12 (IKDKSDNYAT), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 18 (WEWYLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22 (QSLLDSDGHTY), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26 (SVS), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAFAY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLHNNNGNTYLS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT). Согласно определенным вариантам осуществления VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT). Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело включено в фармацевтическую композицию, содержащую рекомбинантное антитело и фармацевтически приемлемый носитель. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело или фармацевтическая композиция предназначены для применения в способе лечения рака. Согласно определенным вариантам осуществления способ лечения рака у индивидуума предусматривает введение рекомбинантного антитела или фармацевтической композиции индивидууму. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак

толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. Согласно определенным вариантам осуществления способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком предусматривает смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела.

[0034] Согласно определенному аспекту в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: а) VH-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH); б) VH-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG); в) VH-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), d) VL-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), е) VL-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES); и f) VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT); причем цистеиновый остаток SEQ ID NO: 15 представляет собой любую аминокислоту, за исключением тирозина, триптофана, гистидина, лизина или аргинина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является гуманизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело является деиммунизированным. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело включено в фармацевтическую композицию, содержащую рекомбинантное антитело и фармацевтически приемлемый носитель. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантное антитело или фармацевтическая композиция предназначены для применения в способе лечения рака. Согласно определенным вариантам осуществления способ лечения рака у индивидуума предусматривает введение

рекомбинантного антитела или фармацевтической композиции индивидууму. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластома, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает глиобластома, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. Согласно определенным вариантам осуществления способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком предусматривает смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела.

Краткое описание чертежей

[0035] На **фиг. 1** показаны результаты вестерн-блоттинга, демонстрирующие ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3 разными гуманизированными антителами к LIF.

[0036] На **фиг. 2A** и **2B** показаны результаты вестерн-блоттинга, демонстрирующие ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3 гуманизированным и исходным антителом 5D8.

[0037] На **фиг. 3A** показан IC_{50} для ингибирования LIF в клетках U-251 с применением антитела h5D8.

[0038] На **фиг. 3B** показаны репрезентативные кривые зависимости «доза-эффект» для IC_{50} ингибирования r5D8 и h5D8-1 pSTAT3 в условиях стимуляции эндогенного LIF. Показаны репрезентативные кривые (n=1 h5D8, n=2 r5D8). См. дополнение к фигуре 2, 3, 4 в отношении всех кривых зависимости «доза-эффект» для IC_{50} и контролей.

[0039] На **фиг. 4** показаны результаты вестерн-блоттинга, демонстрирующие ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3 разными моноклональными антителами, описанными в настоящем раскрытии.

[0040] На **фиг. 5** показаны результаты иммуногистохимического окрашивания и количественного определения экспрессии LIF в опухолях при мультиформной глиобластоме (GBM), NSCLC (немелкоклеточной карциноме легкого), раке яичника и раке толстой и прямой кишки от пациентов-людей. Столбики представляют собой среднее +/- SEM.

[0041] **Фиг. 6** представляет собой график, на котором показаны результаты эксперимента, проводимого на мышинной модели немелкоклеточного рака легкого с применением гуманизированного антитела 5D8.

[0042] На **фиг. 7A** показан эффект r5D8 в отношении ингибирования клеток U251 в ортотопической мышинной модели количественного определения GBM, показанный к дню

26.

[0043] На **фиг. 7В** показаны данные для мышей, которым инокулировали экспрессирующие люциферазу клетки GBM U251 человека, а затем обрабатывали 100, 200 или 300 мкг h5D8 или средой-носителем два раза в неделю. Размер опухоли определяли по биолюминесценции (Xenogen IVIS Spectrum) в день 7. На графике показаны измерения отдельных опухолей, при этом горизонтальные полосы означают среднее \pm SEM. Статистическую значимость рассчитывали с применением непараметрического U-критерия Манна-Уитни для непарных выборок.

[0044] На **фиг. 8А** показан эффект r5D8 в отношении ингибирования роста клеток рака яичника в сингенной мышинной модели.

[0045] На **фиг. 8В** показаны отдельные измерения опухолей к дню 25.

[0046] На **фиг. 8С** показано, что в случае h5D8 наблюдается значимое снижение темпов роста опухоли при введении в концентрации 200 мкг/мышь два раза в неделю ($p < 0,05$). Символы представляют собой среднее + SEM, статистическую значимость в сравнении со средой-носителем (с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни для непарных выборок).

[0047] На **фиг. 9А** показан эффект r5D8 в отношении ингибирования роста клеток рака толстой и прямой кишки в сингенной мышинной модели.

[0048] На **фиг. 9В** показаны отдельные измерения опухолей к дню 17.

[0049] На **фиг. 10А** показано снижение степени инфильтрации макрофагов в места локализации опухоли в ортотопической мышинной модели GBM с репрезентативным изображением и количественным определением клеток CCL22+.

[0050] На **фиг. 10В** показано снижение степени инфильтрации макрофагов в модели на органотипической культуре тканевых срезов человека.

[0051] На **фиг. 10С** показано снижение степени инфильтрации макрофагов в места локализации опухоли в сингенной мышинной модели рака яичника с репрезентативным изображением и количественным определением клеток CCL22+.

[0052] На **фиг. 10D** показано снижение степени инфильтрации макрофагов в места локализации опухоли в сингенной мышинной модели рака толстой и прямой кишки с репрезентативным изображением и количественным определением клеток CCL22+.

[0053] На **фиг. 11А** показано увеличение числа немиелоидных эффекторных клеток в сингенной мышинной модели рака яичника после обработки r5D8.

[0054] На **фиг. 11В** показано увеличение числа немиелоидных эффекторных клеток в сингенной мышинной модели рака толстой и прямой кишки после обработки r5D8.

[0055] На **фиг. 11С** показано снижение процентной доли CD4+ клеток T_{REG} в

мышинной модели рака NSCLC после обработки r5D8.

[0056] На **фиг. 12** показаны данные для мышей с опухолями CT26, обработанных два раза в неделю PBS (контроль) или r5D8, вводимым внутривенно в присутствии или в отсутствие истощающих антител к CD4 и CD8. На графике показаны измерения отдельных опухолей к d13, выраженных в виде среднего объема опухоли + SEM. Статистически значимые различия между группами определяли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни для непарных выборок. R5D8 обеспечивало ингибирование роста опухолей CT26 (* $p < 0,05$). Ингибирование роста опухоли r5D8 значимо снижалось в присутствии истощающих антител к CD4 и CD8 (**** $p < 0,0001$).

[0057] На **фиг. 13A** представлен обзор по структуре сокристалла Fab h5D8 в комплексе с LIF. Сайт взаимодействия с gp130 изображен на поверхности LIF (темный).

[0058] На **фиг. 13B** показаны подробные взаимодействия между LIF и h5D8, демонстрирующие остатки, образующие ионные связи, и остатки h5D8 со скрытыми участками поверхности, превышающими 100 \AA^2 .

[0059] На **фиг. 14A** показано наложение пяти кристаллических структур Fab H5D8, и она указывает на высокую степень подобия, несмотря на кристаллизацию в разных химических условиях.

[0060] На **фиг. 14B** показана пространственная сеть взаимодействий Ван-дер-Ваальса, опосредуемых неспаренным Cys100. Этот остаток хорошо упорядочен, участвует в формировании конформаций HCDR1 и HCDR3 и не вовлечен в нежелательную перестановку дисульфидных связей. Расстояния между остатками показаны пунктирными линиями и подписаны.

[0061] На **фиг. 15A** показано связывание мутантов h5D8 C100 с LIF в ELISA.

[0062] На **фиг. 15B** показано связывание мутантов h5D8 C100 с LIF мыши в ELISA.

[0063] На **фиг. 16A** показано, что h5D8 не блокирует связывание между LIF и LIFR в Octet. Затем проводили связывание h5D8 с LIF, а затем с LIFR.

[0064] На **фиг. 16B** и **16C** показаны результаты ELISA-анализа связывания комплексов LIF/mAb с иммобилизованным LIFR или gp130. Сигналы конъюгированных с пероксидазой видоспецифических антител к IgG (к IgG человека для (-) и h5D8, к IgG крысы для r5d8 и B09) позволяют выявить часть антитела в составе комплексов mAb/LIF, связывающихся с иммобилизованным LIFR (**фиг. 16B**) или gp130 (**фиг. 16C**), которым покрыты планшеты.

[0065] На **фиг. 17A** и **17B** показаны уровни экспрессии мРНК LIF (**фиг. 16A**) или LIFR (**фиг. 16B**) в 72 разных тканях человека.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Некоторые определения

[0066] Если не указано иное, все применяемые в настоящем документе технические термины имеют те же значения, которые обычно понятны рядовому специалисту в данной области, к которой относится настоящее изобретение. В контексте настоящего описания и прилагаемой формулы изобретения формы единственного числа включают определяемые объекты во множественном числе, если контекстом явно не указано иное. Подразумевается, что любое упоминание «или» в настоящем документе охватывает «и/или», если не указано иное.

[0067] В контексте настоящего документа, если не указано иное, термин «приблизительно» относится к количеству, которое близко к указанному количеству, например, на 10%, 5% или 1%.

[0068] В контексте настоящего документа термины «индивидуум», «субъект» и «пациент» применяют взаимозаменяемо, и они включают людей с диагностированными опухолью, раком или другим новообразованием или с подозрением на поражение опухолью, раком или другим новообразованием.

[0069] В контексте настоящего документа, если не указано иное, термин «антитело» включает антигенсвязывающие фрагменты антител, т. е. фрагменты антител, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, связываемым полноразмерным антителом, например, фрагменты, которые сохраняют одну или несколько CDR-областей. Примеры фрагментов антител включают без ограничения Fab-, Fab'-, F(ab')₂- и F_v-фрагменты; диатела; линейные антитела; антитела, состоящие только из тяжелых цепей, молекулы одноцепочечных антител, например, одноцепочечные переменные фрагменты (scFv), наноантитела и полиспецифические антитела, образованные фрагментами антител с разными типами специфичности, такие как биспецифическое антитело. Согласно определенным вариантам осуществления антитела гуманизируются таким образом, чтобы обеспечивалось снижение иммунного ответа индивидуума на антитело. Например, антитела могут быть химерными, например, предусматривать переменную область отличного от человека вида с константной областью человека, или могут быть подвергнуты прививанию CDR, например, CDR-области отличного от человека вида с константной областью и каркасными последовательностями переменной области человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитела после гуманизации подвергают деиммунизации. Деиммунизация предусматривает удаление или мутирование одного или нескольких

эпитопов Т-клетки в константной области антитела. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела являются моноклональными. В контексте настоящего документа «рекомбинантное антитело» представляет собой антитело, которое содержит аминокислотную последовательность, происходящую от двух разных видов, или двух разных источников, и включает синтетические молекулы, например, антитело, которое содержит CDR отличного от человека вида и каркасную область или константную область человека. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантные антитела по настоящему изобретению получают на основе молекулы рекомбинантной ДНК или синтезируют.

[0070] Термины «рак» и «опухоль» относятся к физиологическому состоянию у млекопитающих, характеризующемуся нарушением регуляции роста клеток. Рак относится к классу заболеваний, при которых группа клеток характеризуется неконтролируемым ростом или нежелательным ростом. Раковые клетки также могут распространяться в другие места, что может приводить к образованию метастазов. Распространение раковых клеток по организму может осуществляться, например, через лимфу или кровь. Неконтролируемый рост, способность к прониканию и образование метастазов также называют свойствами злокачественности рака. Такие свойства злокачественности отличают формы рака от доброкачественных опухолей, которые, как правило, не прорастают или не метастазируют.

[0071] Процентная (%) идентичность последовательностей по отношению к эталонной последовательности полипептида или антитела представляет собой процентную долю аминокислотных остатков в кандидатной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в эталонной последовательности полипептида или антитела после выравнивания последовательностей и введения гэпов, при необходимости, с достижением максимальной процентной идентичности последовательностей, и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательностей. Выравнивание с целью определения процентной идентичности аминокислотных последовательностей можно осуществлять различными известными способами, к примеру, с применением имеющегося в открытом доступе компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Соответствующие параметры для выравнивания последовательностей могут быть определены, включая алгоритмы, необходимые для обеспечения максимального выравнивания по всей длине последовательностей, подлежащих сравнению. Однако для целей настоящего документа значения идентичности аминокислотных последовательностей в % получают с применением компьютерной

программы для сравнения последовательностей ALIGN-2. Компьютерная программа для сравнения последовательностей ALIGN-2 разработана Genentech, Inc., а исходный код был подан вместе с документацией пользователя в Бюро авторского права США, Вашингтон, 20559, где он зарегистрирован под регистрационным номером авторского права США TXU510087. Программа ALIGN-2 находится в открытом доступе от Genentech, Inc., Южный Сан-Франциско, Калифорния, или может быть скомпилирована из исходного кода. Программа ALIGN-2 должна быть скомпилирована для применения в операционной системе UNIX, включая Digital UNIX V4.0D. Все параметры для сравнения последовательностей устанавливаются программой ALIGN-2 и не меняются.

[0072] В ситуациях, когда ALIGN-2 используется для сравнений аминокислотных последовательностей, идентичность аминокислотной последовательности в % данной аминокислотной последовательности А относительно, с или в сравнении с данной аминокислотной последовательностью В (что, в качестве альтернативы, может быть сформулировано как данная аминокислотная последовательность А, которая характеризуется или предусматривает определенную идентичность аминокислотной последовательности в % относительно, с или в сравнении с данной аминокислотной последовательностью В) рассчитывают следующим образом: умножение на 100 частного X/Y , где X представляет собой число аминокислотных остатков, оцененных как идентичные совпадения программой для выравнивания последовательностей ALIGN-2 при таком выравнивании программой А и В, и где Y представляет собой суммарное число аминокислотных остатков в В. Следует понимать, что в тех случаях, когда длина аминокислотной последовательности А не равняется длине аминокислотной последовательности В, идентичность аминокислотной последовательности в % А с В не будет равняться идентичности аминокислотной последовательности в % В с А. Если специально не указано иное, все применяемые в настоящем документе значения идентичности аминокислотных последовательностей в % получают, как описано в непосредственно предшествующем разделе, с применением компьютерной программы ALIGN-2.

[0073] Термин «эпитоп» включает любую детерминанту, которая может быть связана антигенсвязывающим белком, таким как антитело. Эпитоп представляет собой область антигена, которую связывает антигенсвязывающий белок, мишенью которого является антиген, и при этом если антиген представляет собой белок, он включает конкретные аминокислоты, которые непосредственно контактируют с антигенсвязывающим белком. Чаще всего эпитопы присутствуют в белках, но в некоторых случаях могут присутствовать в других типах молекул, таких как сахараиды или

липиды. Эпитопы могут включать химически активные поверхностные группы молекул, такие как аминокислоты, боковые цепи из сахаров, фосфорильные или сульфонильные группы, и могут обладать специфическими характеристиками трехмерной структуры и/или специфическими характеристиками заряда. В целом антитела, специфические в отношении конкретного целевого антигена, в сложной смеси белков и/или макромолекул предпочтительно будут распознавать эпитоп на целевом антигене.

Структурные признаки описанных в настоящем документе антител

[0074] Определяющая комплементарность область («CDR») является частью варибельной области иммуноглобулина (антитела), которая в первую очередь отвечает за антигенсвязывающую специфичность антитела. CDR-области сильно отличаются от одного антитела к другому, даже если антитело специфически связывает одну и ту же мишень или эпитоп. Варибельная область тяжелой цепи содержит три CDR-области, сокращенно VH-CDR1, VH-CDR2 и VH-CDR3; и варибельная область легкой цепи содержит три CDR-области, сокращенно VL-CDR1, VL-CDR2 и VL-CDR3. Эти CDR-области расположены последовательно в варибельной области, причем CDR1 находится ближе всего к N-концу, а CDR3 находится ближе всего к C-концу. Между CDR расположены каркасные области, которые выполняют структурную функцию и характеризуются намного меньшей варибельностью, чем CDR-области. Варибельная область тяжелой цепи содержит четыре каркасные области, сокращенно VH-FR1, VH-FR2, VH-FR3 и VH-FR4; и варибельная область легкой цепи содержит четыре каркасные области, сокращенно VL-FR1, VL-FR2, VL-FR3 и VL-FR4. Полноразмерные бивалентные антитела, содержащие две тяжелые и легкие цепи, будут содержать: 12 CDR, из которых три уникальные CDR тяжелой цепи и три уникальные CDR легкой цепи; 16 FR-областей, из которых четыре уникальные FR-области тяжелой цепи и четыре уникальные FR-области легкой цепи. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела минимально содержат три CDR тяжелой цепи. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела минимально содержат три CDR легкой цепи. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела минимально содержат три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи. Точные границы аминокислотных последовательностей данных CDR или FR без труда могут быть определены с применением любой из ряда хорошо известных схем, включая таковые, описанные Kabat et al. (1991), "Sequences of Proteins of Immunological Interest," 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (схема нумерации «Kabat»); Al-Lazikani et al., (1997) *JMB* 273,927-948 (схема нумерации «Chothia»); MacCallum et al., *J. Mol. Biol.*

262:732-745 (1996), “Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography”, («контактная» схема нумерации); Lefranc MP et al., “IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains”, *Dev Comp Immunol*, 2003 Jan;27(1):55-77 (схема нумерации «IMGT»); и Honegger A and Plückthun A, “Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool”, *J Mol Biol*, 2001 Jun 8;309(3):657-70, (схема нумерации «Aho»). CDR в настоящем документе идентифицированы на основе переменных последовательностей, представленных с применением разных систем нумерации, в настоящем документе с использованием систем нумерации по Kabat, IMGT, по Chothia или любой комбинации трех. Границы данных CDR или FR могут варьировать в зависимости от применяемой для идентификации схемы. Например, схема по Kabat основана на структурных выравниваниях, тогда как схема по Chothia основана на информации о структуре. Нумерация в случае схем как по Kabat, так и по Chothia основана на наиболее распространенных длинах последовательностей областей антител, со вставками, размещенными с помощью букв вставки, например, «30a», и делециями, встречающимися в некоторых антителах. Согласно двум схемам вставки и делеции («indel») размещаются в разных положениях, что обуславливает неодинаковую нумерацию. «Контактная» схема основана на анализе сложных кристаллических структур и во многих отношениях напоминает схему нумерации по Chothia.

[0075] Термин «вариабельная область» или «вариабельный домен» относится к домену тяжелой или легкой цепей антитела, который вовлечен в связывание антитела с антигеном. Вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи (VH и VL соответственно) нативного антитела в целом имеют подобную структуру, причем каждый домен содержит четыре консервативные каркасные области (FR) и три CDR (см., например, Kindt et al. *Kuby Immunology, 6th ed.*, W.H. Freeman and Co., страница 91 (2007)). Одно VH- или VL-домена может быть достаточно для обеспечения антигенсвязывающей специфичности. Кроме того, VH- или VL-домен антител, которые связывают конкретный антиген, могут быть выделены из антитела, которое связывает антиген, для скрининга библиотеки комплементарных VL- или VH-доменов соответственно (см., например, Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)). Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела содержат вариабельные области крысиного происхождения. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела содержат CDR крысиного происхождения. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела содержат вариабельные области мышинового

происхождения. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела содержат CDR мышинового происхождения.

[0076] Изменения (например, замены) могут быть выполнены в CDR, например, для повышения аффинности антитела. Такие изменения могут быть выполнены в кодирующих CDR кодонах с высокой частотой мутаций в ходе соматического созревания (см., например, Chowdhury, *Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)), и полученный в результате вариант можно тестировать в отношении аффинности связывания. Способ обеспечения созревания аффинности (например, с применением ПЦР с внесением ошибок, перестановки цепей, рандомизации CDR или олигонуклеотид-направленного мутагенеза) можно применять для повышения аффинности антитела (см., например, Hoogenboom et al. в *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (2001)). Остатки CDR, вовлеченные в связывание антигена, могут быть точно идентифицированы, например, с применением аланинсканирующего мутагенеза или моделирования (см., например, Cunningham and Wells *Science*, 244:1081-1085 (1989)). В частности, мишенями зачастую являются CDR-H3 и CDR-L3. В качестве альтернативы, или в дополнение, проводят анализ кристаллической структуры комплекса антиген-антитело с целью идентификации точек контакта между антителом и антигеном. Такие вовлеченные в контакт остатки и соседние остатки могут быть мишенями или могут быть исключены как кандидаты для замены. Варианты можно подвергать скринингу с целью определения того, характеризуются ли они требуемыми свойствами.

[0077] Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела содержат константную область в дополнение к вариабельной области. Константная область тяжелой цепи (C_H) содержит четыре домена, сокращенно C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} и C_{H4} , расположенные на С-конце полипептида полной тяжелой цепи, с С-концевой стороны относительно вариабельной области. Константная область легкой цепи (C_L) намного меньше C_H , и расположена на С-конце полипептида полной легкой цепи, с С-концевой стороны относительно вариабельной области. Константная область является высококонсервативной и предусматривает разные изоформы, которые ассоциированы с несколькими отличающимися функциями и свойствами. Согласно определенным вариантам осуществления константная область не является обязательной для связывания антитела с целевым антигеном. Согласно определенным вариантам осуществления константные области антитела, как тяжелой, так и легкой цепей, не являются обязательными для связывания антитела. Согласно определенным вариантам осуществления у описанных в настоящем документе антител отсутствуют одно или несколько из константной области легкой цепи, константной области тяжелой цепи, или как одного, так и другого.

Большинство моноклональных антител относятся к изотипу IgG, который дополнительно делится на четыре подкласса IgG₁, IgG₂, IgG₃ и IgG₄. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела предусматривают любой подкласс IgG. Согласно определенным вариантам осуществления подкласс IgG предусматривает IgG₁. Согласно определенным вариантам осуществления подкласс IgG предусматривает IgG₂. Согласно определенным вариантам осуществления подкласс IgG предусматривает IgG₃. Согласно определенным вариантам осуществления подкласс IgG предусматривает IgG₄.

[0078] Антитела содержат кристаллизирующийся фрагмент иммуноглобулина (Fc-область), который отвечает за связывание с комплементом и Fc-рецепторами. Fc-область содержит C_H2-, C_H3- и C_H4-области молекулы антитела. Fc-область антитела отвечает за активацию системы комплемента и антителозависимую клеточную цитотоксичность (ADCC). Fc-область также влияет на время полужизни антитела в сыворотке крови. Согласно определенным вариантам осуществления Fc-область описанных в настоящем документе антител предусматривает одну или несколько аминокислотных замен, которые содействуют комплементзависимому лизису клеток. Согласно определенным вариантам осуществления Fc-область описанных в настоящем документе антител предусматривает одну или несколько аминокислотных замен, которые содействуют ADCC. Согласно определенным вариантам осуществления Fc-область описанных в настоящем документе антител предусматривает одну или несколько аминокислотных замен, которые обуславливают подавление комплементзависимого лизиса клеток. Согласно определенным вариантам осуществления Fc-область описанных в настоящем документе антител предусматривает одну или несколько аминокислотных замен, которые обуславливают повышение способности связывания антитела с Fc-рецептором. Согласно определенным вариантам осуществления Fc-рецептор включает FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32), FcγRIIA (CD16a), FcγRIIB (CD16b) или любую их комбинацию. Согласно определенным вариантам осуществления Fc-область описанных в настоящем документе антител предусматривает одну или несколько аминокислотных замен, которые обуславливают увеличение времени полужизни антитела в сыворотке крови. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько аминокислотных замен, которые обуславливают увеличение времени полужизни антитела в сыворотке крови, обуславливают повышение аффинности антитела в отношении неонатального Fc-рецептора (FcRn).

[0079] Согласно некоторым вариантам осуществления антитела по настоящему раскрытию являются вариантами, которые характеризуются некоторыми, но не всеми

эффекторными функциями, которые делают их желательными кандидатами для применений, в которых важным является время полужизни антитела *in vivo*, тогда как определенные эффекторные функции (такие как комплементзависимая и ADCC) не являются необходимыми или являются неблагоприятными. Анализы цитотоксичности *in vitro* и/или *in vivo* можно проводить для подтверждения подавления/уменьшения CDC-и/или ADCC-активности. Например, анализы связывания Fc-рецептора (FcR) можно проводить для того, чтобы убедиться, что антитело не связывается с FcγR (следовательно, вероятно, не обладает ADCC-активностью), однако сохраняет способность связывать FcRn. Неограничивающие примеры *in vitro* анализов для оценки ADCC-активности представляющей интерес молекулы описаны в патенте США № 5500362 и 5821337. В качестве альтернативы, можно использовать методы анализа, в которых не используются радиоактивные метки (например, анализы цитотоксичности АСТИ™ и CytoTox 96®, в которых не используются радиоактивные метки). Пригодные эффекторные клетки для таких анализов включают мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC), моноциты, макрофаги и естественные клетки-киллеры (NK).

[0080] Антитела могут характеризоваться увеличенным временем полужизни и улучшенной способностью связывания с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) (см., например, US 2005/0014934). Такие антитела могут содержать Fc-область с одной или несколькими заменами в ней, которые обуславливают улучшение способности связывания Fc-области с FcRn, и они включают таковые с заменами по одному или нескольким остаткам Fc-области: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 или 434 в соответствии с системой нумерации EU (см., например, патент США № 7371826). Также предусматриваются другие примеры вариантов Fc-области (см., например, Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988); патенты США №№ 5648260 и 5624821; и WO94/29351).

[0081] Пригодные в клинике антитела зачастую являются «гуманизированными» с целью снижения иммуногенности у людей. Гуманизированные антитела обеспечивают улучшение в отношении безопасности и эффективности терапии моноклональными антителами. Одним из общепринятых способов гуманизации является получение моноклонального антитела у любого подходящего животного (например, мыши, крысы, хомяка) и замещение константной области константной областью человека, причем сконструированные таким образом антитела называют «химерными». Другим общепринятым способом является «прививание CDR», при котором осуществляют замещение V-FR отличного от человека вида на V-FR человека. В способе прививания CDR все остатки, за исключением CDR-области, человеческого происхождения. Согласно

определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антители являются гуманизированными. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антители являются химерными. Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антители подвергнуты прививанию CDR.

[0082] Гуманизация обычно приводит к снижению или оказывает незначительный эффект в отношении общей аффинности антителя. В настоящем документе описаны антители, которые неожиданно обладают большей аффинностью в отношении своей мишени после гуманизации. Согласно определенным вариантам осуществления гуманизация обеспечивает повышение аффинности антителя на 10%. Согласно определенным вариантам осуществления гуманизация обеспечивает повышение аффинности антителя на 25%. Согласно определенным вариантам осуществления гуманизация обеспечивает повышение аффинности антителя на 35%. Согласно определенным вариантам осуществления гуманизация обеспечивает повышение аффинности антителя на 50%. Согласно определенным вариантам осуществления гуманизация обеспечивает повышение аффинности антителя на 60%. Согласно определенным вариантам осуществления гуманизация обеспечивает повышение аффинности антителя на 75%. Согласно определенным вариантам осуществления гуманизация обеспечивает повышение аффинности антителя на 100%. Аффинность подходящим образом измеряют с применением метода поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Согласно определенным вариантам осуществления аффинность измеряют с применением гликозилированного LIF человека. Согласно определенным вариантам осуществления гликозилированный LIF человека иммобилизован на поверхности чипа для SPR. Согласно определенным вариантам осуществления антители связываются с K_D менее чем приблизительно 300 наномоль, 200 наномоль, 150 наномоль, 125 наномоль, 100 наномоль, 90 наномоль, 80 наномоль, 70 наномоль, 60 наномоль, 50 наномоль, 40 наномоль или меньше.

Новые антители по настоящему раскрытию

[0083] Описанные в настоящем документе антители получали у крыс и мышей, иммунизированных ДНК, кодирующей LIF человека.

[0084] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антители, которое специфически связывает LIF, содержащее VH-CDR1, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33, VH-CDR2, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35, и VH-CDR3, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано

антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее VL-CDR1, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39, VL-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 25-27 или 41, и VL-CDR3, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30, 43. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее VH-CDR1, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33, VH-CDR2, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35, и VH-CDR3, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37, VL-CDR1, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39, VL-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 25-27 или 41, и VL-CDR3, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30, 43. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывается с LIF человека.

[0085] Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на

приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, 90% или 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на 80%, 90% или 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на 80%, 90% или 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной

последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека.

5D8

[0086] Описанные в настоящем документе антитела получали у крыс и мышей, иммунизированных ДНК, кодирующей LIF человека. Одно такое антитело (5D8) было клонировано и подвергнуто секвенированию, и оно содержит CDR (с применением комбинации способов нумерации остатков CDR по Kabat и IMGT) со следующими аминокислотными последовательностями: VH-CDR1, соответствующей SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), VH-CDR2, соответствующей SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), VH-CDR3, соответствующей SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), VL-CDR1, соответствующей SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), VL-CDR2, соответствующей SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и VL-CDR3, соответствующей SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

[0087] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее VH-CDR1, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), VH-CDR2, по меньшей мере на 80%, 90% или 95% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), и VH-CDR3, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее VL-CDR1, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), VL-CDR2, по меньшей мере на 80% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и VL-CDR3, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее VH-CDR1, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), VH-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), VH-CDR3, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), VL-CDR1, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), VL-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и VL-CDR3, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). В аминокислотных последовательностях CDR по настоящему раскрытию предусмотрены определенные консервативные аминокислотные замены. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами, и влияют на аффинность связывания не более чем на 10%, 20% или 30%. Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной

последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в

SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат все из аминокислотной последовательности VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотной последовательности VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотной последовательности VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотной последовательности VH-FR4, по меньшей мере на 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотной последовательности VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотной последовательности VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотной последовательности VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотной последовательности VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную

последовательность VH-FR4-области, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57,

аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека.

[0088] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VH-CDR1, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), аминокислотную последовательность VH-CDR2, по меньшей мере на 80%, 90% или 95% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), и аминокислотную последовательность VH-CDR3, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 95 (TSWEWDLDF). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VL-CDR1, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), аминокислотную последовательность VL-CDR2, по меньшей мере на 80% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и аминокислотную последовательность VL-CDR3, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VH-CDR1, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), аминокислотную последовательность VH-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), аминокислотную последовательность VH-CDR3, изложенную в SEQ ID NO: 95 (TSWEWDLDF), аминокислотную последовательность VL-CDR1, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), аминокислотную последовательность VL-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и аминокислотную последовательность VL-CDR3, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). В аминокислотных последовательностях CDR по настоящему раскрытию предусмотрены определенные консервативные аминокислотные замены. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 95, 21, 25 и 29, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит CDR, которые отличаются от

аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 95, 21, 25 и 29, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами, и влияют на аффинность связывания не более чем на 10%, 20% или 30%. Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%,

приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат все из аминокислотной последовательности VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотной последовательности VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотной последовательности VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотной последовательности VH-FR4, по меньшей мере на 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотной последовательности VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотной последовательности VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотной последовательности VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотной

последовательности VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65,

и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека.

[0089] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 и 74. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 71, 72 и 74. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную переменную область легкой цепи,

содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 75-78. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека.

[0090] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO:72; и гуманизованную переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 72; и гуманизованную переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 76.

[0091] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 96; и гуманизованную переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 96; и гуманизованную переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 76.

[0092] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO:79-82; и гуманизованную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 83-86. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 79-82; и гуманизованную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 83-86. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO:87-90; и гуманизованную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 91-94. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 87-90; и гуманизованную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 91-94.

[0093] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее гуманизованную тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO:80; и гуманизованную легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на приблизительно

[0094] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 2; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 10; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

[0095] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 3; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

[0096] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 3; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 10; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3),

содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

10G7

[0097] Другое антитело, клонированное и подвергнутое секвенированию после иммунизации крысы (10G7), содержит CDR (с применением комбинации способов нумерации остатков CDR по Kabat и IMGT) со следующими аминокислотными последовательностями: VH-CDR1, соответствующей SEQ ID NO: 4 (GFTFSNAWMH), VH-CDR2, соответствующей SEQ ID NO: 11 (QIKDKSDNYATYYAESVKG), VH-CDR3, соответствующей SEQ ID NO: 17 (TCWEWYLDF), VL-CDR1, соответствующей SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), VL-CDR2, соответствующей SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и VL-CDR3, соответствующей SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

[0098] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее VH-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 4 (GFTFSNAWMH), VH-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80%, 90% или 95% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 11 (QIKDKSDNYATYYAESVKG), и VH-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 17 (TCWEWYLDF). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее VL-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), VL-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее VH-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 4 (GFTFSNAWMH), VH-CDR2, содержащую аминокислотную

последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 11 (QIKDKSDNYATYYAESVKG), VH-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 17 (TCWEWYLDLF), VL-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), VL-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT). В аминокислотных последовательностях CDR по настоящему раскрытию предусмотрены определенные консервативные аминокислотные замены. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит аминокислотные последовательности CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 4, 11, 17, 21, 25 и 29, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит аминокислотные последовательности CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 4, 11, 17, 21, 25 и 29, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами, и влияют на аффинность связывания не более чем на 10%, 20% или 30%. Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность

VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат все из аминокислотной последовательности VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотной последовательности

VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотной последовательности VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотной последовательности VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотной последовательности VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотной последовательности VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотной последовательности VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотной последовательности VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности,

изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека.

6B5

[0099] Другое антитело, клонированное и подвергнутое секвенированию после иммунизации крысы (6B5), содержит CDR (с применением способа нумерации по Kabat)

со следующими аминокислотными последовательностями: VH-CDR1, соответствующей SEQ ID NO: 7 (SKFMY), VH-CDR2, соответствующей SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), VH-CDR3, соответствующей SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAY), VL-CDR1, соответствующей SEQ ID NO: 23 (RSSQSLHNNNGNTYLS), VL-CDR2, соответствующей SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и VL-CDR3, соответствующей SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT).

[00100] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VH-CDR1, по меньшей мере на 80% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), аминокислотную последовательность VH-CDR2, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), и аминокислотную последовательность VH-CDR3, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAY). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VL-CDR1, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLHNNNGNTYLS), аминокислотную последовательность VL-CDR2, по меньшей мере на 80% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и аминокислотную последовательность VL-CDR3, по меньшей мере на 80% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VH-CDR1, изложенную в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), аминокислотную последовательность VH-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), аминокислотную последовательность VH-CDR3, изложенную в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAY), аминокислотную последовательность VL-CDR1, изложенную в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLHNNNGNTYLS), аминокислотную последовательность VL-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и аминокислотную последовательность VL-CDR3, изложенную в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT). В аминокислотных последовательностях CDR по настоящему раскрытию предусмотрены определенные консервативные аминокислотные замены. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит аминокислотные последовательности CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 7, 13, 19, 23, 27 и 30, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит аминокислотные

последовательности CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 7, 13, 19, 23, 27 и 30, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами, и влияют на аффинность связывания не более чем на 10%, 20% или 30%. Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности,

изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат все из аминокислотной последовательности VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотной последовательности VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотной последовательности VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотной последовательности VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотной последовательности VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотной последовательности VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности,

изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотной последовательности VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотной последовательности VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57,

аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека.

9G7

[00101] Другое антитело, клонированное и подвергнутое секвенированию после иммунизации мыши (9G7), содержит CDR (с применением способа нумерации по Kabat) со следующими аминокислотными последовательностями: VH-CDR1, соответствующей SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), VH-CDR2, соответствующей SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), VH-CDR3, соответствующей SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY), VL-CDR1, соответствующей SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), VL-CDR2, соответствующей SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и VL-CDR3, соответствующей SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT).

[00102] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VH-CDR1, по меньшей мере на 80% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), аминокислотную последовательность VH-CDR2, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), и аминокислотную последовательность VH-CDR3, по

меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VL-CDR1, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), аминокислотную последовательность VL-CDR2, по меньшей мере на 80% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и аминокислотную последовательность VL-CDR3, по меньшей мере на 80% или 90% идентичную таковой, изложенной в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT). Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность VH-CDR1, изложенную в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), аминокислотную последовательность VH-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), аминокислотную последовательность VH-CDR3, изложенную в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY), аминокислотную последовательность VL-CDR1, изложенную в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), аминокислотную последовательность VL-CDR2, изложенную в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и аминокислотную последовательность VL-CDR3, изложенную в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT). В аминокислотных последовательностях CDR по настоящему раскрытию предусмотрены определенные консервативные аминокислотные замены. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит аминокислотные последовательности CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 39, 41, 43, 33, 35 и 37, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами. Согласно определенным вариантам осуществления антитело содержит аминокислотные последовательности CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 39, 41, 43, 33, 35 и 37, 1, 2, 3 или 4 аминокислотами, и влияют на аффинность связывания не более чем на 10%, 20% или 30%. Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95%

идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательности VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитела, которые специфически связывают LIF, содержат одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащих: аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной

последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат все из аминокислотной последовательности VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотной последовательности VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотной последовательности VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотной последовательности VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотной последовательности VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотной последовательности VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотной последовательности VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотной последовательности VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90% или приблизительно 95% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO:

48-49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, или аминокислотную последовательность VH-FR4-области, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54. Согласно определенным вариантам осуществления антитело, которое специфически связывает LIF, содержит одну или несколько каркасных областей легкой цепи человека, содержащие: аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, или аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления одна или несколько каркасных областей тяжелой цепи человека и одна или несколько областей легкой цепи человека содержат аминокислотную последовательность VH-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, идентичную аминокислотной

последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68. Согласно определенным вариантам осуществления антитело специфически связывает LIF человека.

[00103] Описанные в настоящем документе антитела непосредственно связывают LIF человека. Каноническая аминокислотная последовательность LIF человека представлена SEQ ID NO: 98. Специалистам в данной области будет понятно, что возможны естественные варианты SEQ ID NO: 98 среди популяции людей, что может обуславливать различия по 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотам между SEQ ID NO: 98 и LIF, экспрессируемым в организме любого данного человека. Ожидается, что небольшие изменения, которые возникают вследствие естественной вариации, не будут обуславливать различные параметры кинетики связывания или эффективность при лечении любыми из описанных в настоящем документе антител.

Эпитопы, связываемые терапевтически пригодными антителами к LIF

[00104] В настоящем документе описан уникальный эпитоп LIF человека, который при связывании ингибирует биологическую активность LIF (например, фосфорилирование STAT3) и ингибирует рост опухоли *in vivo*. Описанный в настоящем документе эпитоп состоит из двух прерывающихся отрезков из аминокислот (от остатка 13 до остатка 32 и от остатка 120 до 138 LIF человека), которые находятся в двух отличающихся топологических доменах (альфа-спирали А и С) белка LIF человека. Такое связывание является комбинацией слабых (сила Ван-дер-Ваальса), средних (водородная связь) и сильных (ионная связь) взаимодействий. Согласно определенным вариантам осуществления вовлеченный в контакт остаток представляет собой остаток LIF, который образует водородную связь с остатком антитела к LIF. Согласно определенным вариантам осуществления вовлеченный в контакт остаток представляет собой остаток LIF, который образует ионную связь с остатком антитела к LIF. Согласно определенным вариантам осуществления вовлеченный в контакт остаток представляет собой остаток LIF, который обуславливает возникновение силы Ван-дер-Ваальса с остатком на антителе к LIF и в пределах по меньшей мере 5, 4, или 3 ангстрем от него.

[00105] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано выделенное антитело, которое связывает любые один, два, три, четыре,

пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 или H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано выделенное антители, которое связывает все из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 и H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано выделенное антители, которое связывает все из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 и H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления антители связывает только остатки, которые вступают с антителим в сильные или средние по силе взаимодействия. Согласно определенным вариантам осуществления антители связывает только остатки, которые вступают с антителим в сильные взаимодействия. Согласно определенному варианту осуществления антители взаимодействует со спиралью A и C LIF. Согласно определенному варианту осуществления антители блокирует взаимодействие LIF с gp130.

[00106] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антители, содержащее CDR с аминокислотной последовательностью, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29, которое связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 или H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антители, содержащее CDR с аминокислотной последовательностью, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29, которое связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 и H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления антители связывает только остатки, которые вступают с антителим в сильные или средние по силе взаимодействия. Согласно определенным вариантам осуществления антители связывает только остатки, которые вступают с антителим в сильные взаимодействия.

[00107] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антители, содержащее CDR с аминокислотной последовательностью, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 95, 21, 25 и 29, которое связывает любые один, два, три,

четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 или H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, содержащее CDR с аминокислотной последовательностью, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 95, 21, 25 и 29, которое связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 и H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления антитело связывает только остатки, которые вступают с антителом в сильные или средние по силе взаимодействия. Согласно определенным вариантам осуществления антитело связывает только остатки, которые вступают с антителом в сильные взаимодействия.

[00108] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, содержащее CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотами, и связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 или H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, содержащее CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотами, и связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 и H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления антитело связывает только остатки, которые вступают с антителом в сильные или средние по силе взаимодействия. Согласно определенным вариантам осуществления антитело связывает только остатки, которые вступают с антителом в сильные взаимодействия.

[00109] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, содержащее CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 95, 21, 25 и 29, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотами, и связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих

остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 или H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антители, содержащее CDR, которые отличаются от аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 95, 21, 25 и 29, 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислотами, и связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 и H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления антители связывает только остатки, которые вступают с антителом в сильные или средние по силе взаимодействия. Согласно определенным вариантам осуществления антители связывает только остатки, которые вступают с антителом в сильные взаимодействия.

[00110] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антители, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность гуманизированной вариабельной области тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO:72; и аминокислотную последовательность гуманизированной вариабельной области легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76, и связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 или H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антители, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность гуманизированной вариабельной области тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO:72; и аминокислотную последовательность гуманизированной вариабельной области легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76, и связывает все из следующих

остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 и H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления антитело связывает только остатки, которые вступают с антителом в сильные или средние по силе взаимодействия. Согласно определенным вариантам осуществления антитело связывает только остатки, которые вступают с антителом в сильные взаимодействия.

[00111] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность гуманизированной вариабельной области тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 96; и аминокислотную последовательность гуманизированной вариабельной области легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76, и связывает любые один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать, шестнадцать, семнадцать, восемнадцать, девятнадцать или двадцать из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 или H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе описано антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее аминокислотную последовательность гуманизированной вариабельной области тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 96; и аминокислотную последовательность гуманизированной вариабельной области легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 80%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76, и связывает все из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135 и H138 SEQ ID NO:98. Согласно определенным вариантам осуществления антитело связывает только остатки, которые вступают с антителом в сильные или средние по силе взаимодействия. Согласно определенным вариантам осуществления антитело связывает только остатки, которые вступают с антителом в

сильные взаимодействия.

Терапевтические показания

[00112] Согласно определенным вариантам осуществления раскрытые в настоящем документе антитела ингибируют передачу сигнала с участием LIF в клетках. Согласно определенным вариантам осуществления IC_{50} для биологического ингибирования антитела в условиях сывороточного голодания в клетках U-251 равняется приблизительно 100, 75, 50, 40, 30, 20, 10, 5 или 1 наномоль или меньше. Согласно определенным вариантам осуществления IC_{50} для биологического ингибирования антитела в условиях сывороточного голодания в клетках U-251 равняется приблизительно 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200 или 100 наномоль или меньше.

[00113] Согласно определенным вариантам осуществления раскрытые в настоящем документе антитела пригодны для лечения опухолей и форм рака, при которых экспрессируется LIF. Согласно определенным вариантам осуществления индивидуум, которого лечат антителами по настоящему раскрытию, был выбран для лечения как такой, у которого наблюдается LIF-положительные опухоль/рак. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль является LIF-положительной или продуцирует LIF на повышенных уровнях. Согласно определенным вариантам осуществления положительный по LIF статус определяют в сравнении с эталонным значением или набором критериев оценки патологии. Согласно определенным вариантам осуществления LIF-положительная опухоль экспрессирует 2-кратное, 3-кратное, 5-кратное, 10-кратное, 100-кратное или более количество LIF по сравнению с нетрансформированной клеткой, из которой происходит опухоль. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль характеризуется приобретенной эктопической экспрессией LIF. LIF-положительная опухоль может быть определена гистологически с применением, например, иммуногистохимического исследования с использованием антитела к LIF; с помощью широко применяемых методов молекулярной биологии, таких как, например, количественное определение мРНК с помощью ПЦР в режиме реального времени или секвенирование РНК; или количественного определения белков, например, с помощью вестерн-блоттинга, проточной цитометрии, ELISA или гомогенных анализов с количественным определением белков (например, alphaLISA). Согласно определенным вариантам осуществления антитела можно применять для лечения пациентов с диагностированным раком. Согласно определенным вариантам осуществления злокачественная опухоль содержит одну или несколько раковых стволовых клеток или представляет собой одну или несколько раковых стволовых клеток.

[00114] Согласно определенным вариантам осуществления раскрытые в настоящем

документе антитела пригодны для лечения опухолей в случае форм рака, при которых экспрессируется рецептор LIF (CD118). Положительная по рецептору LIF опухоль может быть определена с помощью гистопатологического исследования или проточной цитометрии, и согласно определенным вариантам осуществления содержит клетку, которая связывает антитело к рецептору LIF с кратностью более 2×, 3×, 3×, 4×, 5×, 10× или больше, в сравнении с изотипическим контролем. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль характеризуется приобретенной эктопической экспрессией рецептора LIF. Согласно определенному варианту осуществления рак предусматривает раковую стволовую клетку. Согласно определенному варианту осуществления LIF-положительные опухоль или рак могут быть определены с помощью иммуногистохимического исследования с применением антитела к LIF. Согласно определенному варианту осуществления LIF-положительную опухоль определяют с помощью ИHC-анализа в соответствии с уровнем LIF в 10%, 20%, 30%, 40% или 50% опухолей по максимальному значению.

[00115] Описанные в настоящем документе антитела влияют на множество исходов. Согласно определенному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела, по сравнению с контрольным антителом (например, изотипическим контролем), могут обеспечивать уменьшение присутствия макрофагов M2 в опухолях по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60 %, 70%, 80%, 90% или больше в модели опухоли. Макрофаги M2 могут быть идентифицированы с помощью окрашивания по CCL22 и CD206 в ИHC-срезах или с помощью проточной цитометрии инфильтрирующих опухоль иммунных или миелоидных клеток. Согласно определенному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела, по сравнению с контрольным антителом (например, изотипическим контролем), могут обеспечивать снижение связывания LIF с gp130 по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60 %, 70%, 80%, 90% или больше. Согласно определенному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела, по сравнению с контрольным антителом (например, изотипическим контролем), могут обеспечивать подавление передачи сигнала с участием LIF по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60 %, 70%, 80%, 90% или больше в LIF-восприимчивой клеточной линии. Передача сигнала с участием LIF может быть определена с помощью, например, вестерн-блоттинга в отношении фосфорилированного STAT3 (нисходящая мишень в рамках передачи сигнала с участием LIF). Антитела в данном случае также являются высокоспецифическими в отношении LIF, в отличие от других представителей цитокинов семейства IL-6. Согласно определенным вариантам осуществления антитела связывают LIF человека с аффинностью, в приблизительно 10×, приблизительно 50× или

приблизительно 100× превышающей таковую любого другого представителя цитокинов семейства IL-6. Согласно определенным вариантам осуществления антитела к LIF не связываются с другими представителями цитокинов семейства IL-6, продуцируемыми в системе экспрессии на основе клеток млекопитающих. Согласно определенным вариантам осуществления антитела не связываются с онкостатином M, продуцированным в системе экспрессии на основе клеток млекопитающих.

[00116] Согласно определенным вариантам осуществления в настоящем документе раскрыты антитела, пригодные для лечения рака или опухоли. Согласно определенным вариантам осуществления рак включает опухоли молочной железы, сердца, легкого, тонкой кишки, толстой кишки, селезенки, почки, мочевого пузыря, головы, шеи, яичника, предстательной железы, головного мозга, поджелудочной железы, кожи, кости, костного мозга, гемобластоз, опухоли тимуса, матки, яичка и печени. Согласно определенным вариантам осуществления опухоли, которые можно лечить с помощью антител по настоящему изобретению, включают аденому, аденокарциному, ангиосаркому, астроцитому, эпителиальную опухоль, герминому, глиобластому, глиому, гемангиоэндотелиому, гемангиосаркому, гематому, гепатобластому, лейкоз, лимфому, медуллобластому, меланому, нейробластому, остеосаркому, ретинобластому, рабдомиосаркому, саркому и/или тератому. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль/рак выбраны из группы акральной лентицинозной меланомы, актинического кератоза, аденокарциномы, аденокистозной карциномы, форм аденомы, аденосаркомы, аденосквамозной карциномы, астроцитом, карциномы бартолиновой железы, базальноклеточной карциномы, карциномы бронхиальных желез, карцинома капилляров, карциномы, карциносаркомы, холангиокарциномы, хондросаркомы, цистаденомы, опухоли эндодермального синуса, гиперплазии эндометрия, эндометриальной стромальной саркомы, эндометриоидной аденокарциномы, эпендимомы, саркомы Юинга, фокальной нодулярной гиперплазии, опухоли желудка, герминогенных опухолей, глиобластомы, глюкагономы, гемангиобластомы, гемангиоэндотелиомы, гемангиомы, аденомы печени, аденоматоза печени, гепатоцеллюлярной карциномы, инсулинита, интраэпителиальной неоплазии, плоскоклеточной интраэпителиальной неоплазии, инвазивной плоскоклеточной карциномы, крупноклеточной карциномы, липосаркомы, карциномы легкого, лимфобластного лейкоза, лимфоцитарного лейкоза, лейомиосаркомы, меланомы, злокачественной меланомы, злокачественной мезотелиомы, опухоли оболочки нерва, медуллобластомы, медуллоэпителиомы, мезотелиомы, мукоэпидермоидной карциномы, миелоидного лейкоза, нейробластомы, нейроэпителиальной аденокарциномы, нодулярной меланомы, остеосаркомы, карциномы

яичника, серозной папиллярной аденокарциномы, опухолей гипофиза, плазмоцитомы, псевдосаркомы, карциномы предстательной железы, легочной бластомы, почечно-клеточной карциномы, ретинобластомы, рабдомиосаркомы, саркомы, серозной карциномы, плоскоклеточной карциномы, мелкоклеточной карциномы, карциномы мягких тканей, соматостатин-секретирующей опухоли, сквамозно-клеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы, недифференцированной карциномы, увеальной меланомы, веррукозной карциномы, карциномы влагалища/вульвы, ВИПомы и опухоли Вильмса. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль/рак, подлежащие лечению с помощью одного или нескольких антител по настоящему изобретению, включают опухоль головного мозга, рак головы и шеи, карциному толстой и прямой кишки, острый миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз из предшественников В-клеток, рак мочевого пузыря, астроцитому, предпочтительно астроцитому II, III или IV стадии, глиобластому, мультиформную глиобластому, мелкоклеточный рак и немелкоклеточный рак, предпочтительно немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, метастатическую меланому, андроген-независимый метастатический рак предстательной железы, андроген-зависимый метастатический рак предстательной железы, аденокарциному предстательной железы и рак молочной железы, предпочтительно протоковый рак молочной железы и/или карциному молочной железы. Согласно определенным вариантам осуществления рак, который лечат с помощью антител по настоящему раскрытию, включает глиобластому. Согласно определенным вариантам осуществления рак, который лечат с помощью одного или нескольких антител по настоящему раскрытию, включает рак поджелудочной железы. Согласно определенным вариантам осуществления рак, который лечат с помощью одного или нескольких антител по настоящему раскрытию, включает рак яичника. Согласно определенным вариантам осуществления рак, который лечат с помощью одного или нескольких антител по настоящему раскрытию, включает рак легкого. Согласно определенным вариантам осуществления рак, который лечат с помощью одного или нескольких антител по настоящему раскрытию, включает рак предстательной железы. Согласно определенным вариантам осуществления рак, который лечат с помощью одного или нескольких антител по настоящему раскрытию, включает рак толстой кишки. Согласно определенным вариантам осуществления подлежащий лечению рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого. Согласно определенному варианту осуществления рак является рефрактерным к другому лечению. Согласно определенному варианту осуществления подлежащий лечению рак является рецидивирующим. Согласно определенному варианту

осуществления рак представляет собой рецидивирующие/рефрактерные глиобластома, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

Терапевтические способы

[00117] Согласно определенным вариантам осуществления антитела можно вводить любым путем, подходящим для введения содержащих антитело фармацевтических композиций, как, например, подкожным, внутривенным, внутримышечным, внутриопухолевым или интрацеребральным путем и т. д. Согласно определенным вариантам осуществления антитела вводят внутривенно. Согласно определенным вариантам осуществления антитела вводят с использованием подходящей схемы применения, например, каждую неделю, два раза в неделю, каждый месяц, два раза в месяц и т. д. Согласно определенным вариантам осуществления антитела вводят один раз каждые три недели. Антитела можно вводить в любом терапевтически эффективном количестве. Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг. Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 40 мг/кг. Согласно определенным вариантам осуществления терапевтически приемлемое количество составляет от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг.

Дополнительные терапевтические средства

[00118] Согласно определенным вариантам осуществления антитела можно вводить одновременно или в ходе лечения с дополнительным терапевтическим средством. Согласно определенным вариантам осуществления терапевтическое средство содержит рекомбинантный белок или моноклональное антитело. Согласно определенным вариантам осуществления рекомбинантный белок или моноклональное антитело включает этарацизумаб (Abegrin), такатузумаб тетраксетан, бевацизумаб (Avastin), лабетузумаб, цетуксимаб (Erbix), обинутузумаб (Gazyva), трастузумаб (Herceptin), кливатузумаб, трастузумаб эмтанзин (Kadcyla), рамуцирумаб, ритуксимаб (MabThera, Rituxan), гемтузумаб озогамицин (Mylotarg), пертузумаб (Omnitarg), гирентуксимаб (Rencarex) или нимотузумаб (Therasim, Theraloc). Согласно определенным вариантам осуществления моноклональное антитело предусматривает иммуномодулятор, нацеленный на ингибитор контрольной точки, например, PD-1 или CTLA-4. Согласно определенным вариантам осуществления иммуномодулятор включает ниволумаб, ипилимумаб, атезолизумаб или пембролизумаб. Согласно определенным вариантам осуществления дополнительное

терапевтическое средство представляет собой химиотерапевтическое средство. Согласно определенным вариантам осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой алкилирующее средство (например, циклофосфамид, ифосфамид, хлорамбуцил, бусульфан, мелфалан, хлорметин, урамустин, тиотепу, нитрозомочевины или темозоломид), антрациклин (например, доксорубин, адриамицин, даунорубин, эпирубин или митоксантрон), средство, нарушающее структуру цитоскелета (например, паклитаксел или доцетаксел), ингибитор деацетилазы гистонов (например, вориностат или ромидепсин), ингибитор топоизомеразы (например, иринотекан, топотекан, амсакрин, этопозид или тенипозид), ингибитор киназы (например, бортезомиб, эрлотиниб, gefitinib, иматиниб, вемурафениб или висмодегиб), аналог нуклеозида или аналог предшественника (например, азациитидин, азатиоприн, капецитабин, цитарабин, фторурацил, гемцитабин, гидроксимочевину, меркаптопурин, метотрексат или тиогуанин), пептидный антибиотик (например, актиномицин или блеомицин), средство на основе платины (например, цисплатин, оксалоплатин или карбоплатин) или растительный алкалоид (например, винкристин, винбластин, винорелбин, виндезин, подофиллотоксин, паклитаксел или доцетаксел). Согласно некоторым вариантам осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой аналог нуклеозида. Согласно некоторым вариантам осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой гемцитабин. Согласно определенным вариантам осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой лучевую терапию.

Фармацевтически приемлемые носители

[00119] Согласно определенным вариантам осуществления антитела по настоящему раскрытию вводят в суспендированном в стерильном растворе виде. Согласно определенным вариантам осуществления раствор предусматривает физиологически приемлемую концентрацию соли (например, NaCl). Согласно определенным вариантам осуществления раствор содержит от приблизительно 0,6% до 1,2% NaCl. Согласно определенным вариантам осуществления раствор содержит от приблизительно 0,7% до 1,1% NaCl. Согласно определенным вариантам осуществления раствор содержит от приблизительно 0,8% до 1,0% NaCl. Согласно определенным вариантам осуществления высококонцентрированный исходный раствор антитела может быть разбавлен в приблизительно 0,9% NaCl. Согласно определенным вариантам осуществления раствор содержит приблизительно 0,9% NaCl. Согласно определенным вариантам осуществления раствор дополнительно содержит одно или несколько из: буферы, например, ацетатный, цитратный, гистидиновый, сукцинатный, фосфатный, бикарбонатный и гидроксиметиламинометановый (Tris) буферы; поверхностно-активные вещества,

например, полисорбат 80 (Tween 80), полисорбат 20 (Tween 20), полисорбат и полоксамер 188; полиол/дисахарид/полисахариды, например, глюкоза, декстроза, манноза, маннит, сорбит, сахароза, трегалоза и декстран 40; аминокислоты, например, гистидин, глицин или аргинин; антиоксиданты, например, аскорбиновая кислота, метионин; и хелатирующие средства, например, EGTA или EGTA. Согласно определенным вариантам осуществления антитела по настоящему раскрытию поставляются/хранятся в лиофилизированном виде, и разбавляются перед введением. Согласно определенным вариантам осуществления лиофилизированные составы антител содержат объемобразующее средство, такое как маннит, сорбит, сахароза, трегалоза и декстран 40. Согласно определенному варианту осуществления антитела к LIF по настоящему раскрытию могут поставляться и храниться в виде концентрированного исходного раствора, который должен быть разбавлен в месте применения, подлежащем лечению. Согласно определенным вариантам осуществления исходный раствор содержит приблизительно 25 мМ гистидина, приблизительно 6% сахарозы, приблизительно 0,01% полисорбата и приблизительно 20 мг/мл антитела к LIF.

Примеры

[00120] Следующие иллюстративные примеры представляют варианты осуществления программных средств, систем и способов, описанных в настоящем документе, и никоим образом не предназначены для ограничения.

Пример 1. Получение антител крысы, специфических в отношении LIF.

[00121] В экспрессионные плазмиды (Aldevron GmbH, Фрайбург, Германия) клонировали кДНК, кодирующую аминокислоты 23-202 LIF человека. Группы лабораторных крыс (Wistar) иммунизировали путем внутрикожного введения покрытых ДНК частиц золота с применением портативного прибора для бомбардировки частицами («генная пушка»). Экспрессию на клеточной поверхности транзистентно трансфицированных клеток НЕК подтверждали с помощью антител к метке, распознающих метку, добавляемую к N-концу белка LIF. После серии иммунизаций собирали образцы сыворотки крови, и тестировали их с помощью проточной цитометрии в отношении клеток НЕК, транзистентно трансфицированных вышеупомянутыми экспрессионными плазмидами. Вырабатывающие антитело клетки выделяли и сливали с клетками миеломы мыши (Ag8) в соответствии со стандартными процедурами. Гибридомы, вырабатывающие антитела, специфические в отношении LIF, идентифицировали путем скрининга в анализе с использованием проточной цитометрии, как описано выше. Клеточные осадки положительных клеток гибридомы получали с применением защищающего РНК средства (RNAlater, номер по каталогу AM7020 от

ThermoFisher Scientific), и дополнительно обрабатывали для секвенирования переменных доменов антител.

Пример 2. Получение антител мыши, специфических в отношении LIF.

[00122] В экспрессионные плазмиды (Aldevron GmbH, Фрайбург, Германия) клонировали кДНК, кодирующую аминокислоты 23-202 LIF человека. Группы лабораторных мышей (NMRI) иммунизировали путем внутрикожного введения покрытых ДНК частиц золота с применением портативного прибора для бомбардировки частицами («генная пушка»). Экспрессию на клеточной поверхности транзientно трансфицированных клеток НЕК подтверждали с помощью антител к метке, распознающих метку, добавляемую к N-концу белка LIF. После серии иммунизаций собирали образцы сыворотки крови, и тестировали их с помощью проточной цитометрии в отношении клеток НЕК, транзientно трансфицированных вышеупомянутыми экспрессионными плазмидами. Вырабатывающие антитело клетки выделяли и сливали с клетками миеломы мыши (Ag8) в соответствии со стандартными процедурами. Гибридомы, вырабатывающие антитела, специфические в отношении LIF, идентифицировали путем скрининга в анализе с использованием проточной цитометрии, как описано выше. Клеточные осадки положительных клеток гибридомы получали с применением защищающего РНК средства (RNAlater, номер по каталогу AM7020 от ThermoFisher Scientific), и дополнительно обрабатывали для секвенирования переменных доменов антител.

Пример 3. Гуманизация антител крысы, специфических в отношении LIF.

[00123] Один клон после иммунизации крысы (5D8) был выбран для последующей гуманизации. Гуманизацию проводили с применением стандартных способов прививания CDR. Области тяжелой цепи и легкой цепи клонировали из гибридомы 5D8 с применением стандартных методов молекулярного клонирования, и секвенировали по способу Сенгера. Затем проводили поиск с использованием BLAST в отношении последовательностей переменных областей тяжелой цепи и легкой цепи человека, и из каждого типа были выбраны 4 последовательности в качестве акцепторных каркасных областей для гуманизации. Эти акцепторные каркасные области подвергали деиммунизации с удалением эпитопов, вызывающих T-клеточную иммунную реакцию. CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и легкой цепи 5D8 клонировали в 4 разные акцепторные каркасные области тяжелой цепи (от H1 до H4) и 4 разные каркасные области легкой цепи (от L1 до L4). Затем все 16 разных антител тестировали в отношении экспрессии в CHO-S клетках (Selexis); ингибирования LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3; и аффинности связывания с помощью метода поверхностного

плазмонного резонанса (SPR). Результаты этих экспериментов приведены в **таблице 1**.

Таблица 1. Краткое описание гуманизации 5D8.			
Комбинация тяжелых цепей и легких цепей	Ингибирование LIF-индуцированного pSTAT3 из фиг. 1	Аффинность по SPR K_{D1} (пМ)	Экспрессия (мкг/мл)
H0L0	+++	133±46	393
H1L1	-	N/A	627
H1L2	+++	55±23	260
H1L3	+++	54±31	70
H1L4	-	N/A	560
H2L1	-	N/A	369
H2L2	+++	52±22	392
H2L3	++	136±19	185
H2L4	-	N/A	78
H3L1	N/A	N/A	Экспрессия отсутствует
H3L2	N/A	N/A	Экспрессия отсутствует
H3L3	N/A	N/A	Экспрессия отсутствует
H3L4	N/A	N/A	Экспрессия отсутствует
H4L1	-	N/A	259
H4L2	++	913±308	308
H4L3	+		252
H4L4	-	N/A	186
N/A = не исследовали; H0L0 = химерное антитело с полностью крысиными переменными областями тяжелой и легкой цепей			

[00124] Эффективность экспрессии трансфицированных клеток сравнивали в колбах Эрленмейера (высевали 3×10^5 клеток/мл, объем культуры 200 мл) в рамках культивирования с подпиткой спустя 10 дней культивирования клеток. На этой стадии клетки собирали, и секретированное антитело очищали с применением колонки с белком А, а затем подвергали количественному определению. Все гуманизированные антитела были экспрессированы, за исключением таковых, полученных с применением тяжелой

цепи H3.

[00125] Ингибирование LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3 по тирозину 705 определяли с помощью вестерн-блоттинга. Клетки глиомы U251 высевали в 6-луночные планшеты при плотности 100000 клеток/лунку. Клетки культивировали в полной среде в течение 24 часов перед какой-либо обработкой и после нее, клетки подвергали сывороточному голоданию в течение 8 часов. После этого клетки инкубировали с указанными антителами в течение ночи при концентрации 10 мкг/мл. После обработки белки получали в буфере для лизиса для радиоиммунопреципитационного анализа (RIPA), содержащем ингибиторы фосфатаз и протеаз, подвергали количественному определению (белковый анализ BCA, Thermo Fisher Scientific) и применяли в вестерн-блоттинге. Для проведения вестерн-блоттинга мембраны блокировали в течение 1 часа в 5% обезжиренном сухом молоке - TBST и инкубировали с первичным антителом в течение ночи (p-STAT3, номер по каталогу 9145, Cell Signaling или STAT3, номер по каталогу 9132, Cell Signaling) или в течение 30 минут (β -актин-пероксидаза, номер по каталогу A3854, Sigma-Aldrich). Затем мембраны промывали TBST, инкубировали со вторичным антителом и снова промывали. Белки выявляли по хемилюминесценции (субстрат SuperSignal, номер по каталогу 34076, Thermo Fisher Scientific). Эти результаты показаны на **фиг. 1**. Чем темнее полоска pSTAT3, тем меньшая степень ингибирования имеет место. Степень ингибирования была высокой в случае дорожек, обозначенных 5D8 (негуманизированное антитело крысы), A (H0L0), C (H1L2), D (H1L3) и G (H2L2); степень ингибирования была средней в случае H (H2L3), O (H4L2) и P (H4L3); ингибирование отсутствовало в случае B (H1L1), E (H1L4), F (H2L1), I (H2L4), N (H4L1) и Q (H4L4).

[00126] Антитела, которые характеризовались ингибированием LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3, затем анализировали с помощью SPR с целью определения аффинности связывания. Вкратце, связывание гуманизированных антител A (H0L0), C (H1L2), D (H1L3) и G (H2L2), H (H2L3) и O (H4L2) со связанным с аминокислотной группой hLIF наблюдали с применением прибора Biacore™ 2002. Кинетические константы и показатели аффинности определяли путем математической аппроксимации сенсограммы (ленгмюровская модель взаимодействий [$A + B = AB$]) для всех сенсограмм, полученных на всех поверхностях сенсорных чипов при шести концентрациях лигандов. Оптимально аппроксимированные кривые (минимум хи-квадрат) для каждой концентрации применяли для расчета кинетических констант и показателей аффинности. См. **таблицу 1**.

[00127] Поскольку в экспериментальной модели применяли бивалентные антитела

в качестве аналитов, оптимально аппроксимированные сенсограммы также анализировали на основе модели аппроксимации для бивалентных аналитов [$A+B = AB$; $AB+B = AB_2$] с целью получения более подробного представления о механизме связывания мишени гуманизированными антителами. С помощью кинетического анализа сенсограмм с применением модели аппроксимации для бивалентных аналитов [$A+B = AB$; $AB+B = AB_2$] подтверждали относительное упорядочение аффинности для образцов mAb.

[00128] Гуманизированное 5D8, содержащее H2 и L2, было выбрано для более подробного анализа ввиду его высокой аффинности связывания и высокого выхода в периодической культуре.

Пример 4. Гуманизация клона 5D8 обеспечивает улучшение связывания LIF.

[00129] Авторы настоящего изобретения выбрали клон H2L2 (h5D8) для дополнительного анализа и сравнили связывание с помощью SPR с таковым исходного 5D8 крысы (r5D8) и клона 1B2 мыши. Антитело 1B2 представляет собой ранее раскрытое антитело мыши к LIF, ранее депонированное в Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур GmbH (DSM ACC3054), и оно было включено в целях сравнения. Рекомбинантный LIF человека, очищенный соответственно из *E.coli* и клеток HEK-293, применяли в качестве лигандов. LIF из организма человека или *E. coli* в качестве источников ковалентно связывали с поверхностью оптических сенсорных чипов Biacore с применением реакции сочетания по аминокислотной группе, и рассчитывали показатели аффинности связывания на основе кинетических констант.

Материалы и способы

[00130] LIF человека из *E.coli* был получен от Millipore, идентификатор LIF 1010; LIF человека из клеток HEK-293 был получен от ACRO Biosystems, идентификатор LIF-H521b. LIF связывали с сенсорными чипами с применением набора для сочетания по аминокислотной группе Biacore (BR-1000-50; GE-Healthcare, Уппсала). Образцы анализировали на приборе Biacore™ 2002 с применением оптических сенсорных чипов CM5 (BR-1000-12; GE-Healthcare, Уппсала). Буфер Biacore HBS-EP применяли в ходе работы прибора (BR-1001-88; GE-Healthcare, Уппсала). Кинетический анализ сенсограмм связывания осуществляли с применением программного обеспечения BIAevaluation 4.1. Кинетические константы и показатели аффинности определяли путем математической аппроксимации сенсограммы (ленгмюровская модель взаимодействий [$A + B = AB$]) для всех сенсограмм, полученных на всех поверхностях сенсорных чипов при возрастающих концентрациях аналитов. Сенсограммы также анализировали на основе модели аппроксимации сенсограмм для бивалентных аналитов [$A+B = AB$; $AB+B = AB_2$], включая компонентный анализ, с целью получения оценки вклада бивалентного антитела в определенные по

ленгмюровской модели показатели аффинности антитело-мишень (например, вклад в авидность). Оптимально аппроксимированные кривые (минимум хи-квадрат) для каждой концентрации применяли для расчета кинетических констант и показателей аффинности. Краткие обзоры результатов таких экспериментов по аффинности показаны в **таблице 2** (LIF человека, полученный в *E.coli*) и **таблице 3** (LIF человека, полученный в клетках НЕК 293).

Таблица 2. Улучшенное связывание 5D8 после гуманизации.	K _D [пМ]	
	Аппроксимация сенсограмм с применением ленгмюровской модели связывания 1:1	Аппроксимация для бивалентных аналитов
hLIF (<i>E. coli</i>)	400±210	1500±200
1B2 мыши	400±210	1500±200
r5D8 (крыса)	130±30	780±130
h5D8 (гуманизированное)	26±14	82±25

Таблица 3. Улучшенное связывание 5D8 после гуманизации.	K _D [пМ]	
	Аппроксимация сенсограмм с применением ленгмюровской модели связывания 1:1	Аппроксимация для бивалентных аналитов
hLIF (НЕК 293)	320±150	3900±900
1B2 мыши	320±150	3900±900
r5D8 (крыса)	135±100	410±360
h5D8 (гуманизированное)	13±6	63±30

[00131] Модель аппроксимации сенсограмм для ленгмюровского связывания 1:1 из этой серии экспериментов свидетельствует о том, что гуманизированное антитело 5D8 (h5D8) связывается с LIF человека с аффинностью, в ~10-25 раз превышающей таковую в случае 1B2 и r5D8 мыши.

[00132] Затем антитело h5D8 тестировали в отношении LIF нескольких видов с помощью SPR. Определение параметров кинетики связывания h5D8 в SPR осуществляли

для анализов рекомбинантных LIF, полученных от разных видов и систем экспрессии: LIF человека (*E.coli*, клетки HEK293); LIF мыши (*E.coli*, клетки CHO); LIF крысы (*E.coli*); LIF яванского макака (дрожжи, клетки HEK293).

Материалы и способы

[00133] Антитело h5D8 иммобилизовали на поверхности сенсорного чипа путем нековалентного Fc-специфического захвата. В качестве средства для захвата применяли рекомбинантный Ig(Fc)-специфический белок A/G *S. aureus*, что обеспечивало стерически равномерное и гибкое представление антитела к LIF анализам LIF. Ниже представлены источники анализов LIF: LIF человека (из *E.coli*; Millipore, идентификатор LIF 1050); LIF человека (из клеток HEK ACRO Biosystems LIF-H521); LIF мыши (*E. coli*; Millipore номер по каталогу NF-LIF2010); LIF мыши (из клеток CHO; ReproKine, номер по каталогу RCP09056); LIF обезьяны (дрожжи, Kingfisher Biotech, номер по каталогу RP1074Y); LIF обезьяны, полученный в клетке HEK-293. В целом, h5D8 характеризовалось связыванием с LIF от нескольких видов. Краткий обзор результатов эксперимента по аффинности показан в **таблице 4**.

Таблица 4. Широкая межвидовая реактивность гуманизованного 5D8.	Аппроксимация сенсограмм с применением ленгмюровской модели связывания 1:1		
Аналит	средняя K_a (1/мс)[10^5]	средняя K_d (1/с) [10^{-5}]	средняя K_D [пМ]
LIF человека (<i>E.coli</i>)	8,5 ± 0,7	7,2 ± 0,7	86 ± 9
LIF человека (HEK-293)	5,5 ± 0,02	3,1 ± 0,7	56 ± 13
LIF мыши (<i>E.coli</i>)	21,4 ± 3,7	5,7 ± 1,0	27 ± 6
LIF мыши (клетки CHO)	6,5 ± 0,7	1,1 ± 0,3	17 ± 4
LIF яванского макака (дрожжи)	6,3 ± 0,8	5,4 ± 0,7	89 ± 10
LIF яванского макака (HEK-293)	2,4 ± 0,2	3,3 ± 0,3	134 ± 6

Пример 5. Гуманизованный клон 5D8 ингибирует LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3 in vitro.

[00134] Для определения биологической активности h5D8 гуманизованные и исходные версии тестировали в модели активации LIF на культуре клеток. На **фиг. 2А** показано, что гуманизованный клон характеризовался повышенным ингибированием фосфорилирования STAT3 (Туг 705) в случае, когда клеточную линию глиомы инкубировали с LIF человека. На **фиг. 2В** показаны результаты эксперимента с такой же

схемой, как на **фиг. 2А**, повторенного с разными разведениями антитела h5D8.

Способы

[00135] Клетки глиомы U251 высевали в 6-луночные планшеты при плотности 150000 клеток/лунку. Клетки культивировали в полной среде в течение 24 часов перед какой-либо обработкой. После этого клетки обрабатывали в течение ночи антителом к LIF r5D8 или антителом к LIF h5D8 при концентрации 10 мкг/мл, или не обрабатывали их (контрольные клетки).

[00136] После обработки белки получали в буфере для лизиса для радиоиммунопреципитационного анализа (RIPA), содержащем ингибиторы фосфатаз и протеаз, подвергали количественному определению (белковый анализ BCA, Thermo Fisher Scientific) и применяли в вестерн-блоттинге. Для проведения вестерн-блоттинга мембраны блокировали в течение 1 часа в 5% обезжиренном молоке - TBST и инкубировали с первичным антителом в течение ночи (p-STAT3, номер по каталогу 9145, Cell Signaling или STAT3, номер по каталогу 9132, Cell Signaling) или в течение 30 минут (β -актин-пероксидаза, номер по каталогу A3854, Sigma-Aldrich). Затем мембраны промывали TBST, инкубировали со вторичным антителом, при необходимости, и снова промывали. Белки выявляли по хемилюминесценции (субстрат SuperSignal, номер по каталогу 34076, Thermo Fisher Scientific).

Пример 6. Значение IC_{50} для обработки антителом h5D8 в отношении эндогенных уровней LIF в клетках U-251.

[00137] Авторы настоящего изобретения также определили IC_{50} менее 490 пикомоль (**фиг. 3А**) для биологического ингибирования в случае h5D8 в условиях сывороточного голодания в клетках U-251. См. репрезентативные результаты **фиг. 3А** и **3В** и **таблицы 5**.

Ткань-источник клеточной линии	Название клеточной линии	Обработка	IC_{50} (нМ)				IC_{90} (нМ)	Ингибирование JAK (%)
			n=1	n=2	Среднее	SD		
Условия эндогенного LIF			n=1	n=2	Среднее	SD	Среднее	Среднее
GBM	U251	h5D8	0,78	0,54	0,66	0,12	4,1	84%
		r5D8	1,6	1,5	1,4	0,15	8,5	86%

			1,2	1,4				
--	--	--	-----	-----	--	--	--	--

Способы

[00138] Клетки U-251 высевали при концентрации 600000 клеток на 6 см чашку (на условие). Клетки обрабатывали h5D8 в соответствующей концентрации (титрование) в течение ночи при 37°C, в условиях сывороточного голодания (0,1% FBS). В качестве положительного контроля для pSTAT3 применяли рекомбинантный LIF (R&D №7734-LF/CF) для стимуляции клеток при 1,79 нМ в течение 10 мин при 37°C. В качестве отрицательного контроля для pSTAT3 применяли ингибитор JAK I (Calbiochem №420099) при 1 мкМ в течение 30 мин при 37°C. Затем клетки собирали на льду для получения лизатов согласно протоколу из набора для системы анализа Meso Scale Discovery общего STAT3 (номер по каталогу K150SND-2) и фосфо-STAT3 (Tyr705) (номер по каталогу K150SVD-2) в микропланшетах Multi-Spot с целью измерения уровней белка, выявляемых с помощью MSD Meso Sector S600.

Пример 7. Дополнительные антитела, которые специфически связываются с LIF человека.

[00139] Идентифицировали другие клоны антитела крысы (10G7 и 6B5), которые специфически связывают LIF человека, и краткий обзор их характеристик связывания показан ниже в **таблице 6**, причем клон 1B2 служил для сравнения.

Способы

[00140] Кинетический анализ связывания в режиме реального времени осуществляли для mAb к LIF 1B2, 10G7 и 6B5, иммобилизованных на поверхности оптических сенсорных чипов CM5, с применением рекомбинантных целевых белков LIF [LIF человека (*E.coli*); Millipore, номер по каталогу LIF 1010 и LIF человека (клетки HEK293); ACRO Biosystems, номер по каталогу LIF-H521b] в качестве аналитов.

[00141] Кинетические константы и показатели аффинности получали путем математической аппроксимации сенсограммы с применением ленгмюровской модели связывания 1:1 с использованием алгоритмов для общей аппроксимации (для одновременной аппроксимации набора сенсограмм), а также для аппроксимации отдельной кривой. Достоверность общих аппроксимаций оценивали с помощью анализа k_{obs} .

Таблица 6. Измерения аффинности дополнительных антител к LIF.		Аппроксимация сенсограмм с применением ленгмюровской модели связывания 1:1		
Аналит	клон	средняя K_a (1/мс)	средняя K_d (1/с)	средняя K_D [нМ]
LIF человека (<i>E.coli</i>)	1B2	$1,1 \pm 0,4E5$	$1,1 \pm 0,3E-3$	$9,7 \pm 1,4$
LIF человека (НЕК-293)	1B2	$2,0 \pm 0,04E6$	$1,4 \pm 0,2E-3$	$0,7 \pm 0,03$
LIF человека (<i>E.coli</i>)	10G7	$7,9 \pm 5,8E4$	$6,0 \pm 2,3E-4$	$12,6 \pm 9,5$
LIF человека (НЕК-293)	10G7	$3,6 \pm 1,75E5$	$3,1 \pm 0,5E-4$	$1,1 \pm 0,6$
LIF человека (<i>E.coli</i>)	6B5	N/A	N/A	N/A
LIF человека (НЕК-293)	6B5	$3,6 \pm 1,7E5$	$3,1 \pm 0,5E-4$	62 ± 6

Пример 8. Дополнительные антитела к LIF ингибируют LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3 *in vitro*.

[00142] Дополнительные клоны тестировали в отношении их способности ингибировать LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3 в культуре клеток. Как показано на **фиг. 4**, клоны 10G7 и ранее подробно описанное r5D8 характеризовались высокой степенью ингибирования LIF-индуцированного фосфорилирования STAT3 по сравнению с клоном 1B2. Поликлональная антисыворотка к LIF (пол.) была включена в качестве положительного контроля. Хотя 6B5 не характеризовалось каким-либо ингибированием, это можно объяснить вероятным отсутствием связывания 6B5 с негликозилированным LIF, который применяли в этом эксперименте.

Способы

[00143] Полученные от пациента клетки глиомы высевали в 6-луночные планшеты при плотности 150000 клеток/лунку. Клетки культивировали в среде для GBM, которая состояла из среды Neurobasal (Life Technologies), дополненной B27 (Life Technologies), пенициллином/стрептомицином и ростовыми факторами (20 нг/мл EGF и 20 нг/мл FGF-2

[PerroTech]) в течение 24 часов перед какой-либо обработкой. На следующий день клетки не обрабатывали, или обрабатывали рекомбинантным LIF, полученным в *E. coli*, или смесью рекомбинантного LIF и указанных антител в течение 15 минут (конечная концентрация 10 мкг/мл для антител и 20 нг/мл для рекомбинантного LIF). После обработки белки получали в буфере для лизиса для радиоиммунопреципитационного анализа (RIPA), содержащем ингибиторы фосфатаз и протеаз, подвергали количественному определению (белковый анализ BCA, Thermo Fisher Scientific) и применяли в вестерн-блоттинге. Для проведения вестерн-блоттинга мембраны блокировали в течение 1 часа в 5% обезжиренном молоке - TBST и инкубировали с первичным антителом в течение ночи (p-STAT3, номер по каталогу 9145, Cell Signaling) или в течение 30 минут (β -актин-пероксидаза, номер по каталогу A3854, Sigma-Aldrich). Затем мембраны промывали TBST, инкубировали со вторичным антителом, при необходимости, и снова промывали. Белки выявляли по хемилюминесценции (субстрат SuperSignal, номер по каталогу 34076, Thermo Fisher Scientific).

Пример 9. LIF на высоком уровне сверхэкспрессирован во множестве типов опухолей.

[00144] Для определения уровня экспрессии LIF на множестве типов опухолей человека проводили иммуногистохимическое исследование. Как показано на **фиг. 5**, LIF на высоком уровне экспрессирован при мультиформной глиобластоме (GBM), немелкоклеточном раке легкого (NSCLC), раке яичника и раке толстой и прямой кишки (CRC).

Пример 10. Гуманизированный клон h5D8 ингибирует рост опухоли в мышинной модели немелкоклеточной карциномы легкого.

[00145] Для определения способности гуманизированного клона 5D8 ингибировать LIF-положительный рак *in vivo* это антитело тестировали в мышинной модели немелкоклеточной карциномы легкого (NSCLC). На **фиг. 6** показан сниженный темп роста опухоли у мышей, которых обрабатывали этим антителом, по сравнению со средой-носителем в качестве отрицательного контроля.

Способы

[00146] Клеточную линию немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) мыши KLN205 с высокими уровнями LIF стабильно инфицировали лентивирусом, экспрессирующим ген люциферазы светлячка для отслеживания биолуминесценции *in vivo*. Для создания мышинной модели 5×10^5 клеток немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) KLN205 ортотопически имплантировали в левое легкое 8-недельных не страдающих иммунодефицитом сингенных мышей DBA/2 путем межреберной пункции.

Мышей внутрибрюшинно два раза в неделю обрабатывали контрольной средой-носителем или 15 мг/кг или 30 мг/кг антитела h5D8, и отслеживали рост опухоли по биолюминесценции. Для визуализации биолюминесценции мыши получали внутрибрюшинную инъекцию 0,2 мл 15 мг/мл D-люциферина под анестезией с использованием ингаляции 1–2% изофлураном. Сигналы биолюминесценции отслеживали с применением системы IVIS 2000 series (Xenogen Corp., Аламида, Калифорния, США), состоящей из высокочувствительной охлаждаемой камеры CCD. Программное обеспечение Living Image (Xenogen Corp.) применяли для привязки данных визуализации и интеграции всей совокупности сигналов биолюминесценции в каждой выделенной области. Данные анализировали с помощью измерения суммарного потока излучаемых фотонов (фотонов/секунда) в представляющих интерес областях (ROI). Из результатов видно, что обработка антителом h5D8 стимулирует регрессию опухоли. Данные представлены как среднее \pm SEM.

Пример 11. h5D8 ингибирует рост опухоли в мышинной модели мультиформной глиобластомы.

[00147] В ортотопической модели опухоли GBM с применением экспрессирующей люциферазу клеточной линии U251 человека, r5D8 обеспечивало существенное снижение показателей объема опухоли у мышей, которым вводили 300 мкг r5D8 и h5D8 путем внутрибрюшинной (IP) инъекции два раза в неделю. Результаты этого исследования показаны на **фиг. 7А** (количественное определение в день 26 после обработки). Этот эксперимент также проводили с применением гуманизированного h5D8, причем у мышей, которых обрабатывали 200 мкг или 300 мкг, наблюдали статистически значимое уменьшение опухоли спустя 7 дней обработки.

Способы

[00148] Клетки U251, стабильно экспрессирующие люциферазу, собирали, промывали в PBS, центрифугировали при 400 g в течение 5 мин, ресуспендировали в PBS, и подсчитывали с помощью автоматического счетчика клеток (Countess, Invitrogen). Клетки хранили на льду для поддержания оптимальной жизнеспособности. Мышей анестезировали с помощью внутрибрюшинного введения кетамина (Ketolar50®)/ксилазина (Rompún®) (75 мг/кг и 10 мг/кг соответственно). Каждую мышь осторожно помещали в стереотаксическое устройство и иммобилизовали. Шерсть с головы удаляли с использованием крема для удаления волос, и кожу головы срезали скальпелем, чтобы обнажить череп. С помощью трепана аккуратно делали небольшое отверстие по координатам 1,8 латерально и 1 мм фронтально относительно лямбда. С применением шприца Hamilton 30G 5 мкл клеток инокулировали в правое полосатое тело,

с погружением иглы на 2,5 мм. Отверстие в голове закрывали тканевым клеем Hystoacryl (Braun), и мышам путем подкожной инъекции вводили обезболивающий мелоксикам (Metacam®) (1 мг/кг). Конечное число имплантированных каждой мыши клеток составляло 3×10^5 .

[00149] Мышей обрабатывали два раза в неделю h5D8, вводимым внутрибрюшинно. Обработку начинали в день 0, сразу после инокуляции клеток опухоли. В общей сложности мыши получали 2 дозы h5D8 или контрольную среду-носитель.

[00150] Вес тела и объем опухоли: вес тела измеряли 2 раза/неделю, и рост опухоли подвергали количественному определению по биолюминесценции в день 7 (Xenogen IVIS Spectrum). Для количественного определения активности биолюминесценции *in vivo* мышей анестезировали с применением изофлурана, и путем внутрибрюшинной инъекции вводили субстрат люциферин (PerkinElmer) (167 мкг/кг).

[00151] Размер опухоли, определяемый по биолюминесценции (Xenogen IVIS Spectrum), оценивали к дню 7. Рассчитывали показатели отдельных опухолей и среднее \pm SEM для каждой группы обработки. Статистическую значимость определяли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни для непарных выборок.

Пример 12. h5D8 ингибирует рост опухоли в мышинной модели рака яичника.

[00152] Эффективность r5D8 оценивали в двух разных моделях сингенных опухолей. В ортотопической модели опухоли яичника ID8, IP введение 300 мкг r5D8 два раза в неделю обеспечивало существенное ингибирование роста опухоли, измеряемое по абдоминальному объему (**фиг. 8А** и **8В**). Из результатов на **фиг. 8С** видно, что h5D8 также обеспечивало уменьшение объема опухоли в дозе 200 мкг и выше.

Способы

[00153] Клетки ID8 культивировали в среде Игла в модификации Дульбекко (DMEM) (Gibco, Invitrogen), дополненной 10% фетальной телячьей сывороткой (FBS) (Gibco, Invitrogen), 40 Ед/мл пенициллина и 40 мкг/мл стрептомицина (PenStrep) (Gibco, Invitrogen) и 0,25 мкг/мл Plasmocin (Invivogen).

[00154] Клетки ID8 собирали, промывали в PBS, центрифугировали при 400 g в течение 5 мин и ресуспендировали в PBS. Клетки хранили на льду для поддержания оптимальной жизнеспособности, и 200 мкл суспензии клеток вводили путем внутрибрюшинной инъекции с помощью иглы 27G. Конечное число имплантированных мышам клеток составляло 5×10^6 .

[00155] Мышей обрабатывали два раза в неделю h5D8, вводимым *ip* в разных дозах, как указано. Показатели веса тела измеряли 2 раза/неделю, и прогрессирование опухоли отслеживали путем измерения обхвата живота с применением штангенциркуля (Fisher

Scientific).

Пример 13. r5D8 ингибирует рост опухоли в мышечной модели рака толстой и прямой кишки.

[00156] У мышей с подкожными опухолями толстой кишки CT26 r5D8 (вводимое в дозе 300 мкг IP два раза в неделю) обеспечивало существенное ингибирование роста опухоли (**фиг. 9А и 9В**).

Способы

[00157] Клетки CT26 культивировали в среде, разработанной в Мемориальном институте Розуэлл-Парк (RPMI [Gibco, Invitrogen]), дополненной 10% фетальной телячьей сывороткой (FBS), 40 Ед/мл пенициллина и 40 мкг/мл стрептомицина (PenStrep) и 0,25 мкг/мл Plasmocin.

[00158] Клетки CT26 (8×10^5) трипсинизировали, промывали PBS, центрифугировали при 400 g в течение 5 минут и ресуспендировали в 100 мкл PBS. Клетки хранили на льду во избежание гибели клеток. Клетки CT26 вводили мышам посредством подкожной инъекции с применением иглы 27G.

[00159] Мышам посредством внутрибрюшинной инъекции (IP) вводили 300 мкг r5D8, или контрольную среду-носитель, два раза в неделю начиная с дня 3 после имплантации клеток CT26.

[00160] Вес тела и показатели объема опухоли измеряли три раза в неделю. Объем опухоли измеряли с применением штангенциркуля (Fisher Scientific).

Пример 14. r5D8 обеспечивает снижение инфильтрации воспалительных клеток в моделях опухолей.

[00161] В ортотопической модели GBM U251 уровень экспрессии CCL22, маркера поляризованных макрофагов M2, существенно снижался в опухолях, обработанных r5D8, как показано на **фиг. 10А**. Это наблюдение также подтверждалось в физиологически релевантной модели на органотипической культуре тканевых срезов с применением h5D8, в которой для трех образцов от пациентов наблюдали значимое снижение уровня экспрессии CCL22 и CD206 (MRC1) (также маркера макрофагов M2) после обработки, как показано на **фиг. 10В** (ср. верхний левый, контроль, с нижним правым, обработанным, как для MRC1, так и для CCL22). Кроме того, r5D8 также обеспечивало уменьшение числа CCL22⁺ макрофагов M2 в сингенных опухолях ID8 (**фиг. 10С**) и CT26 (**фиг. 10D**) у мышей, не страдающих иммунодефицитом.

Пример 15. r5D8 обеспечивает увеличение числа немиелоидных эффекторных клеток.

[00162] Для изучения дополнительных иммунных механизмов оценивали эффект

г5D8 в отношении Т-клеток и других немиелоидных иммунных эффекторных клеток в пределах микроокружения опухоли. В ортотопической модели сингенной опухоли яичника ID8, обработка г5D8 приводила в результате к увеличению числа внутриопухолевых НК-клеток и увеличению общего числа Т-клеток и активированных CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток, как показано на **фиг. 11А**. Аналогичным образом, в модели сингенной опухоли толстой кишки CT26, г5D8 обеспечивало увеличение числа внутриопухолевых НК-клеток, увеличение числа CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, и проявляло тенденцию к уменьшению числа CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ клеток Т-reg, как показано на **фиг. 11В**. Тенденцию к уменьшению числа CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ клеток Т-reg также наблюдали в ортотопической модели сингенной опухоли KLN205 после обработки г5D8, как показано на **фиг. 11С**. В соответствии с требованием, чтобы Т-клетки обеспечивали эффективность, истощение CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток в модели CT26 приводило к ингибированию противоопухолевой эффективности г5D8, как показано на **фиг. 12**.

Способы истощения Т-клеток

[00163] Клетки CT26 культивировали в культуральной среде RPMI (Gibco, Invitrogen), дополненной 10% фетальной телячьей сывороткой (FBS [Gibco, Invitrogen]), 40 Ед/мл пенициллина и 40 мкг/мл стрептомицина (PenStrep [Gibco, Invitrogen]) и 0,25 мкг/мл Plasmocin (Invivogen). Клетки CT26 (5×10^5) собирали, промывали PBS, центрифугировали при 400 g в течение 5 минут и ресуспендировали в 100 мкл PBS. Клетки хранили на льду во избежание гибели клеток. Клетки CT26 вводили мышам в оба бока посредством подкожной инъекции с применением шприца 27G. Мышей обрабатывали два раза в неделю г5D8, вводимым внутривентрально, как указано в плане исследования. Контрольную среду-носитель (PBS), г5D8 крысы, и/или антитело к CD4 и CD8 вводили мышам посредством внутривентральной инъекции (IP) два раза в неделю, как указано в плане исследования. Все обработки антителом проводили одновременно.

Пример 16. Кристаллическая структура h5D8 в комплексе с LIF человека.

[00164] Кристаллическая структура h5D8 была определена с разрешением 3,1 ангстрема с целью определения эпитопа на LIF, с которым связывалось h5D8, и для определения остатков h5D8, которые участвуют в связывании. По структуре сокристалла было выявлено, что N-концевая петля LIF расположена центрально между переменными областями легкой и тяжелой цепей h5D8 (**фиг. 13А**). Кроме того, h5D8 взаимодействует с остатками спирали А и С LIF, тем самым образуя прерывающийся и конформационный эпитоп. Связывание обусловлено несколькими ионными связями, H-связями и взаимодействиями Ван-дер-Ваальса (**таблица 7, фиг. 13В**). Эпитоп LIF для h5D8 охватывает область взаимодействия с gp130. См., Boulanger, M.J., Bankovich, A.J.,

Kortemme, T., Baker, D. & Garcia, K.C. Convergent mechanisms for recognition of divergent cytokines by the shared signaling receptor gp130. *Molecular cell* 12, 577-589 (2003).

Результаты представлены ниже в **таблице 7** и изображены на **фиг. 13**.

Таблица 7. Краткий обзор рентгеновской кристаллической структуры в случае h5D8 в комплексе с LIF человека.		
Остаток LIF (эпитоп)	Тип взаимодействия	Остаток h5D8 (паратоп, нумерация по Kabat)
Ala13	VDW	L-Tyr49, L-Asn53
Ile14-O	HB	L-Ser50-OG
Ile	VDW	L-His30, L-Tyr32, L-Tyr49, L-Ser50
		H-Trp97
Arg15-NE	SB	L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2
Arg15-NH1	SB	L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2
Arg15-NH2	SB	L-Glu55-OE1, L-Glu55-OE2
Arg15-O	HB	L-Asn34-ND2
Arg15	VDW	L-Asn34, L-Leu46, L-Tyr49, L-Glu55, L-Ser56
		H-Glu96, H-Trp97, H-Asp98, H-Leu99, H-Asp101
His16-NE2	SB	H-Asp101-OD2
His16	VDW	L-Tyr32, L-Asn34, L-Met89
		H-Trp95, H-Glu96, H-Trp97, H-Asp101
Pro17	VDW	L-Tyr32, L-Ala91
		H-Trp97
Cys18	VDW	L-Tyr32
		H-Trp33, H-Trp97
His19-NE2	SB	H-Glu96-OE1, H-Glu96-OE2
His19	VDW	H-His31, H-Trp33, H-Glu96
Asn20-OD1	HB	H-Lys52-NZ
Asn20-ND2	HB	H-Asp53-OD1
Asn20	VDW	H-Trp33, H-Lys52, H-Asp53
Gln25-NE2	HB	H-Asp53-OD2
Gln25	VDW	H-His31, H-Ser52C, H-Asp53

Gln29	VDW	H-His31
Gln32	VDW	H-Lys52B
Asp120-OD2	HB	H-Ser30-OG
Asp120	VDW	H-Thr28, H-Ser30
Arg123-NE	HB	H-Thr28-OG
Arg123	VDW	H-Thr28
Gly124	VDW	H-His31
Leu125	VDW	H-His31
Ser127-OG	HB	H-Asp98-OD2
Ser127-O	HB	H-Trp97-NE1
Ser127	VDW	H-His31, H-Trp97, H-Asp98
Asn128-OD1	HB	H-His31-NE2
Asn128	VDW	H-His31
Leu130	VDW	H-Trp97
Cys131	VDW	H-Trp97
Cys134	VDW	H-Trp97
Ser135-O	HB	L-His30-NE2
Ser135	VDW	L-His30
His138	VDW	L-His30
VDW , силы Ван-дер-Ваальса низкая энергия связывания; HB , водородная связь (средняя энергия связывания); SB , ионная связь (высокая энергия связывания)		

Способы

[00165] LIF транзientно экспрессировался в клетках HEK 293S (Gnt I^{-/-}), и его очищали с применением аффинной хроматографии с использованием Ni-NTA с последующей гельфильтрационной хроматографией в 20 mM Tris pH 8,0 и 150 mM NaCl. Рекомбинантный Fab h5D8 транзientно экспрессировался в клетках HEK 293F, и его очищали с применением аффинной хроматографии KappaSelect с последующей катионообменной хроматографией. Очищенные Fab h5D8 и LIF смешивали в молярном соотношении 1:2,5 и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин перед дегликозилированием с применением EndoH. Затем для очистки комплекса применяли гельфильтрационную хроматографию. Комплекс концентрировали до 20 мг/мл и готовили для исследований по кристаллизации с применением планшетов для кристаллизации типа

sparse matrix (разреженная матрица). Кристаллы образовывались при 4°C в условиях с содержанием 19% (объем/объем) изопропанола, 19% (масса/объем) ПЭГ 4000, 5% (объем/объем) глицерина, 0,095 М цитрата натрия, pH 5,6. Получение дифракционной картины на кристалле производилось до достижения разрешающей способности в 3,1 Å на канале синхротронного излучения 08ID-1 в Canadian Light Source (CLS). Данные собирали, обрабатывали и масштабировали с применением XDS, как в Kabsch et al. Xds. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography* 66, 125-132 (2010). Структуры определяли с помощью молекулярного замещения с применением Phaser, как в McCoy et al. Phaser crystallographic software. *J Appl Crystallogr* 40, 658-674 (2007). Несколько итераций построения модели и уточнение структуры осуществляли с применением Coot и phenix.refine до тех пор, пока структуры не сходились к приемлемым R_{work} и R_{free} . См. Emsley et al. Features and development of Coot. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography* 66, 486-501 (2010); и Adams, et al. PHENIX: a comprehensive Python-based system for macromolecular structure solution. *Acta crystallographica. Section D, Biological crystallography* 66, 213-221 (2010) соответственно. Фигуры были сгенерированы в PyMOL (The PyMOL Molecular Graphics System, версия 2.0 Schrödinger, LLC).

Пример 17. h5D8 характеризуется высокой специфичностью в отношении LIF.

[00166] Авторы настоящего изобретения попытались протестировать связывание h5D8 с другими членами семейства LIF с целью определения специфичности связывания. С применением анализа Octet96 было определено, что связывание h5D8 с LIF человека примерно в 100 раз превышает связывание с наиболее близким гомологом LIF, членом семейства IL-6 онкостатином M (OSM), при продуцировании обоих белков в *E. coli*. При продуцировании обоих белков в системе экспрессии на основе клеток млекопитающих h5D8 не характеризовался связыванием с OSM. Данные приведены в **таблице 8**.

Таблица 8. Краткий обзор показателей аффинности h5D8 в отношении цитокинов, измеренных с помощью Octet.			
	K_D [M]	k_{on} [1/мс]	k_{dis} [1/с]
h5D8 + huLIF (E. coli)	4,3E-10 +/- 2,0E-11	3,1E+05 +/- 3,1E+03	1,3E-04 +/- 5,8E-06
h5D8 + huLIF (млекопитающих)	1,3E-09 +/- 7,2E-11	1,2E+05 +/- 1,3E+03	1,5E-04 +/- 8,5E-06
h5D8 + huOSM (E. coli)	3,6E-08 +/- 1,4E-09	8,5E+04 +/- 3,1E+03	3,1E-03 +/- 4,1E-05

h5D8 + huOSM (млекопитающих)	ND	ND	ND
h5D8 + huIL-6 (E. coli)	ND	ND	ND
ND = связывание отсутствует			

Способы

[00167] Эксперименты по связыванию Octet: Реагенты применяли и готовили согласно предоставленному производителем руководству. Основной эксперимент по кинетике осуществляли с применением программного обеспечения для сбора данных Octet версии 9.0.0.26 следующим образом: настройки сенсоров/программы: i) уравнивание (60 секунд); ii) загрузка (15 секунд); iii) исходный уровень (60 секунд); iv) ассоциация (180 секунд); и v) диссоциация (600 секунд)

[00168] Аффинность h5D8 в отношении цитокинов в анализе Octet: Основной эксперимент по кинетике осуществляли с применением программного обеспечения для сбора данных Octet версии 9.0.0.26 следующим образом: Аминореактивные биосенсоры 2-го поколения (AR2G) гидратировали в воде в течение минимум 15 минут. Конъюгацию h5D8 с биосенсорами по аминокислоте осуществляли в соответствии с техническим примечанием ForteBio 26 (см. ссылки) с применением набора для сочетания по аминокислоте с использованием реагента второго поколения. Стадии погружения осуществляли при 30°C, 1000 об/мин следующим образом: i) уравнивание 60 секунд в воде; ii) активация 300 секунд в 20 мМ ECD, 10 мМ сульфо-NHS в воде; iii) иммобилизация 600 секунд 10 мкг/мл h5D8 в 10 мМ ацетате натрия, pH 6,0; iv) гашение 300 секунд в 1 М этанолаmine, pH 8,5; v) исходный уровень 120 секунд в воде. Эксперименты по кинетике затем осуществляли со следующими стадиями погружения и считывания при 30°C, 1000 об/мин: vi) исходный уровень 60 секунд в 1X буфере для кинетического анализа; vii) ассоциация 180 секунд для соответствующих серийных разведений цитокина в 1X буфере для кинетического анализа; viii) диссоциация 300 секунд в 1X буфере для кинетического анализа; ix) три цикла восстановления/нейтрализации, чередующиеся между 10 мМ глицином pH 2,0 и 1X буфером для кинетического анализа соответственно (по 5 секунд в каждом в течение 3 циклов). После восстановления биосенсоры повторно применяли для последующих анализов связывания.

[00169] Рекombинантный LIF человека, продуцированный в клетках млекопитающих, был приобретен у ACROBiosystems (LIF-H521b); рекombинантный OSM

человека, продуцированный в клетках млекопитающих, был приобретен у R & D (8475-OM/CF); и рекомбинантный OSM человека, продуцированный в клетках *E. coli*, был приобретен у R & D (295-OM-050/CF).

Пример 18. Кристаллическая структура Fab h5D8.

[00170] Было определено пять кристаллических структур Fab h5D8 в широком спектре химических условий. Высокие разрешения этих структур указывают на то, что конформации остатков CDR связаны с незначительной гибкостью и характеризуются высокой степенью подобия в различных химических средах. Уникальным признаком этого антитела является наличие неканонического цистеина в положении 100 варибельной области тяжелой цепи. Структурный анализ показал, что цистеин является неспаренным и преимущественно недоступен для растворителя.

[00171] Fab H5D8 получали путем расщепления папаином IgG, с последующей очисткой с применением стандартных методик аффинной, ионообменной и эксклюзионной хроматографии. Кристаллы получали с применением способов на основе диффузии паров и осуществляли определение пяти кристаллических структур с разрешением в диапазоне от 1,65 Å до 2,0 Å. Все структуры были определены в одной и той же кристаллографической пространственной группе и с одинаковыми размерами элементарной ячейки (P212121, $a \sim 53,8$ Å, $b \sim 66,5$ Å, $c \sim 143,3$ Å), при этом условия кристаллизации варьировались на пяти различных уровнях pH: 5,6, 6,0, 6,5, 7,5 и 8,5. Таким образом, эти кристаллические структуры позволяют сравнивать трехмерное расположение Fab h5D8, которому не препятствуют артефакты упаковки кристаллов, и в широком спектре химических условий.

[00172] Электронная плотность наблюдалась для всех остатков определяющей комплементарности области (CDR), которые впоследствии были смоделированы. Примечательно, что LCDR1 и HCDR2 принимали продолговатые конформации, которые вместе с неглубокими LCDR3- и HCDR3-областями образовывали связывающую полость в центре паратопа (**фиг. 14А**). Пять структур характеризовались высокой степенью подобия среди всех остатков, со среднеквадратическими отклонениями для всех атомов в диапазоне от 0,197 Å до 0,327 Å (**фиг. 14А**). Эти результаты указывали на то, что конформации остатков CDR сохранялись в различных химических средах, включая уровни pH в диапазоне от 5,6 до 8,5 и показатели ионной силы в диапазоне от 150 мМ до 1 М. С помощью анализа электростатической поверхности паратопа h5D8 было выявлено, что положительно и отрицательно заряженные области в равной степени вносят вклад в гидрофильные свойства, без каких-либо обширных гидрофобных зон. h5D8 характеризуется необычной особенностью в виде неканонического цистеина на уровне

HCDR3 (Cys100). Во всех пяти структурах этот свободный цистеин упорядочен и не участвует в перестановках дисульфидных связей. Кроме того, он не подвергается модификации добавлением Cys (цистеинилирование) или глутатиона (глутатиолирование) и участвует во взаимодействиях Ван-дер-Ваальса (расстояния 3,5-4,3 Å) с атомами основной цепи и боковой цепи Leu4, Phe27, Trp33, Met34, Glu102 и Leu105 тяжелой цепи (**фиг. 14В**). Наконец, Cys100 является преимущественно скрытым структурным остатком, который, по-видимому, участвует в опосредовании конформаций CDR1 и HCDR3. Таким образом, маловероятно, что он будет характеризоваться реактивностью в отношении других цистеиновых остатков, о чем свидетельствует гомогенное расположение этой области в полученных авторами настоящего изобретения пяти кристаллических структурах.

Способы

[00173] H5D8-1 IgG было получено от Catalent Biologics и составлено в 25 мМ гистидине, 6% сахарозе, 0,01% полисорбате 80, при pH 6,0. Составленный IgG подвергали обмену буфера в большом объеме на PBS с применением концентратора 10K MWCO (Millipore) перед расщеплением в соотношении 1:100 микрограмм папаина (Sigma) в течение 1 часа при 37°C в PBS, 1,25 мМ EDTA, 10 мМ цистеина. Расщепленный папином IgG пропускали через колонку с белком А (GE Healthcare) с применением хроматографической системы АКТА Start (GE Healthcare). Элюированный с белка А продукт, который содержал Fab H5D8, выделяли и подвергали обмену буфера на 20 мМ ацетат натрия, pH 5,6, с применением концентратора 10K MWCO (Millipore). Полученный в результате образец загружали в катионообменную колонку Mono S (GE Healthcare) с применением хроматографической системы АКТА Pure (GE Healthcare). В результате элюции градиентом 1 М хлорида калия получали преобладающий пик, соответствующий Fab H5D8, который выделяли, концентрировали и очищали до размерной однородности с применением колонки для гель-фильтрации Superdex 200 Increase (GE Healthcare) в 20 мМ Tris-HCl, 150 мМ хлориде натрия при pH 8,0. Высокую чистоту Fab H5D8 подтверждали с помощью SDS-PAGE в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях.

[00174] Очищенный Fab H5D8 концентрировали до 25 мг/мл с применением концентратора 10K MWCO (Millipore). Диспенсер Огук 4 (Douglas Instruments) применяли для постановки экспериментов по кристаллизации на основе диффузии паров с использованием коммерческих планшетов для кристаллизации типа sparse matrix при 96 различных условиях JCSG TOP96 (Rigaku Reagents) и MCSG-1 (Anatrace) при 20°C. Кристаллы были получены и собраны через четыре дня при следующих пяти условиях кристаллизации: 1) 0,085 М цитрат натрия, 25,5% (масса/объем) PEG 4000, 0,17 М ацетат

аммония, 15% (объем/объем) глицерин, pH 5,6; 2) 0,1 М MES, 20% (масса/объем) PEG 6000, 1 М хлорид лития, pH 6,0; 3) 0,1 М MES, 20% (масса/объем) PEG 4000, 0,6 М хлорид натрия, pH 6,5; 4) 0,085 М натриевая соль HEPES, 17% (масса/объем) PEG 4000, 8,5% (объем/объем) 2-пропанол, 15% (объем/объем) глицерин, pH 7,5; и 5) 0,08 М Tris, 24% (масса/объем) PEG 4000, 0,16 М хлорид магния, 20% (объем/объем) глицерин, pH 8,5. Перед мгновенной заморозкой в жидком азоте маточные жидкости, содержащие кристаллы, дополняли 5-15% (объем/объем) глицерином или 10% (объем/объем) этиленгликолем, по мере необходимости. Кристаллы подвергали действию синхротронного излучения в рентгеновском диапазоне на источнике синхротронного излучения Advanced Photon Source, канал синхротронного излучения 23-ID-D (Чикаго, Иллинойс) и дифракционные картины регистрировали на детекторе Pilatus3 6M. Данные обрабатывали с применением XDS и структуры определяли с помощью молекулярного замещения с применением Phaser. Уточнение структуры осуществляли в PHENIX с итеративным построением модели в Coot. Фигуры были сгенерированы в PyMOL. Все программное обеспечение было доступно через SGrid.

Пример 19. Мутации по цистеину 100 h5D8 препятствуют связыванию.

[00175] С помощью анализа h5D8 был выявлен свободный цистеиновый остаток в положении 100 (C100) в вариабельной области тяжелой цепи. Варианты H5D8 получали путем замены C100 каждой встречающейся в природе аминокислотой с целью определения характеристик связывания и аффинности в отношении LIF человека и мыши. Характеристики связывания определяли с применением ELISA и анализа Octet. Результаты приведены в **таблице 9**. Кривые для EC50 по данным ELISA показаны на **фиг. 15** (LIF человека на **фиг. 15A** и LIF мыши на **фиг. 15B**).

Таблица 9. Краткий обзор показателей аффинности, определенных с помощью анализа Octet, и EC50, определенных с помощью ELISA.				
Мутация	Аффинность/k_D (M)		EC50 связывания (нМ)	
	LIF человека	LIF мыши	LIF человека	LIF мыши
C100	<1,0E-12 ± 2,252E-11	9,946E-11 ± 8,272E-12	0,09878	0,1605
C100S	8,311E-10 ± 5,886E-11	2,793E-09 ± 5,925E-11	n.d.	n.d.
C100Q	3,87E-09 ± 1,55E-10	2,84E-09 ± 4,85E-11	10,18	26,33
C100N	5,59E-09 ± 1,01E-10	6,68E-09 ± 9,8E-11	13,18	45,87
C100E	2,67E-09 ± 4,64E-11	4,1E-09 ± 7,56E-11	7,179	25,3
C100D	2,02E-09 ± 8,08E-11	6,49E-09 ± 7,16E-11	11,89	22,88
C100T	4,36E-10 ± 2,1E-11	1,02E-09 ± 1,77E-11	5,575	8,753

C100G	2,49E-09 ± 4,2E-11	3,33E-09 ± 5,42E-11	21,94	40,17
C100P	2,74E-10 ± 2,97E-10	<1,0E-12 ± 7,64E-10	34,44	101,9
C100A	<1,0E-12 ± 2,713E-11	<1,0E-12 ± 1,512E-11	0,6705	0,9532
C100V	<1,0E-12 ± 1,805E-11	<1,0E-12 ± 8,086E-12	0,2785	0,3647
C100L	<1,0E-12 ± 1,963E-11	1,998E-10 ± 1,055E-11	0,454	0,547
C100I	<1,0E-12 ± 1,424E-11	3,361E-11 ± 7,545E-12	0,299	0,3916
C100M	1,155E-09 ± 3,400E-11	2,676E-09 ± 2,449E-11	0,7852	1,563
C100F	4,376E-09 ± 1,127E-10	1,147E-08 ± 9,099E-11	8,932	21,53
C100Y	1,444E-08 ± 1,159E-09	2,514E-08 ± 2,047E-09	n.d.	n.d.
C100W	2,508E-08 ± 7,036E-09	4,819E-08 ± 4,388E-09	n.d.	n.d.
C100H	1,304E-10 ± 1,416E-10	4,284E-09 ± 1,231E-10	8,254	n.d.
C100K	7,477E-08 ± 1,581E-09	6,053E-08 ± 2,589E-09	n.d.	n.d.
C100R	1,455E-07 ± 6,964E-09	5,142E-08 ± 3,247E-09	n.d.	n.d.

Способы

ELISA: Связывание вариантов h5D8 C100 с LIF человека и мыши определяли с помощью ELISA. Рекombинантным белком LIF человека или мыши покрывали 384-луночные планшеты Maxisorp при 1 мкг/мл на ночь при 4°C. Планшеты блокировали 1x блокирующим буфером в течение 2 часов при комнатной температуре. Добавляли титры каждого варианта h5D8 C100 и обеспечивали возможность связывания в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшеты промывали три раза PBS+0,05% Tween-20. Добавляли HRP-конъюгированное IgG к антителу человека и обеспечивали возможность связывания в течение 30 мин при комнатной температуре. Планшеты промывали три раза PBS+0,05% Tween-20 и содержимое проявляли с применением 1x субстрата TMB. Реакцию останавливали с помощью 1 М HCl и измеряли поглощение на 450 нм. Генерирование фигур и нелинейный регрессионный анализ осуществляли с применением Graphpad Prism.

[00176] Octet RED96: Аффинность вариантов h5D8 C100 в отношении LIF человека и мыши определяли с помощью BLI с применением системы Octet RED96. Варианты h5D8 C100 загружали на биосенсоры с антителами к Fc человека при 7,5 мкг/мл после 30-секундного определения исходного уровня в 1x буфере для кинетического анализа. Титры белка LIF человека или мыши связывали с загруженными биосенсорами в течение 90 секунд и давали комплексам диссоциировать в 1x буфере для кинетического анализа в течение 300 секунд. K_D рассчитывали с помощью программного обеспечения для анализа данных с применением модели общей аппроксимации для связывания 1:1.

Пример 20. h5D8 блокирует связывание LIF с gp130 in vitro.

[00177] Для определения того, препятствует ли h5D8 связыванию LIF с LIFR, осуществляли анализ связывания молекул с применением платформы Octet RED 96. H5D8 загружали на биосенсоры АНС путем захвата антителами к Fc человека. Затем биосенсоры погружали в раствор LIF и, как и ожидалось, наблюдали ассоциацию (**фиг. 16А**, средняя треть). Затем биосенсоры погружали в растворы LIFR в разных концентрациях. Наблюдали дозозависимую ассоциацию (**фиг. 16А**, правая треть). В контрольном эксперименте было продемонстрировано, что такая ассоциация была LIF-специфической (не показано), и не связана с неспецифическим взаимодействием LIFR с h5D8 или с биосенсорами.

[00178] Для дополнительного определения характеристик связывания h5D8 и LIF проводили серию экспериментов по связыванию с помощью ELISA. H5D8 и LIF предварительно инкубировали, а затем вносили в планшеты, покрытые либо рекомбинантным LIFR человека (hLIFR), либо gp130. Отсутствие связывания между комплексом h5D8/LIF и покрывающим планшет субстратом будет свидетельствовать о том, что h5D8 каким-то образом нарушает связывание LIF с рецептором. Кроме того, контрольные антитела, которые либо не связывают LIF (изотипический контроль, обозначено (-)), либо которые связывают LIF по известным сайтам связывания (B09 не конкурирует ни с gp130, ни с LIFR за связывание LIF; r5D8 представляет собой исходную версию h5D8 крысы), также применяли. Из результатов ELISA видно, что комплекс h5D8/LIF был способен связывать hLIFR (как и комплекс r5D8/LIF), что свидетельствует о том, что эти антитела не препятствуют ассоциации LIF/LIFR (**фиг. 16А**). В отличие от этого, комплекс h5D8/LIF (и комплекс r5D8/LIF) не был способен связывать рекомбинантный gp130 человека (**фиг. 16В**). Это свидетельствует о том, что в случае, когда LIF был связан с h5D8, был затронут gp130-связывающий сайт LIF.

Пример 21. Экспрессия LIF и LIFR в тканях человека.

[00179] Количественную ПЦР в режиме реального времени PCR осуществляли в отношении множества разных типов тканей человека с целью определения уровней экспрессии LIF и LIFR. Средние уровни экспрессии, показанные на **фиг. 17А** и **17В**, представлены в виде копий на 100 нг общей РНК. В большинстве тканей экспрессируется по меньшей мере 100 копий на 100 нг общей РНК. Уровень экспрессии мРНК LIF был наиболее высоким в жировой ткани человека (брыжейка подвздошной кишки [1]), ткани кровеносных сосудов (сосудистое сплетение [6] и брыжеечная артерия [8]) и ткани пуповины [68], и наиболее низким в ткани головного мозга (кора [20] и черная субстанция [28]). Уровень экспрессии мРНК LIFR был наиболее высоким в жировой ткани человека

(брыжейка подвздошной кишки [1]), ткани кровеносных сосудов (легочные [9]), ткани головного мозга [11-28] и ткани щитовидной железы [66], и наиболее низким в РВМС [31]. Уровни экспрессии мРНК LIF и LIFR в тканях яванского макака были подобны таковым, наблюдаемым в тканях человека, причем уровень экспрессии LIF был высоким в жировой ткани, и уровень экспрессии LIFR был высоким в жировой ткани и низким в РВМС (данные не показаны).

Нумерация тканей для **фиг. 17А** и **фиг. 17В**: 1 – жировая ткань (брыжейка подвздошной кишки); 2 - надпочечники; 3 - мочевой пузырь; 4 - мочевой пузырь (треугольник); 5 - кровеносный сосуд (церебральный: средняя мозговая артерия) ; 6 – кровеносный сосуд (сосудистое сплетение); 7 – кровеносный сосуд (коронарная артерия); 8 – кровеносный сосуд (брыжеечная часть (толстая кишка)); 9 – кровеносный сосуд (легочный); 10 – кровеносный сосуд (почечный); 11 – головной мозг (миндалевидное тело); 12 - головной мозг (хвостатое ядро); 13 - головной мозг (мозжечок); 14 головной мозг – (кора: передняя поясная кора); 15 - головной мозг (кора: задняя поясная); 16 - головной мозг (кора: фронтально-латеральная); 17 - головной мозг (кора: фронтально-медиальная); 18 - головной мозг (кора: затылочная); 19 - головной мозг (кора: теменная); 20 – головной мозг (кора: височная); 21 - головной мозг (дорсальное ядро шва); 22 - головной мозг (гиппокамп); 23 - головной мозг (гипоталамус: передний отдел); 24 - головной мозг (гипоталамус: задний отдел); 25 - головной мозг (голубое пятно); 26 - головной мозг (продолговатый мозг); 27 – головной мозг (прилежащее ядро); 28 - головной мозг (черная субстанция); 29 - молочная железа; 30 - слепая кишка; 31- мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС); 32 - толстая кишка; 33 – спинальный ганглий (DRG); 34 - двенадцатиперстная кишка; 35 – фаллопиева труба; 36 - желчный пузырь; 37 – сердце (левое предсердие); 38 - сердце (левый желудочек); 39 - подвздошная кишка; 40 - тощая кишка; 41 – почка (корковое вещество); 42 - почка (мозговое вещество); 43 - почка (лоханка); 44 - печень (паренхима); 45 - печень (бронх: первого порядка); 46 - печень (бронх: третьего порядка); 47 - легкое (паренхима); 48 – лимфатический узел (тонзиллярный); 49 - мышца (скелетная); 50 - пищевод; 51 - яичник; 52 - поджелудочная железа; 53 - эпифиз; 54 – гипофиз; 55 - плацента; 56 - предстательная железа; 57 - прямая кишка; 58 - кожа (крайняя плоть); 69 – спинной мозг; 60 - селезенка (паренхима); 61 - желудок (антрум); 62 - желудок (тело); 63 - желудок (дно); 64 - желудок (канал привратника); 65 - яичко; 66 – щитовидная железа; 67 - трахея; 68 – пуповина; 69 - уретра; 70 – матка (шейка); 71 - матка (миометрий); и 72 – семявыносящий проток.

[00180] Хотя в настоящем документе были показаны и описаны предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения, для специалистов в данной области

будет очевидно, что такие варианты осуществления приведены исключительно в качестве примера. Многочисленные вариации, изменения и замены будут приходить на ум специалистам в данной области без отступления от настоящего изобретения. Следует понимать, что при применении настоящего изобретения на практике можно использовать различные альтернативы описанным в настоящем документе вариантам осуществления настоящего изобретения.

[00181] Все публикации, заявки на патенты, выданные патенты и другие документы, упомянутые в настоящем описании, включены в настоящий документ посредством ссылки, как если бы каждая отдельная публикация, заявка на патент, выданный патент или другой документ были конкретно и индивидуально указаны для включения посредством ссылки во всей своей полноте. Определения, содержащиеся в тексте, включенном посредством ссылки, исключены в той степени, в которой они противоречат определениям в настоящем раскрытии.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

SEQ ID NO	Последовательность
1	GFTFSHAWMH
2	GFTFSHAW
3	HAWMH
4	GFTFSNAWMH
5	GFTFSNAW
6	NAWMH
7	SKFMY
8	SNFIH
9	QIKAKSDDYATYYAESVKG
10	IKAKSDDYAT
11	QIKDKSDNYATYYAESVKG
12	IKDKSDNYAT
13	WIYPGDGDTEYNQKFSE
14	WIYPGDGDIEYNQKFIG
15	TCWEWDLDF
16	WEWDLDF
17	TCWEWYLDF
18	WEWYLDF
19	RDYHSSHFAY
20	HYSSMDA
21	RSSQSLLDSDGHTYLN
22	QSLLDSDGHTY
23	RSSQSL LHNGNTYLS
24	RSSQSLVHSNGNTFLS
25	SVSNLES
26	SVS
27	QVSNRFS
28	KVSNRFS
29	MQATHAPPYT
30	GQGTQYPYT
31	GQGTQYPFT

32	SGYYWN
33	TAGMQ
34	CISYDGRNNYNPSLKN
35	WINTQSGEPQYVDDFRG
36	RYRYNYGSYYAVDY
37	WALYSEYDVMDY
38	RASENIDGYLE
39	KASENVDSYVS
40	AATLLAD
41	GASNRYT
42	QHYYNTPLT
43	GQSYRYPPT
44	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAAS
45	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSAAS
46	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSAAS
47	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATS
48	WVRQAPGKGLEWVA
49	WVRQAPGKGLEWVG
50	RFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYC
51	RFSISRDNANKNSLYLQMNSLRVEDTVVYYC
52	RFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVYYC
53	WGQGLVTVSS
54	WGQGMVTVSS
55	WGQGTTVTVSS
56	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC
57	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISC
58	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISC
59	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISC
60	WFQQRPGQSPRRLIY
61	WLQQRPGQPPRLLIY
62	WLLQKPGQPPQLLIY
63	WLQQRPGQSPRRLIY
64	GVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC
65	GVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC

66	GVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYC
67	GVPDRFNGSGSGTDFTLSISRVEAEDVGVYYC
68	FGQGTKLEIK
69	FGGGTKVEIK
70	FGQGTKVEIK
71	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEW VAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSS
72	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSAAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEW VGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTCWEWDLDFWGQGTMTVTVSS
73	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSAAASGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEW VAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFSISRDNKNSLYLQMNSLRVEDTVVY YCTCWEWDLDFWGQGTTVTVSS
74	EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWRQAPGKGLEW VGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVY YCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSS
75	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWFQQRPGQSPR RLIYSVSNLESGVPDRFSGSGS TDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIK
76	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQPRL LIYSVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATHAPP YTFGQGTKLEIK
77	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLLQKPGQPQL LIYSVSNLESGVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPP YTFGGGTKVEIK
78	DVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQSPR RLIYSVSNLESGVPDRFNGSGSGTDFTLSISRVEAEDVGVYYCMQATHAP PYTFGQGTKVEIK
79	MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFS HAWMHWRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDS KNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTH

	<p>TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
80	<p>MGWTLVFLFLLSVTAGVHSQVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS HAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDS KNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTMTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
81	<p>MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS HAWMHWRQAPGKGLEWVAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFSISRDNA KNSLYLQMNSLRVEDTVVYYCTCWEWDLDFWGQGTMTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
82	<p>MGWTLVFLFLLSVTAGVHSEVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFS HAWMHWRQAPGKGLEWVGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDS KSTLFLQMNNLKTEDTAVYYCTCWEWDLDFWGQGTMTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV</p>

	FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
83	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLL DSDGHTYLNWFQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKIS RVEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
84	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLD SDGHTYLNWLQQRPGQPPRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
85	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLD SDGHTYLNWLLQKPGQPPQLLIYSVSNLESGVPNRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGLYYCMQATHAPPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
86	MVSSAQFLGLLLLCFQGTRCDVVMTQSPLSQPVTLGQPASISCRSSQSLL DSDGHTYLNWLQQRPGQSPRRLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLSIS RVEAEDVGVYYCMQATHAPPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
87	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSHAWMHVVRQAPGKGLEW VAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS

	LSPGK
88	<p>QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEW VGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTCWEWDLDFWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK</p>
89	<p>EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEW VAQIKAKSDDYATYYAESVKGRFSISRDNANKNSLYLQMNSLRVEDTVVY YCTCWEWDLDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK</p>
90	<p>EVQLMESGGGLVKPGGSLRLSCATSGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEW VGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKSTLFLQMNNLKTEDTAVY YCTCWEWDLDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK</p>

91	DVVMTQSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWFQQRPGQSPR RLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAP PYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
92	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQPPRL LIYSVSNLESGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATHAPP YTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
93	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLLQKPGQPPQL LIYSVSNLESGVPNRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQATHAPP YTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
94	DVVMTQSPVTLGQPASISCRSSQSLLDSDGHTYLNWLQQRPGQSPR RLIYSVSNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATHAP PYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
95	TSWEWDLDF
96	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSAAAGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEW VGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSWEWDLDFWGQGMVTVSS
97	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSAAAGFTFSHAWMHWVRQAPGKGLEW VGQIKAKSDDYATYYAESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCTSWEWDLDFWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK

98	SPLPITPVNATCAIRHPCHNNLMNQIRSQLAQLNGSANALFILYYTAQGEP FPNNLDKLCGPNVTDFPPFHANGTEKAKLVELYRIVVYLGTS LGNITRDQ KILNPSALSLH SKLNATADILRGLLSNVL CRLCSKYHVGHVDV TYGP DTS GKDVFQKKKLGCQLLGKYKQIIAVLAQAF
----	---

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее:

а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33;

б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35;

с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37;

д) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39;

е) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 25-27 или 41; и

ф) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43,

причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF.

2. Рекомбинантное антитело по п. 1, где рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF.

3. Рекомбинантное антитело по п. 1 или п. 2, где рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека.

4. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-3, где рекомбинантное антитело является гуманизированным.

5. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-4, где рекомбинантное антитело является деиммунизированным.

6. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-5, где рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

7. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-5, где рекомбинантное антитело предусматривает Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело.

8. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-7, где рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

9. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-7, где рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль.

10. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-9, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 4 (GFTFSNAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 11 (QIKDKSDNYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWYLDLF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

11. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-9, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAAY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLLHNNGNTYLS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность,

изложенную в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT).

12. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-9, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT).

13. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-9, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

14. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-13, где рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 тяжелой цепи (VH-FR1), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотной последовательности каркасной области 2 тяжелой цепи (VH-FR2), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотной последовательности каркасной области 3 тяжелой цепи (VH-FR3), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 тяжелой цепи (VH-FR4), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55.

15. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-14, где рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 легкой цепи (VL-FR1), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотной последовательности каркасной области 2 легкой цепи (VL-FR2), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотной последовательности каркасной области 3 легкой цепи (VL-FR3), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 легкой цепи (VL-FR4), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70.

16. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-15, где рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54.

17. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-16, где рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

18. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-17, где рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

19. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-18 для применения в лечении рака.

20. Рекомбинантное антитело по п. 19, где рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

21. Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантное антитело по любому из пп. 1-18 и фармацевтически приемлемый носитель.

22. Фармацевтическая композиция по п. 21, составленная для внутривенного введения.

23. Фармацевтическая композиция по п. 21, составленная для интрацеребрального введения.

24. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 21-23 для применения в лечении рака.

25. Фармацевтическая композиция по п. 24, где рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

26. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее:

а) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74;

б) и последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78.

27. Рекомбинантное антитело по п. 26, где последовательность VH по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

28. Способ лечения индивидуума с раком, предусматривающий введение индивидууму рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего:

а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33;

б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35;

с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37;

d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39;

e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 25-27 или 41; и

f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43;

причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF.

29. Способ по п. 28, в котором рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF.

30. Способ по п. 28 или п. 29, в котором рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека.

31. Способ по любому из пп. 28-30, в котором рекомбинантное антитело является гуманизированным.

32. Способ по любому из пп. 28-31, в котором рекомбинантное антитело является деиммунизированным.

33. Способ по любому из пп. 28-32, в котором рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

34. Способ по любому из пп. 28-32, в котором рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело.

35. Способ по любому из пп. 28-34, в котором рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

36. Способ по любому из пп. 28-34, в котором рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль.

37. Способ по любому из пп. 28 -36, в котором VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 4 (GFTFSNAWMH), в котором VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 11 (QIKDKSDNYATYYAESVKG), в котором VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 17 (TCWEWYLDF), в котором VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), в котором VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и в котором VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

38. Способ по любому из пп. 28-36, в котором VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), в котором VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), в котором VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAY), в котором VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLLHNNGNTYLS), в котором VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и в котором VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT).

39. Способ по любому из пп. 28 -36, в котором VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), в котором VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), в котором VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVM DY), в котором VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), в котором VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и в котором VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT).

40. Способ по любому из пп. 28 -36, в котором VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), в котором VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), в котором VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), в котором VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), в котором VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и в котором VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

41. Способ по любому из пп. 28-40, в котором рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 тяжелой цепи (VH-FR1), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотной последовательности каркасной области 2 тяжелой цепи (VH-FR2), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотной последовательности каркасной области 3 тяжелой цепи (VH-FR3), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 тяжелой цепи (VH-FR4), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55.

42. Способ по любому из пп. 28-41, в котором рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 легкой цепи (VL-FR1), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотной последовательности каркасной области 2 легкой цепи (VL-FR2), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотной последовательности каркасной области 3 легкой цепи (VL-FR3), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 легкой цепи (VL-FR4), по

идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

46. Способ по любому из пп. 28-45, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

47. Способ по любому из пп. 28-46, в котором рекомбинантное антитело вводят внутривенно.

48. Способ по любому из пп. 28-46, в котором рекомбинантное антитело вводят интрацеребрально.

49. Способ лечения индивидуума с раком, предусматривающий введение индивидууму рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего:

a) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74;

b) и последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78.

50. Способ по п. 49, в котором последовательность VH по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

51. Способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и

рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую:

а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33;

б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35;

с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37;

д) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39;

е) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 25-27 или 41; и

ф) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43;

причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF.

52. Способ по п. 51, в котором рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF.

53. Способ по п. 51 или п. 52, в котором рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека.

54. Способ по любому из пп. 51-53, в котором рекомбинантное антитело является гуманизированным.

55. Способ по любому из пп. 51 -54, в котором рекомбинантное антитело является деиммунизированным.

56. Способ по любому из пп. 51 -55, в котором рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

57. Способ по любому из пп. 51-55, в котором рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело.

58. Способ по любому из пп. 51-57, в котором рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

59. Способ по любому из пп. 51-57, в котором рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль.

60. Способ по любому из пп. 51 -59, в котором VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 4 (GFTFSNAWMH), в котором VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 11 (QIKDKSDNYATYYAESVKG), в котором VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 17 (TCWEWYLDF), в котором VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), в котором VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и в котором VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

61. Способ по любому из пп. 51 -59, в котором VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), в котором VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), в котором VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAF), в котором VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLLHNNNGNTYLS), в котором VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и в котором VL-CDR3

содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT).

62. Способ по любому из пп. 51 -59, в котором VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), в котором VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), в котором VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY), в котором VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), в котором VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и в котором VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT).

63. Способ по любому из пп. 51 -59, в котором VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), в котором VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), в котором VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), в котором VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), в котором VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и в котором VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

64. Способ по любому из пп. 51 -63, в котором рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 тяжелой цепи (VH-FR1), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 44-47, аминокислотной последовательности каркасной области 2 тяжелой цепи (VH-FR2), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 48-49, аминокислотной последовательности каркасной области 3 тяжелой цепи (VH-FR3), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 50-52, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 тяжелой цепи (VH-FR4), по

меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 53-55.

65. Способ по любому из пп. 51-64, в котором рекомбинантное антитело содержит одно или несколько из аминокислотной последовательности каркасной области 1 легкой цепи (VL-FR1), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 56-59, аминокислотной последовательности каркасной области 2 легкой цепи (VL-FR2), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 60-63, аминокислотной последовательности каркасной области 3 легкой цепи (VL-FR3), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 64-67, и аминокислотной последовательности каркасной области 4 легкой цепи (VL-FR4), по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 68-70.

66. Способ по любому из пп. 51-65, в котором рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54.

67. Способ по любому из пп. 51-66, в котором рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

68. Способ по любому из пп. 51-67, в котором рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность VH-FR1, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность VH-FR2, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность VH-FR3, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность VH-FR4, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность VL-FR1, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность VL-FR2, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность VL-FR3, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность VL-FR4, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

69. Способ по любому из пп. 51-68, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

70. Способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащего:

а) последовательность вариабельной области тяжелой цепи (VH) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74;

б) и последовательность вариабельной области легкой цепи (VL) иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78.

71. Способ по п. 70, в котором последовательность VH по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

72. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR) крысиного происхождения и по меньшей мере одну каркасную область (FR) иммуноглобулина человеческого происхождения, причем по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения специфически связывается с LIF.

73. Рекомбинантное антитело по п. 72, где рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF.

74. Рекомбинантное антитело по п. 72 или п. 73, где рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека.

75. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -74, где рекомбинантное антитело является гуманизированным.

76. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -75, где рекомбинантное антитело является деиммунизированным.

77. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -76, где рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

78. Рекомбинантное антитело по п. 72 или п. 77, где рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело.

79. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -78, где рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

80. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -78, где рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль.

81. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72-80, где по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-3, 9, 10, 15, 16, 21, 22, 25, 26 или 29.

82. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -81, где по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29.

83. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72-82, где по меньшей мере одна каркасная область иммуноглобулина человеческого происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 44-70.

84. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -83, где рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15.

85. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -84, где рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29.

86. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -85, где рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID

приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

90. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72-89, дополнительно предусматривающее фармацевтически приемлемый носитель.

91. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72-90, составленное для внутривенного введения.

92. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72-90, составленное для интрацеребрального введения.

93. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 72 -92 для применения в лечении рака.

94. Рекомбинантное антитело по п. 93, где рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

95. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78.

96. Рекомбинантное антитело по п. 95, где последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

97. Способ лечения субъекта с раком, предусматривающий введение индивидууму рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), причем рекомбинантное антитело, которое специфически связывает (LIF), содержит по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR) крысиного происхождения и по меньшей мере одну каркасную область (FR) иммуноглобулина человеческого происхождения, причем по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения специфически связывается с LIF.

98. Способ по п. 97, в котором рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF.

99. Способ по п. 97 или п. 98, в котором рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека.

100. Способ по любому из пп. 97-99, в котором рекомбинантное антитело является гуманизированным.

101. Способ по любому из пп. 97 -100, в котором рекомбинантное антитело является деиммунизированным.

102. Способ по любому из пп. 97 -101, в котором рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

103. Способ по любому из пп. 97-102, в котором рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело.

104. Способ по любому из пп. 97-103, в котором рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

105. Способ по любому из пп. 97-103, в котором рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль.

106. Способ по любому из пп. 97-105, в котором по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-3, 9, 10, 15, 16, 21, 22, 25, 26 или 29.

107. Способ по любому из пп. 97-106, в котором по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1, 7, 11, 15, 17 и 19.

108. Способ по любому из пп. 97-107, в котором по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29.

109. Способ по любому из пп. 97-108, в котором по меньшей мере одна каркасная область иммуноглобулина человеческого происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 44-70.

110. Способ по любому из пп. 97-109, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15.

111. Способ по любому из пп. 97-110, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29.

112. Способ по любому из пп. 97 -111, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29.

113. Способ по любому из пп. 97-112, в котором рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность FR1 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность FR2 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность FR3 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54.

114. Способ по любому из пп. 97 -112, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность FR1 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

115. Способ по любому из пп. 97 -114, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность FR1 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной

последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность FR2 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность FR3 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность FR1 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

116. Способ по любому из пп. 97-115, в котором рекомбинантное антитело вводят внутривенно.

117. Способ по любому из пп. 97-115, в котором рекомбинантное антитело вводят интрацеребрально.

118. Способ по любому из пп. 97-117, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

119. Способ лечения субъекта с раком, предусматривающий введение индивидууму рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), причем рекомбинантное антитело, которое специфически связывает (LIF), содержит последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78.

120. Способ по п. 119, в котором последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

121. Способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), причем рекомбинантное антитело, которое специфически связывает (LIF), содержит по меньшей мере одну определяющую комплементарность область (CDR) крысиного происхождения и по меньшей мере одну каркасную область (FR) иммуноглобулина человеческого происхождения, причем по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения специфически связывается с LIF.

122. Способ по п. 121, в котором рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF.

123. Способ по п. 121 или п. 122, в котором рекомбинантное антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область, происходящую из каркасной области антитела человека.

124. Способ по любому из пп. 121-123, в котором рекомбинантное антитело является гуманизированным.

125. Способ по любому из пп. 121-124, в котором рекомбинантное антитело является деиммунизированным.

126. Способ по любому из пп. 121-125, в котором рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

127. Способ по п. 121 или п. 125, в котором рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело.

128. Способ по любому из пп. 121-127, в котором рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

129. Способ по любому из пп. 121-128, в котором рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль.

130. Способ по любому из пп. 121-129, в котором по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-3, 9, 10, 15, 16, 21, 22, 25, 26 или 29.

131. Способ по любому из пп. 121-130, в котором по меньшей мере одна CDR крысиного происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1, 9, 15, 21, 25 и 29.

132. Способ по любому из пп. 121-131, в котором по меньшей мере одна каркасная область иммуноглобулина человеческого происхождения содержит аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 44-70.

133. Способ по любому из пп. 121-132, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15.

134. Способ по любому из пп. 121-133, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29.

135. Способ по любому из пп. 121-134, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2

тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15, аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29.

136. Способ по любому из пп. 121-135, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность FR1 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность FR2 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность FR3 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, и аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54.

137. Способ по любому из пп. 121-135, в котором рекомбинантное антитело содержит аминокислотную последовательность FR1 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

138. Способ по любому из пп. 121-137, в котором рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержит аминокислотную последовательность FR1 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45, аминокислотную последовательность FR2 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49, аминокислотную последовательность FR3 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50, аминокислотную последовательность

FR4 тяжелой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54, аминокислотную последовательность FR1 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57, аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61, аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

139. Способ по любому из пп. 121-138, в котором фармацевтически приемлемый носитель подходит для внутривенного введения.

140. Способ по любому из пп. 121-138, в котором фармацевтически приемлемый носитель подходит для интрацеребрального введения.

141. Способ по любому из пп. 121-140, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

142. Способ получения противоракового препарата, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), причем рекомбинантное антитело, которое специфически связывает (LIF), содержит последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 71, 72 или 74; и последовательность легкой цепи иммуноглобулина с аминокислотной последовательностью, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичной аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 75-78.

143. Способ по п. 142, в котором последовательность тяжелой цепи иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность легкой цепи

иммуноглобулина по меньшей мере на приблизительно 90% идентична аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

144. Рекомбинантное антитело, которое связывает LIF, причем антитело содержит:
аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1,
аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9,
аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15,
аминокислотную последовательность FR1 тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 45,
аминокислотную последовательность FR2 тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 49,
аминокислотную последовательность FR3 тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 50,
аминокислотную последовательность FR4 тяжелой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 54,
аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21,
аминокислотную последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25,
аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29,
аминокислотную последовательность FR1 легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 57,
аминокислотную последовательность FR2 легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 61,
аминокислотную последовательность FR3 легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 65, и
аминокислотную последовательность FR4 легкой цепи, по меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 68.

145. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, причем антитело содержит

гуманизированную переменную область тяжелой цепи, по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72, и

гуманизированную переменную область легкой цепи, по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

146. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее:

а) CDR1 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 1-7 или 33;

б) CDR2 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 9-13 или 35; и

в) CDR3 тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 15-19 или 37,

причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF.

147. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее:

а) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39;

б) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 25-27 или 41; и

в) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43,

причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF.

148. Рекомбинантное антитело, которое связывает LIF, причем антитело содержит:

переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность CDR1 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 1, аминокислотную последовательность CDR2 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 9, и аминокислотную последовательность CDR3 тяжелой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 15, и

переменный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность CDR1 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 21, аминокислотную

последовательность CDR2 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 25, и аминокислотную последовательность CDR3 легкой цепи, изложенную в SEQ ID NO: 29.

149. Рекомбинантное антитело по п. 148, где антитело содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 72.

150. Рекомбинантное антитело по п. 148, где антитело содержит переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 76.

151. Рекомбинантное антитело по п. 148, где антитело содержит:
переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 72; и
переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 76.

152. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает LIF, содержащее:
а) легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 91-94; и
б) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в любом из SEQ ID NO: 87-90,
причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF.

153. Рекомбинантное антитело по п. 152, где:
легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 91-94; и
тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 87-90.

154. Рекомбинантное антитело по п. 152, где:
легкая цепь имеет аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 92; и

тяжелая цепь имеет аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 88.

155. Рекомбинантное антитело, которое связывает LIF, причем антитело содержит:
CDR1 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 1,

CDR2 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 9,

CDR3 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 15,

CDR1 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 21,

CDR2 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 25, и

CDR3 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную SEQ ID NO: 29.

156. Рекомбинантное антитело, которое связывает LIF, причем антитело содержит:

CDR1 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 1,

CDR2 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 9,

CDR3 тяжелой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 15,

CDR1 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 21,

CDR2 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 25, и

CDR3 легкой цепи, имеющую аминокислотную последовательность, которая предусматривает не более 3, 2 или 1 аминокислотных замен, делеций или вставок по сравнению с SEQ ID NO: 29.

157. Рекомбинантное антитело, которое связывает LIF и конкурирует с антителом, определяемым:

CDR1 тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1,

CDR2 тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9,

CDR3 тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15,

CDR1 легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21,

CDR2 легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25, и

CDR3 легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

158. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 155-157, где антитело является гуманизированным.

159. Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантное антитело по любому из предыдущих пунктов.

160. Выделенное моноклональное антитело, где, при связывании с LIF человека, моноклональное антитело связывается по меньшей мере с одним из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO:98.

161. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с A13.

162. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с I14.

163. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с R15.

164. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с H16.

165. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с P17.

166. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с C18.

167. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с H19.

168. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с N20.

169. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с Q25.

170. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с Q29.

171. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с Q32.

172. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с D120.

173. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с R123.

174. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с S127.

175. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с N128.

176. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с L130.

177. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с C131.

178. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с C134.

179. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с S135.

180. Выделенное моноклональное антитело по п. 160, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с H138.

181. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 160-180, где моноклональное антитело связывается с двумя отличающимися альфа-спиралями LIF человека, причем две отличающиеся альфа-спирали разделены множеством аминокислот.

182. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 160-181, где моноклональное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека.

183. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 160-181, где антитело блокирует биологическую активность LIF человека в модели на культуре клеток.

184. Выделенное моноклональное антитело по п. 183, где биологическая активность представляет собой LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3.

185. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 160-184, где антитело является химерным, гуманизированным или антителом человека.

186. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 160-185, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или наполнитель.

187. Фармацевтическая композиция по п. 186, составленная для внутривенной инъекции.

188. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 160-185 или фармацевтическая композиция по п. 186 или п. 187 для применения в способе лечения рака.

189. Способ лечения индивидуума с диагностированным раком или с подозрением на его наличие, предусматривающий введение индивидууму моноклонального антитела по любому из пп. 160-185 или фармацевтической композиции по п. 187 или п. 187.

190. Выделенное моноклональное антитело, где, при связывании с LIF человека, моноклональное антитело связывается по меньшей мере с двумя из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

191. Выделенное моноклональное антитело по п. 190, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с тремя из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO:98.

192. Выделенное моноклональное антитело по п. 190, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с пятью из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

193. Выделенное моноклональное антитело по п. 190, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с 10 из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

194. Выделенное моноклональное антитело по п. 190, где моноклональное антитело связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

195. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 190-194, где моноклональное антитело связывается с двумя отличающимися альфа-спиралями LIF человека, причем две отличающиеся альфа-спирали разделены множеством аминокислот.

196. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 190-195, где моноклональное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека.

197. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 190-196, где антитело блокирует биологическую активность LIF человека в модели на культуре клеток.

198. Выделенное моноклональное антитело по п. 197, где биологическая активность представляет собой LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3.

199. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 190-198, где антитело является химерным, гуманизированным или антителом человека.

200. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 190-199, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или наполнитель.

201. Фармацевтическая композиция по п. 200, составленная для внутривенной инъекции.

202. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 190-199 или фармацевтическая композиция по п. 200 или п. 201 для применения в способе лечения рака.

203. Способ лечения индивидуума с диагностированным раком или с подозрением на его наличие, предусматривающий введение индивидууму моноклонального антитела по любому из пп. 190-199 или фармацевтической композиции по п. 200 или п. 201.

204. Выделенное моноклональное антитело, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, и причем моноклональное антитело связывается по меньшей мере с одним из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

205. Выделенное моноклональное антитело по п. 204, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с двумя из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

206. Выделенное моноклональное антитело по п. 204, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с пятью из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

207. Выделенное моноклональное антитело по п. 204, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с 10 из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

208. Выделенное моноклональное антитело по п. 204, где моноклональное антитело связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

209. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 204-208, где моноклональное антитело связывается с двумя отличающимися альфа-спиралями LIF человека, причем две отличающиеся альфа-спирали разделены множеством аминокислот.

210. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 204-209, где моноклональное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека.

211. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 204-210, где антитело блокирует биологическую активность LIF человека в модели на культуре клеток.

212. Выделенное моноклональное антитело по п. 211, где биологическая активность представляет собой LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3.

213. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 204-212, где антитело является химерным, гуманизированным или антителом человека.

214. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 204-213, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или наполнитель.

215. Фармацевтическая композиция по п. 214, составленная для внутривенной инъекции.

216. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 204-213 или фармацевтическая композиция по п. 214 или п. 215 для применения в способе лечения рака.

217. Способ лечения индивидуума с диагностированным раком или с подозрением на его наличие, предусматривающий введение индивидууму моноклонального антитела по любому из пп. 204-216 или фармацевтической композиции по п. 214 или п. 215.

218. Выделенное моноклональное антитело, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 95 (TSWEWDLDF), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от таковой, изложенной в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT), 0, 1, 2, 3 или 4 аминокислотными остатками, и причем моноклональное антитело связывается по меньшей мере с одним из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

219. Выделенное моноклональное антитело по п. 218, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с двумя из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

220. Выделенное моноклональное антитело по п. 218, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с пятью из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

221. Выделенное моноклональное антитело по п. 218, где моноклональное антитело связывается по меньшей мере с 10 из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

222. Выделенное моноклональное антитело по п. 218, где моноклональное антитело связывается со всеми из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO: 98.

223. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 218-222, где моноклональное антитело связывается с двумя отличающимися альфа-спиралями LIF человека, причем две отличающиеся альфа-спирали разделены множеством аминокислот.

224. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 218-223, где моноклональное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека.

225. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 218-224, где антитело блокирует биологическую активность LIF человека в модели на культуре клеток.

226. Выделенное моноклональное антитело по п. 225, где биологическая активность представляет собой LIF-индуцированное фосфорилирование STAT3.

227. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 218-226, где антитело является химерным, гуманизированным или антителом человека.

228. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 218-227, дополнительно содержащая фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или наполнитель.

229. Фармацевтическая композиция по п. 228, составленная для внутривенной инъекции.

230. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп. 218-227 или фармацевтическая композиция по п. 228 или п. 229 для применения в способе лечения рака.

231. Способ лечения индивидуума с диагностированным раком или с подозрением на его наличие, предусматривающий введение индивидууму моноклонального антитела по любому из пп. 218-227 или фармацевтической композиции по п. 228 или п. 229.

232. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 2; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 10; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

233. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 3; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16; определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

234. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее: определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 3; определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 10; определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16; определяющую

комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22; и определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26; и определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29.

235. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее:

a) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 3;

b) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 10;

c) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 16;

d) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22;

e) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26; и

f) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29,

причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF.

236. Рекомбинантное антитело по п. 235, где рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF.

237. Рекомбинантное антитело по любому из п. 235 или п. 236, где рекомбинантное антитело является гуманизированным.

238. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-237, где рекомбинантное антитело является деиммунизированным.

239. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-238, где рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

240. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-238, где рекомбинантное антитело предусматривает Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело.

241. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-240, где рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

242. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-240, где рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 пикомоль.

243. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-242, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

244. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-242, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 95 (TSWEWDLDF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

245. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-244, содержащее последовательность VH, по меньшей мере на приблизительно 80% идентичную

аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL, по меньшей мере на приблизительно 80% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

246. Рекомбинантное антитело по п. 245, содержащее последовательность VH, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 72; и последовательность VL, по меньшей мере на приблизительно 90% идентичную аминокислотной последовательности, изложенной в SEQ ID NO: 76.

247. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-246, где рекомбинантное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека.

248. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235 -247, где, при связывании с LIF, рекомбинантное антитело связывается по меньшей мере с одним из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO:98.

249. Рекомбинантное антитело по п. 248, где, при связывании с LIF, рекомбинантное антитело связывает все из следующих остатков: A13, I14, R15, H16, P17, C18, H19, N20, Q25, Q29, Q32, D120, R123, S127, N128, L130, C131, C134, S135, H138 SEQ ID NO:98.

250. Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-249 и фармацевтически приемлемый носитель.

251. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 235-249 или фармацевтическая композиция по п. 250 для применения в способе лечения рака.

252. Способ лечения рака у индивидуума, предусматривающий введение рекомбинантного антитела по любому из пп. 235-249 или фармацевтической композиции по п. 0 индивидууму.

253. Применение по п. 252, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

254. Способ по п. 253, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

255. Способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела по любому из пп. 235 -249.

256. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее:

а) определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (VH-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 4-7 или 33;

б) определяющую комплементарность область 2 тяжелой цепи (VH-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 11-13 или 35;

с) определяющую комплементарность область 3 тяжелой цепи (VH-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 17-19 или 37;

д) определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (VL-CDR1), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 21-23 или 39;

е) определяющую комплементарность область 2 легкой цепи (VL-CDR2), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 25-27 или 41; и

ф) определяющую комплементарность область 3 легкой цепи (VL-CDR3), содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в любом из SEQ ID NO: 29, 30 или 43;

причем рекомбинантное антитело специфически связывается с LIF.

257. Рекомбинантное антитело по п. 256, где рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF.

258. Рекомбинантное антитело по п. 256 или п. 257, где рекомбинантное антитело является гуманизированным.

259. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 256-258, где рекомбинантное антитело является деиммунизированным.

260. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 256-259, где рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

261. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 256-259, где рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело.

262. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 256-261, где рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

263. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 256-262, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 6 (NAWMH), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 12 (IKDKSDNYAT), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 18 (WEWYLDLF), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 22 (QSLLDSDGHTY), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 26 (SVS), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT).

264. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 256-263, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 7 (SKFMY), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 13 (WIYPGDGDTEYNQKFSE), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 19 (RDYHSSHFAFY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 23 (RSSQSLHNNNGNTYLS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 27 (QVSNRFS), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 30 (GQGTQYPYT).

265. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 256-264, где VH-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 33 (TAGMQ), где VH-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 35 (WINTQSGEPQYVDDFRG), где VH-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 37 (WALYSEYDVMDY), где VL-CDR1 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 39 (KASENVDSYVS), где VL-CDR2 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 41 (GASNRYT), и где VL-CDR3 содержит аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 43 (GQSYRYPPT).

266. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 256-265, где рекомбинантное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека.

267. Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантное антитело по любому из пп. 256 -266 и фармацевтически приемлемый носитель.

268. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 256-266 или фармацевтическая композиция по п. 267 для применения в способе лечения рака.

269. Применение по п. 268, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

270. Способ лечения рака у индивидуума, предусматривающий введение рекомбинантного антитела по любому из пп. 256-266 или фармацевтической композиции по п. 267 индивидууму.

271. Способ по п. 270, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

272. Способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела по любому из пп. 256-266.

273. Рекомбинантное антитело, которое специфически связывает лейкоз-ингибирующий фактор (LIF), содержащее:

a) VH-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 1 (GFTFSHAWMH);

b) VH-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 9 (QIKAKSDDYATYYAESVKG);

c) VH-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 15 (TCWEWDLDF),

d) VL-CDR1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 21 (RSSQSLLDSDGHTYLN),

e) VL-CDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 25 (SVSNLES); и

f) VL-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную в SEQ ID NO: 29 (MQATHAPPYT);

причем цистеиновый остаток SEQ ID NO: 15 представляет собой любую аминокислоту, за исключением тирозина, триптофана, гистидина, лизина или аргинина.

274. Рекомбинантное антитело по п. 273, где рекомбинантное антитело связывается с гликозилированным LIF.

275. Рекомбинантное антитело по п. 273 или п. 274, где рекомбинантное антитело является гуманизированным.

276. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 273-275, где рекомбинантное антитело является деиммунизированным.

277. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 273-276, где рекомбинантное антитело содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина.

278. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 273-276, где рекомбинантное антитело представляет собой Fab, F(ab)₂, однодоменное антитело, одноцепочечный переменный фрагмент (scFv) или наноантитело.

279. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 273-261, где рекомбинантное антитело специфически связывает LIF с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 200 пикомоль.

280. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 273-279, где рекомбинантное антитело блокирует связывание LIF человека с gp130 человека.

281. Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантное антитело по любому из пп. 273-280 и фармацевтически приемлемый носитель.

282. Рекомбинантное антитело по любому из пп. 273-280 или фармацевтическая композиция по п. 281 для применения в способе лечения рака.

283. Способ лечения рака у индивидуума, предусматривающий введение рекомбинантного антитела по любому из пп. 273-266 или фармацевтической композиции по п. 281 индивидууму.

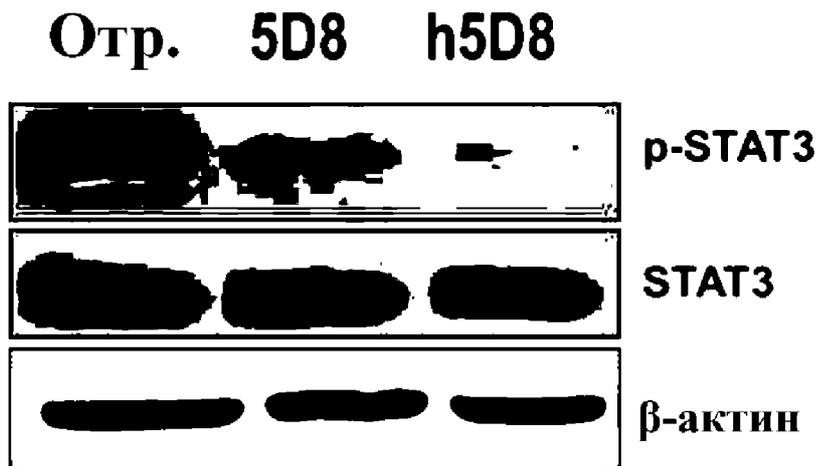
284. Применение по п. 282, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

285. Способ по п. 283, в котором рак включает глиобластому, рак поджелудочной железы, рак яичника, рак толстой кишки, рак предстательной железы или рак легкого.

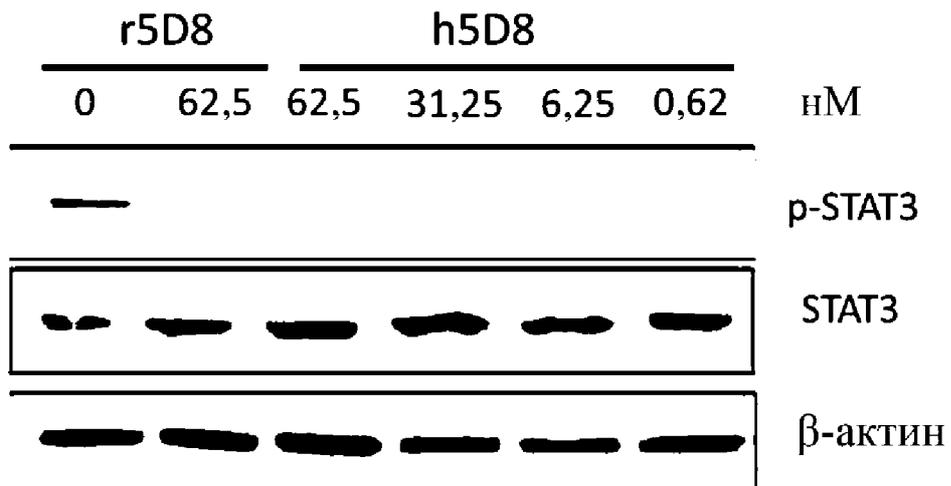
286. Способ получения противоракового препарата для лечения субъекта с раком, предусматривающий смешивание фармацевтически приемлемого носителя и рекомбинантного антитела по любому из пп. 273-280.



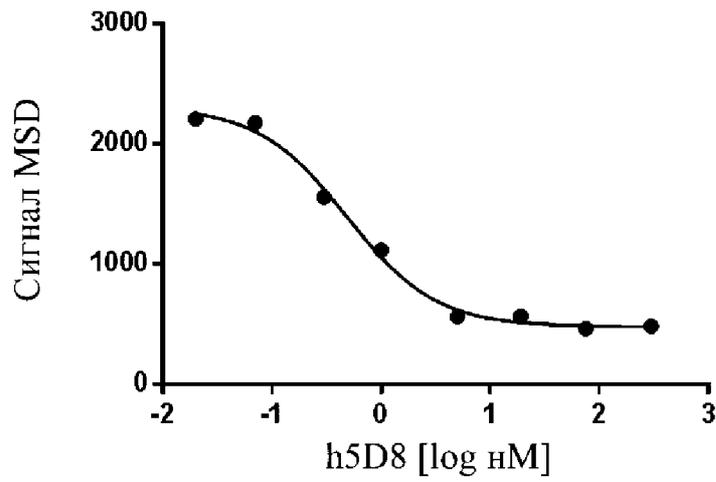
Фиг. 1



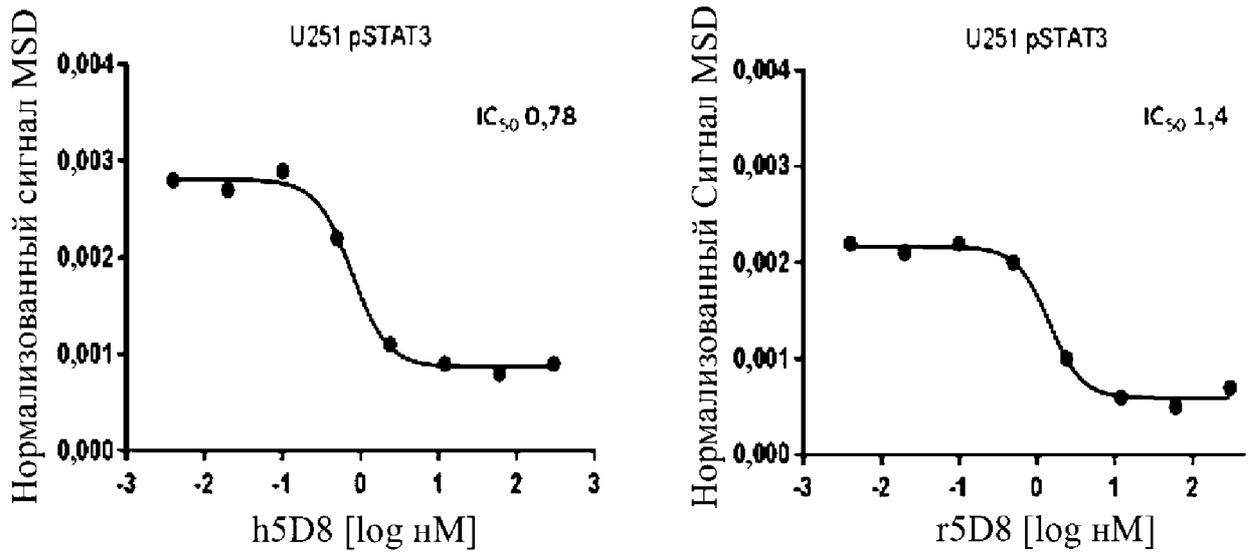
Фиг. 2А



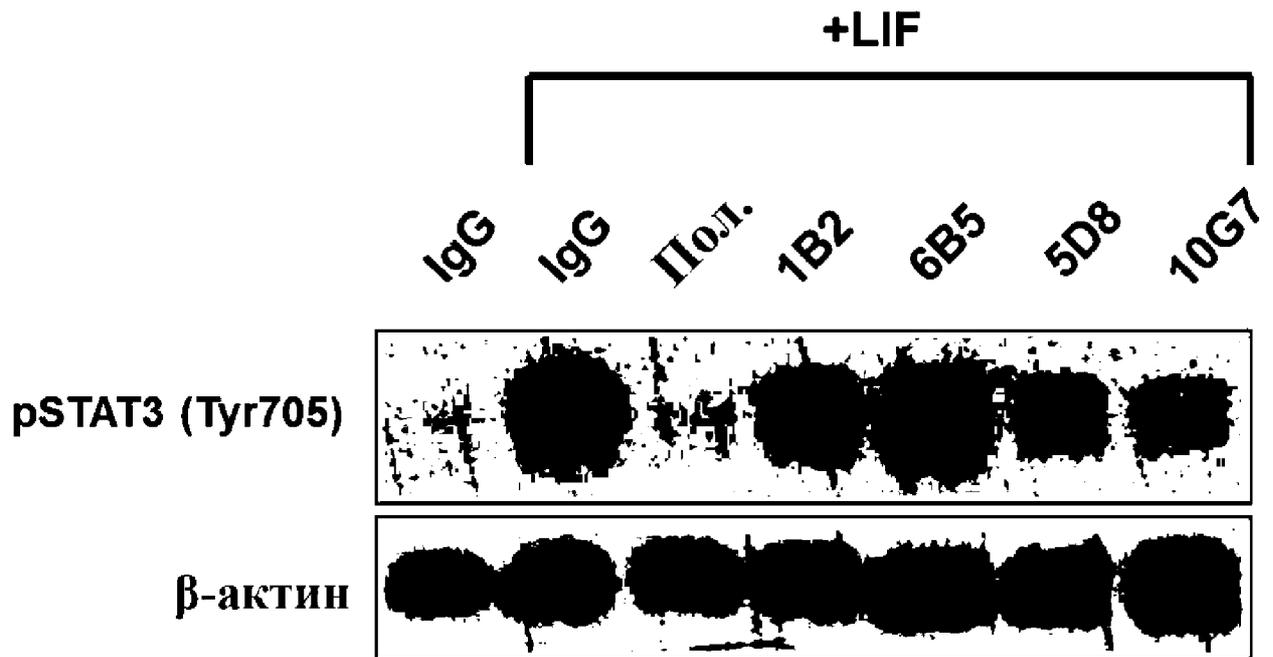
Фиг. 2В

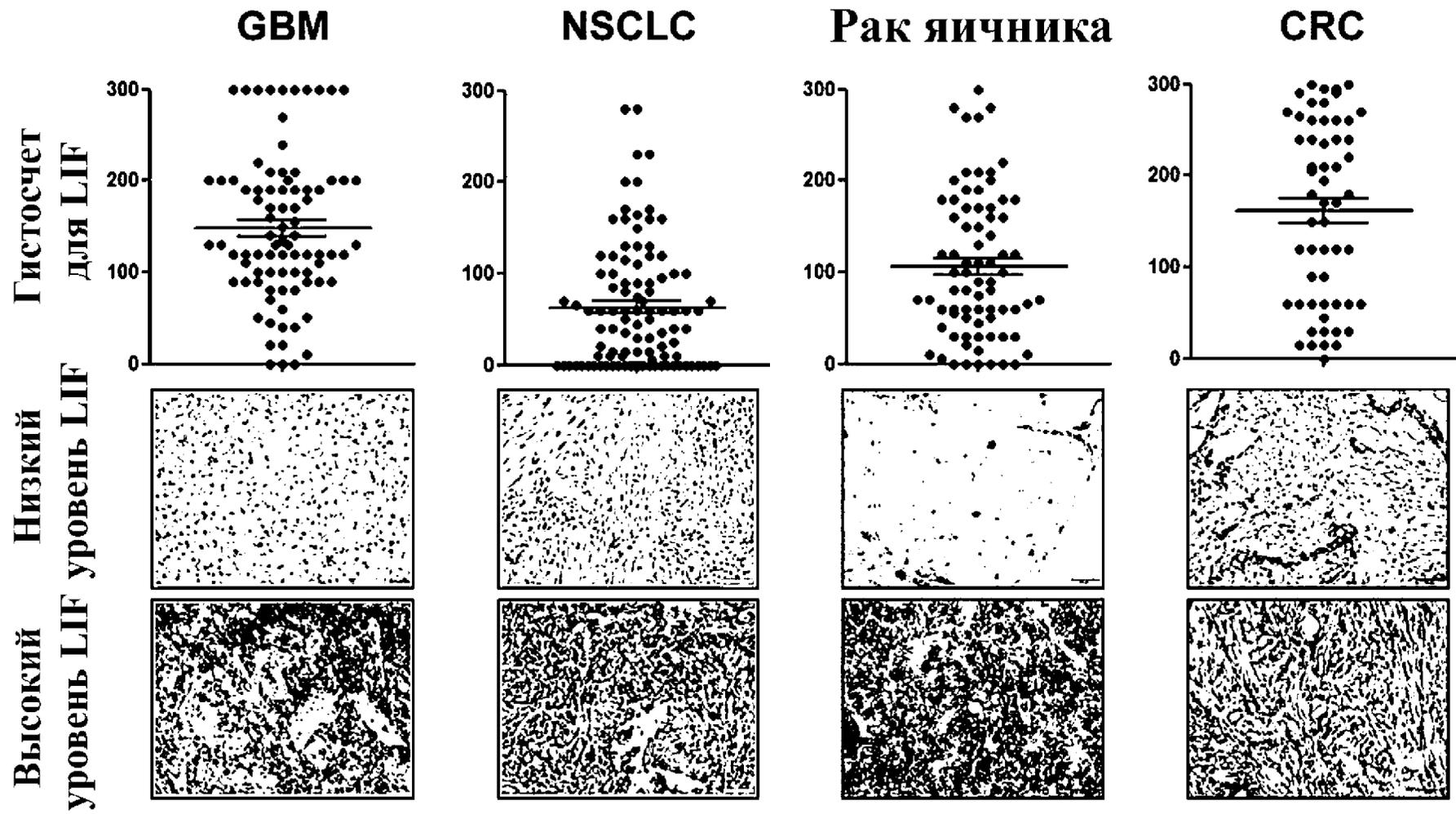


Фиг. 3А



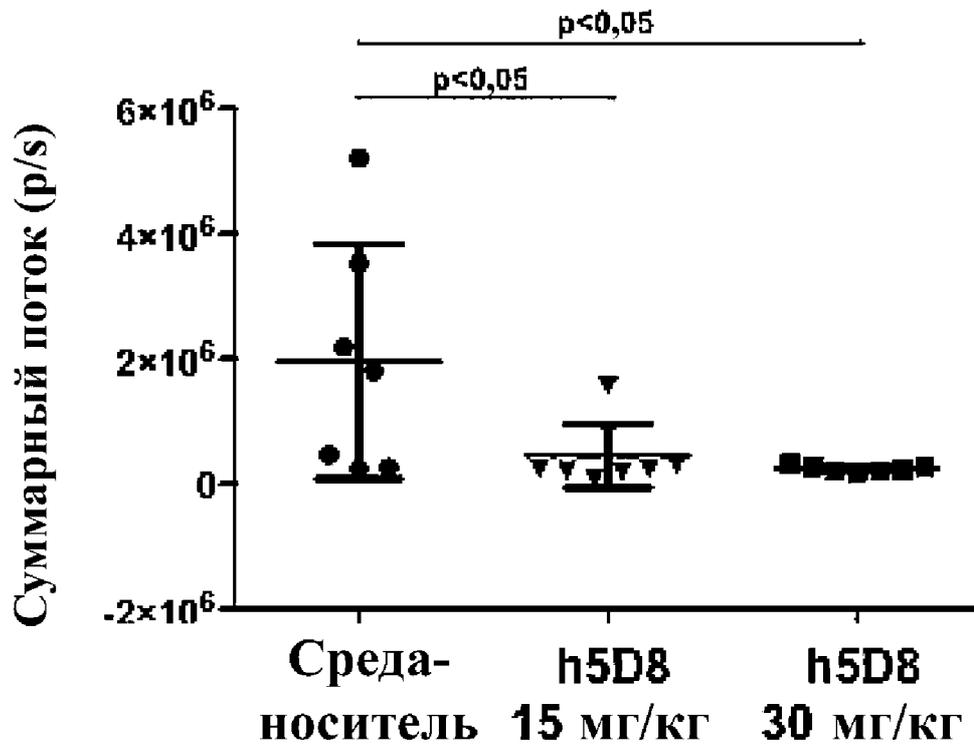
Фиг. 3В

**Фиг. 4**

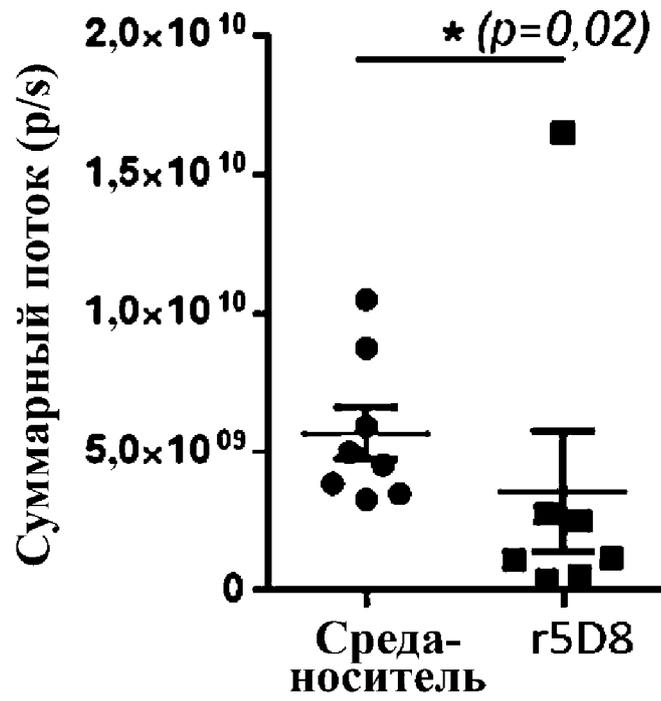


Фиг. 5

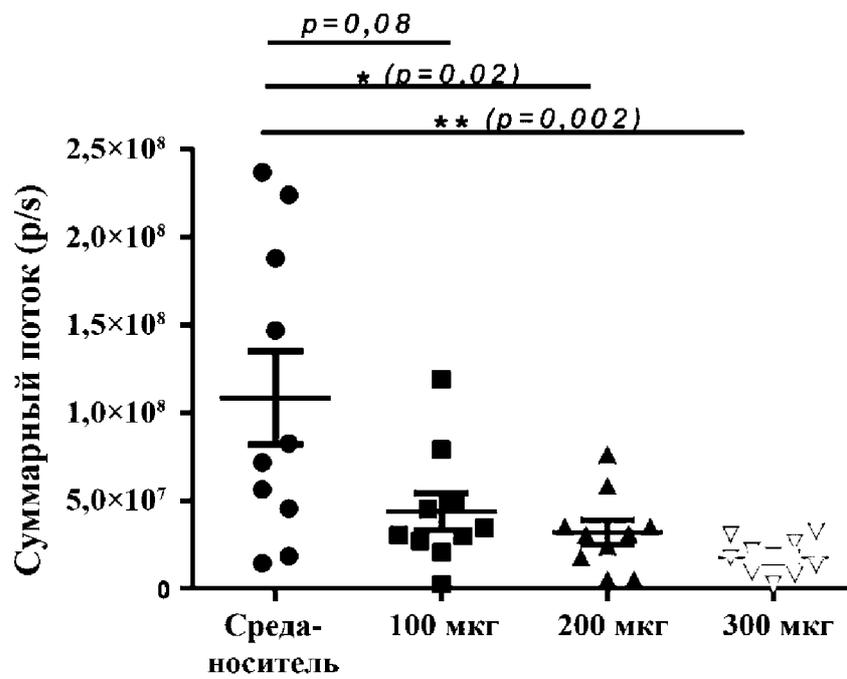
**Объем опухоли
(30 дней после хирургического вмешательства)**



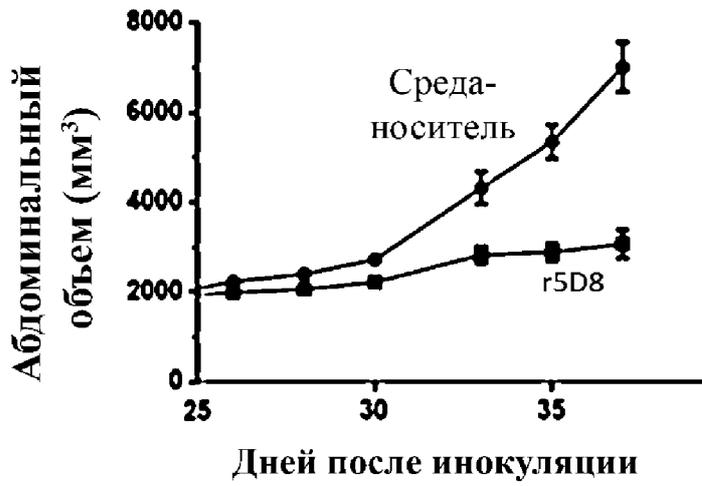
Фиг. 6



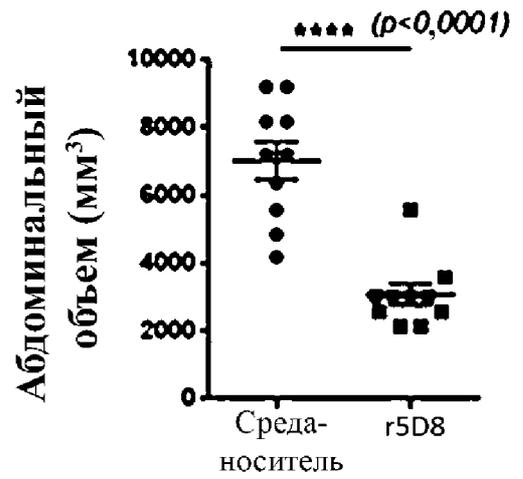
Фиг. 7А



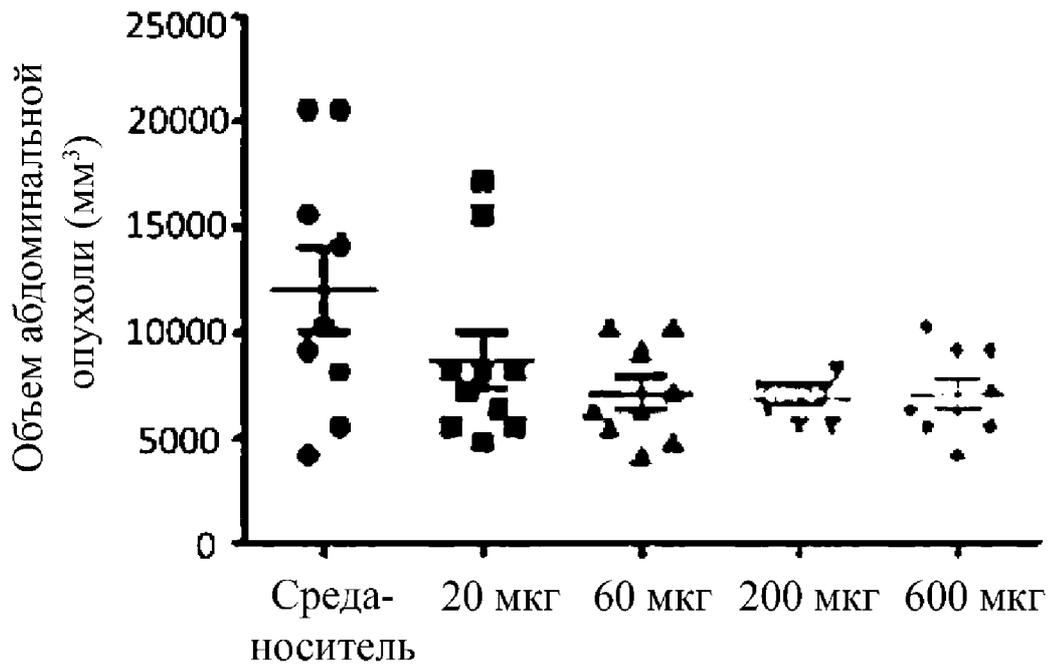
Фиг. 7В



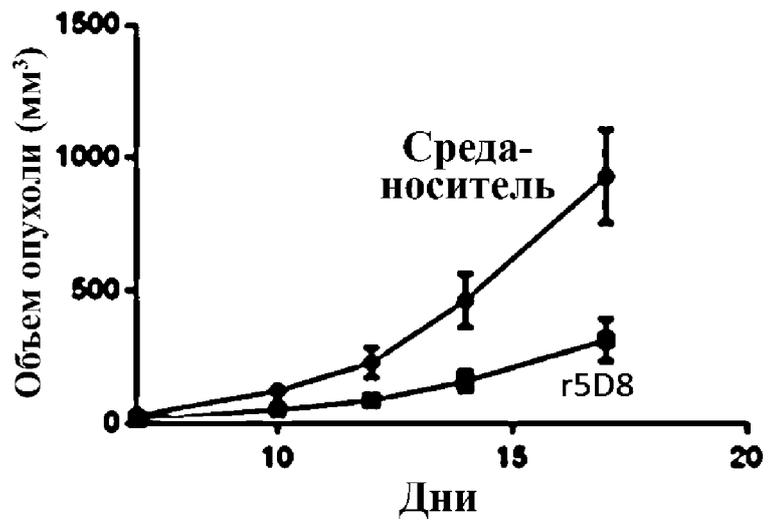
Фиг. 8А



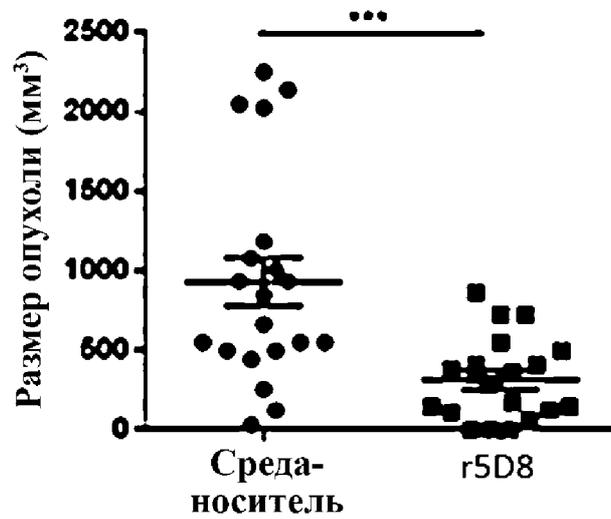
Фиг. 8В



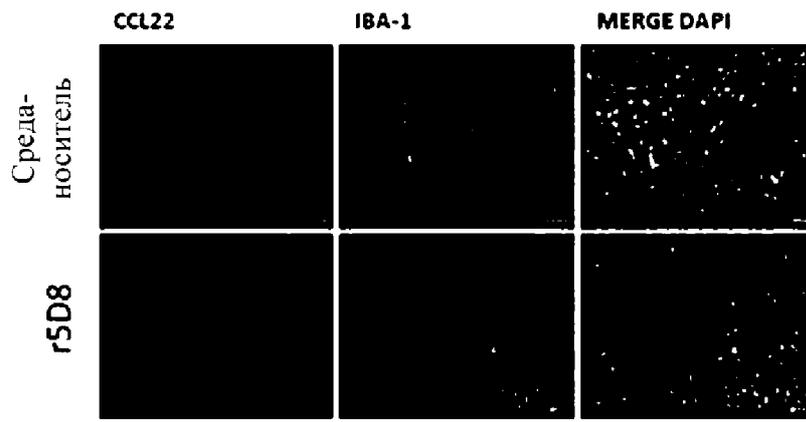
Фиг. 8С



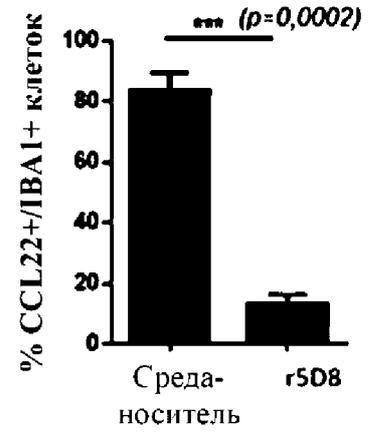
Фиг. 9А

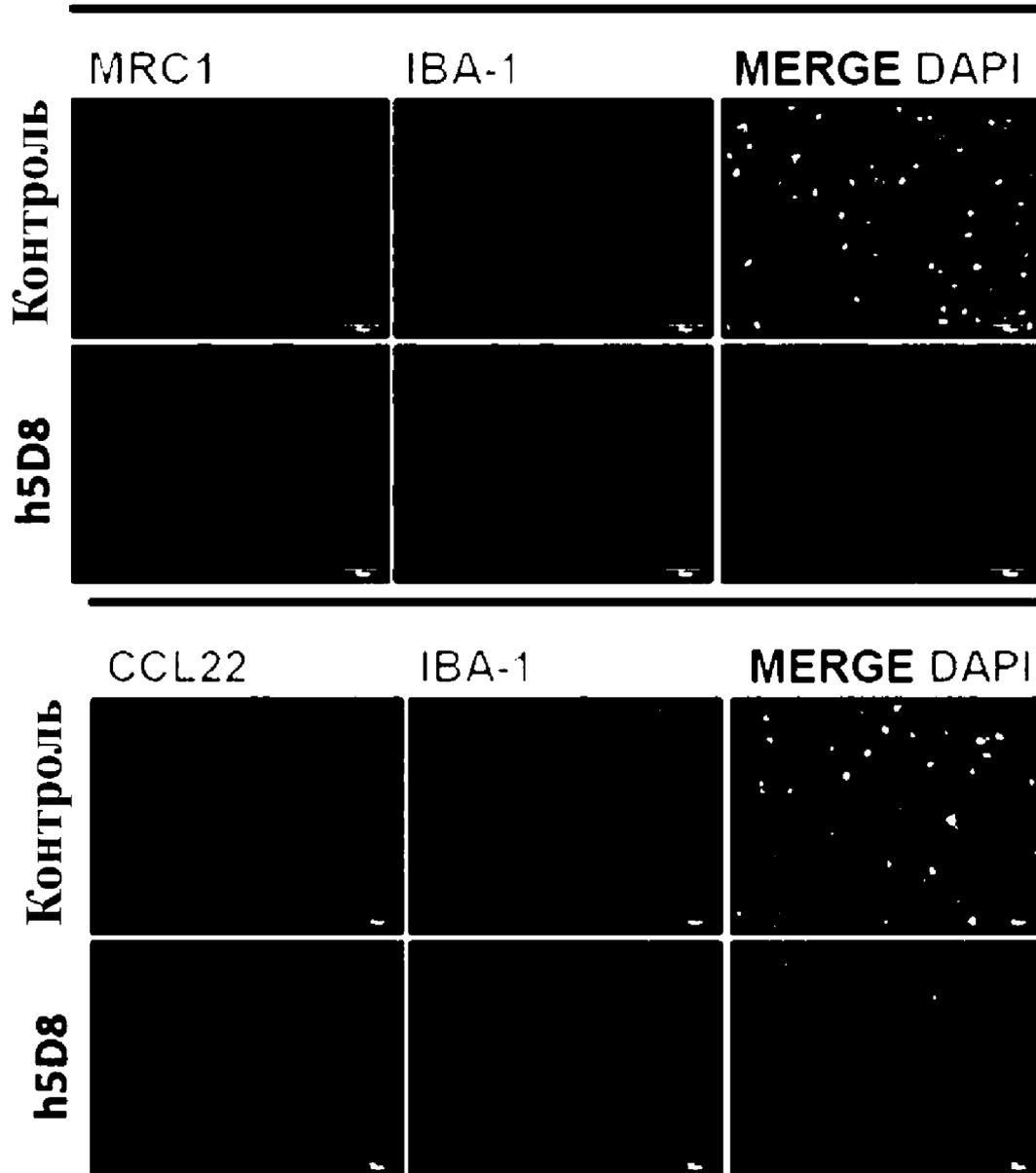


Фиг. 9В

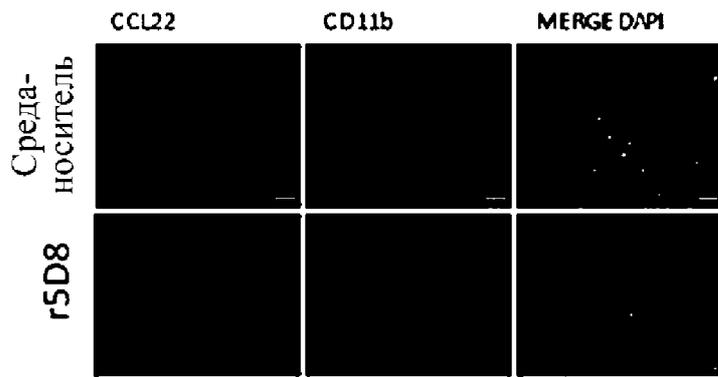


Фиг. 10А

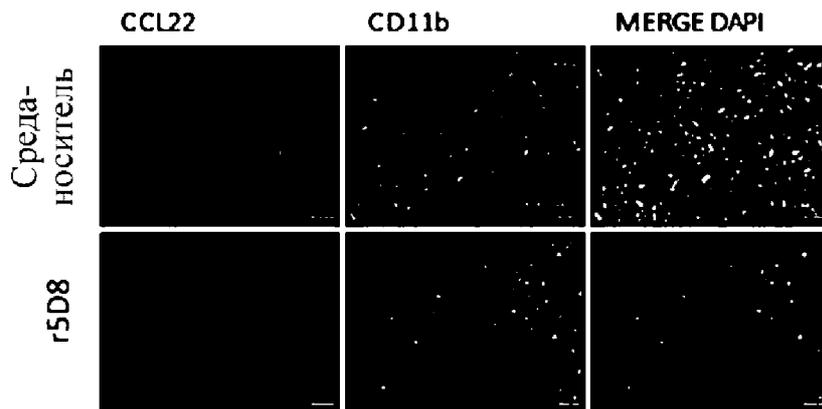
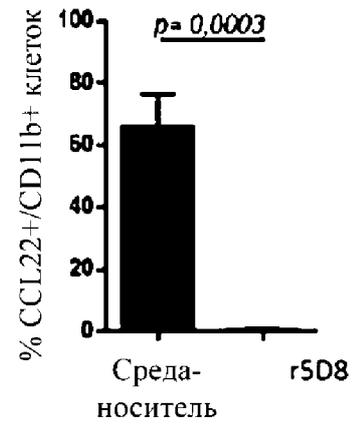




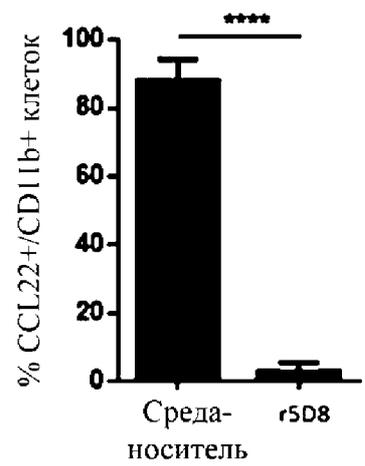
Фиг. 10В

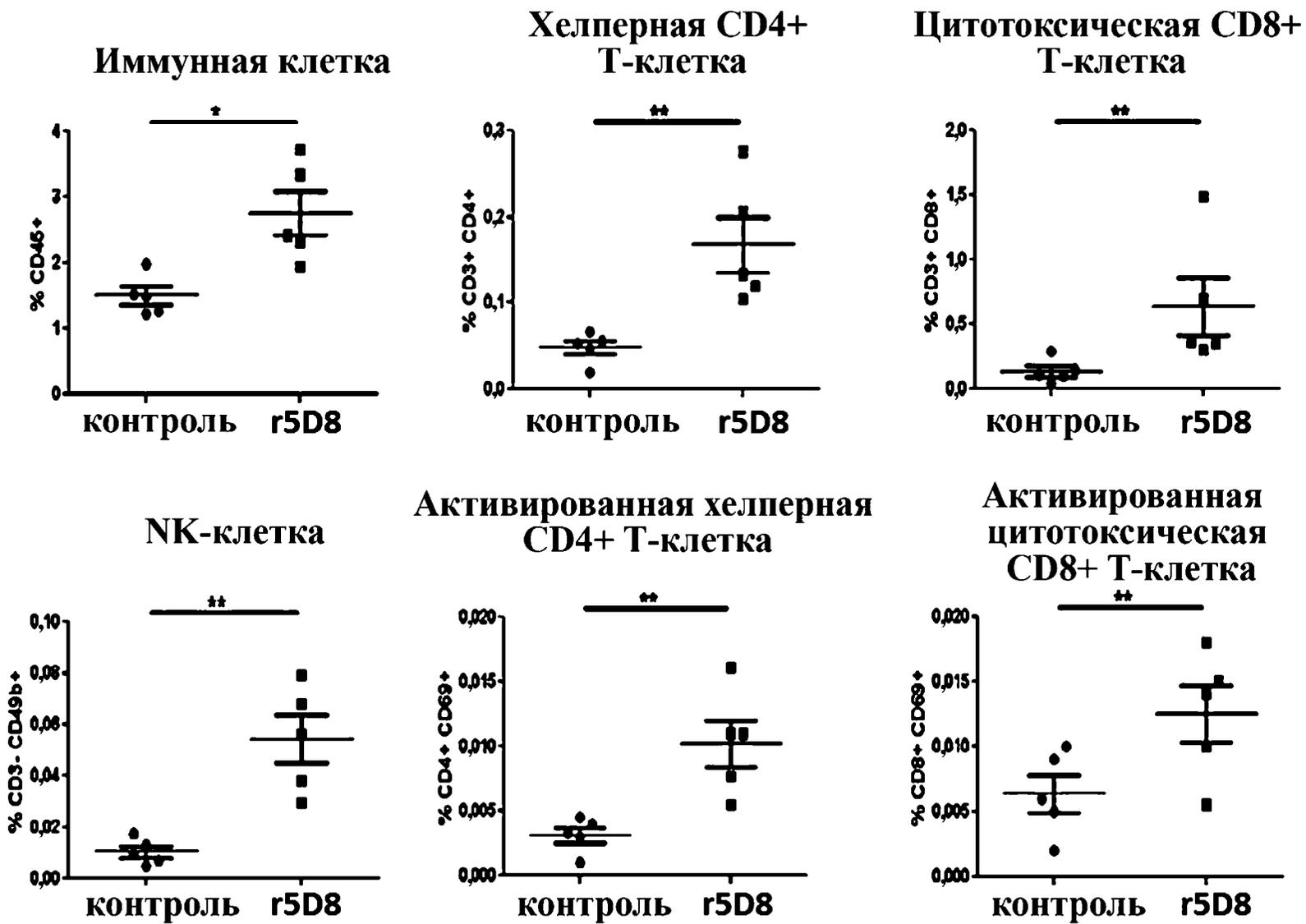


Фиг. 10C

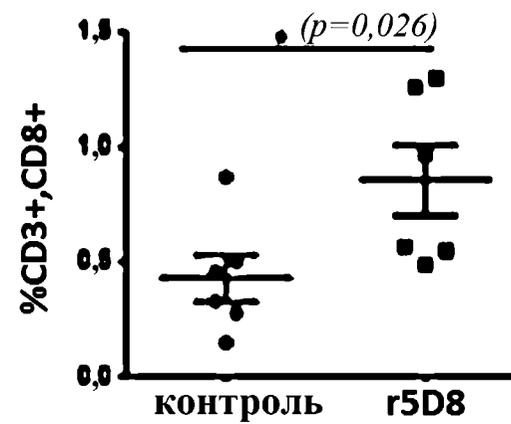
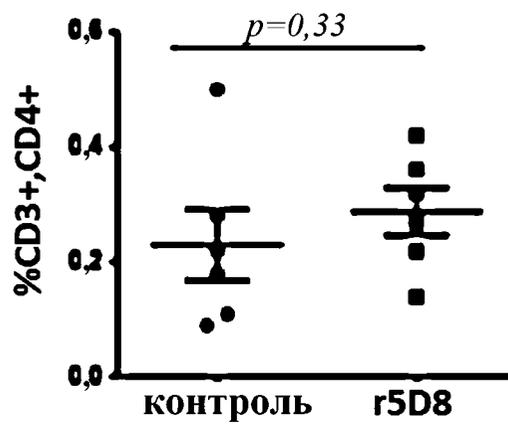
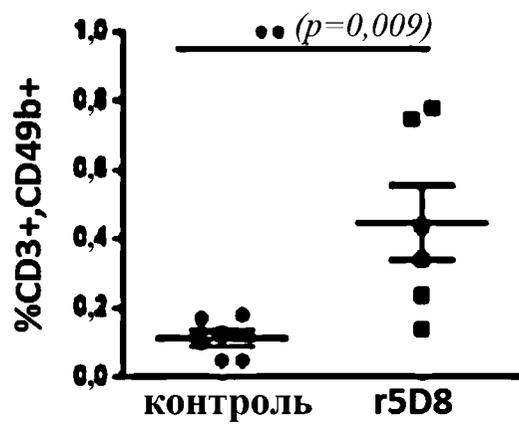


Фиг. 10D

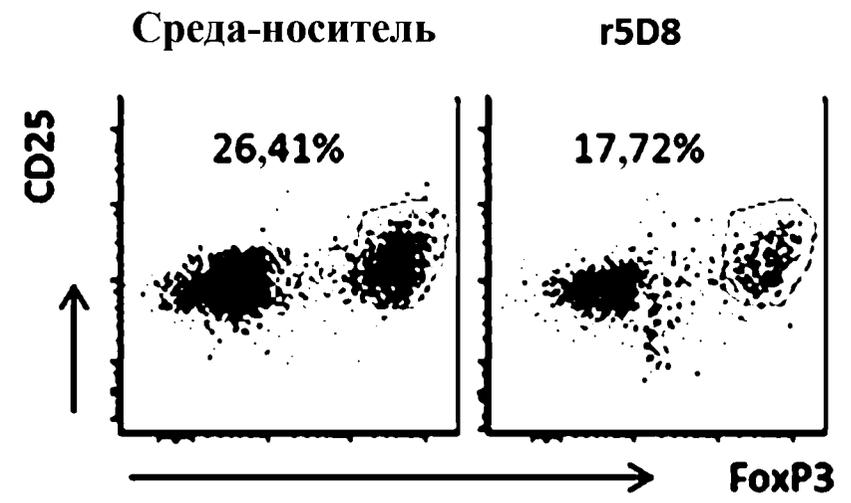
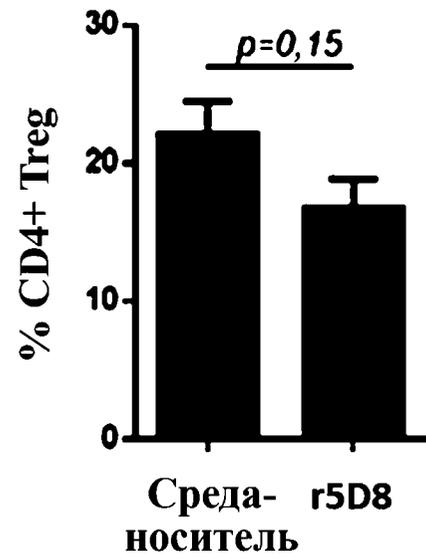




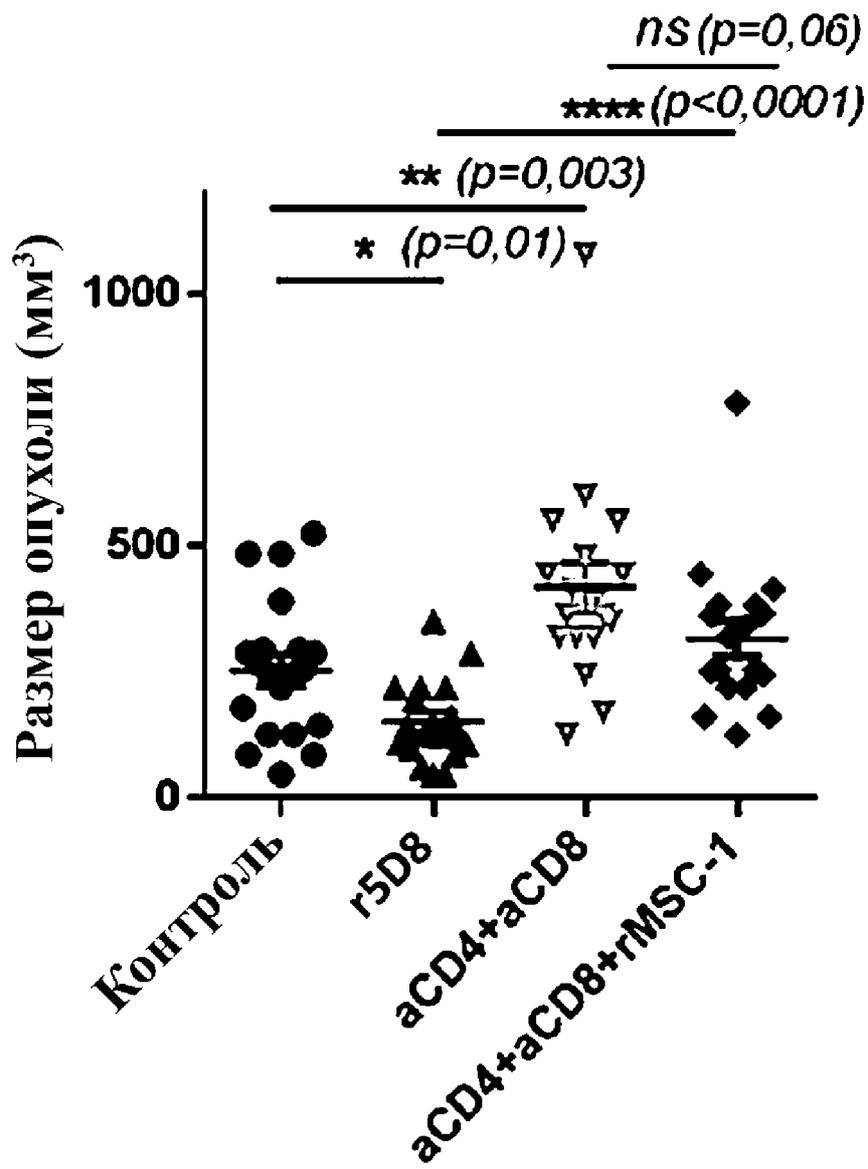
Фиг. 11А



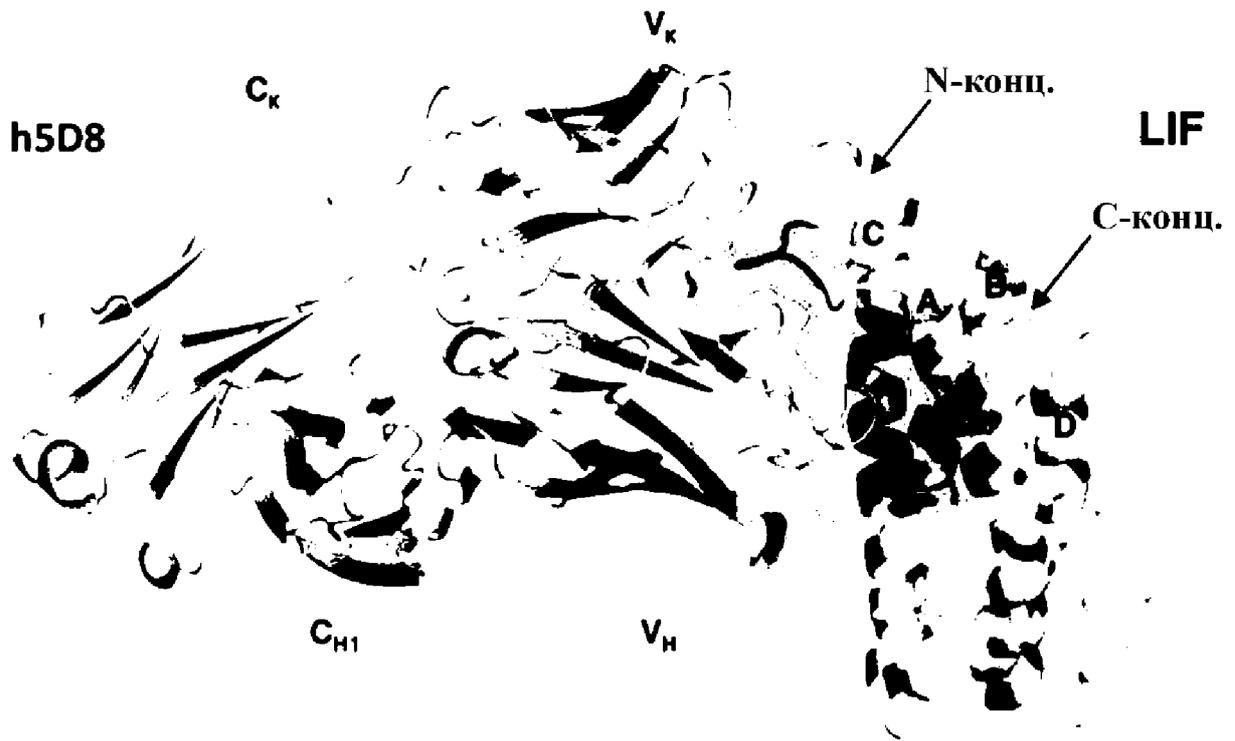
Фиг. 11В



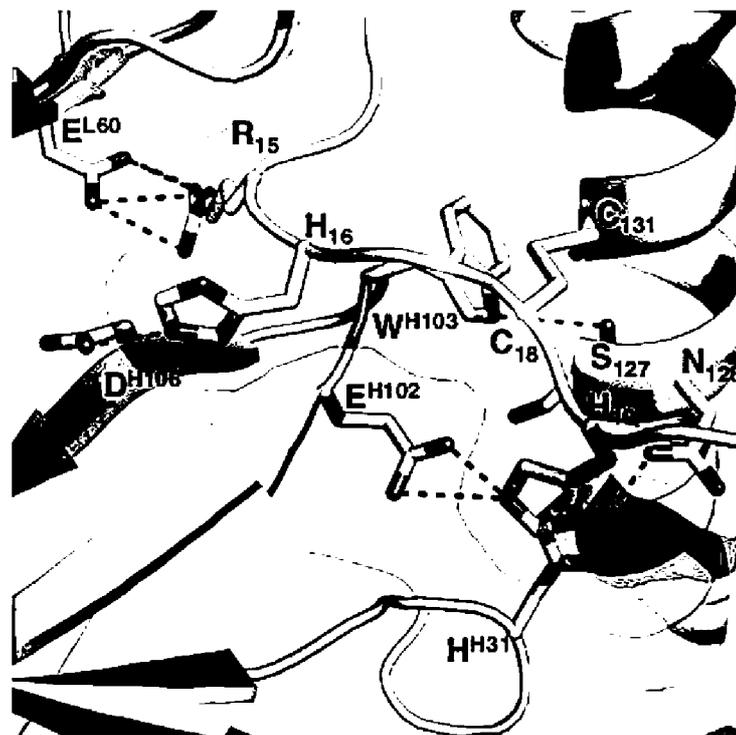
Фиг. 11С



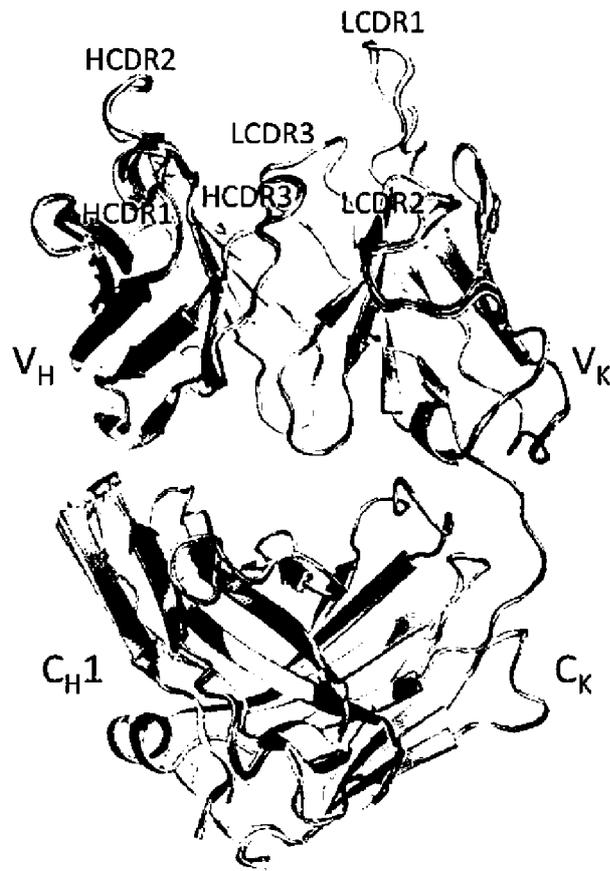
Фиг. 12



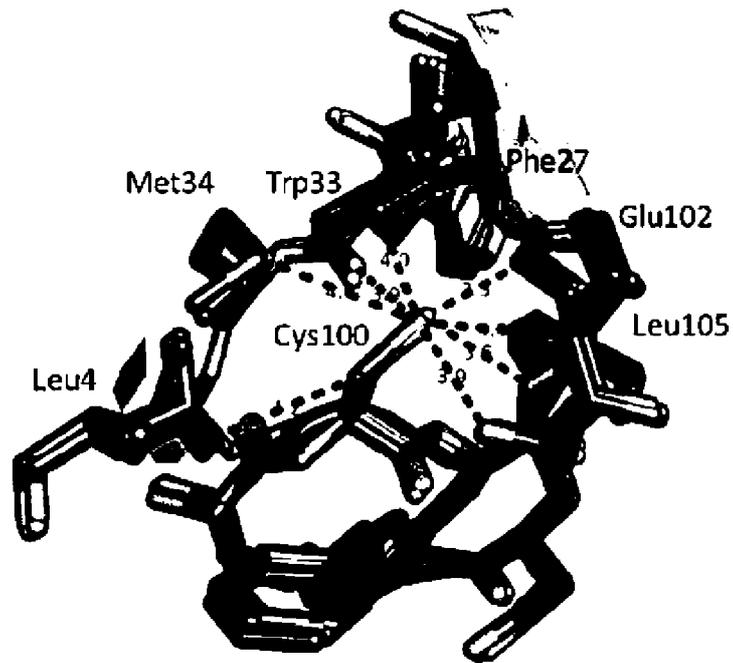
Фиг. 13А



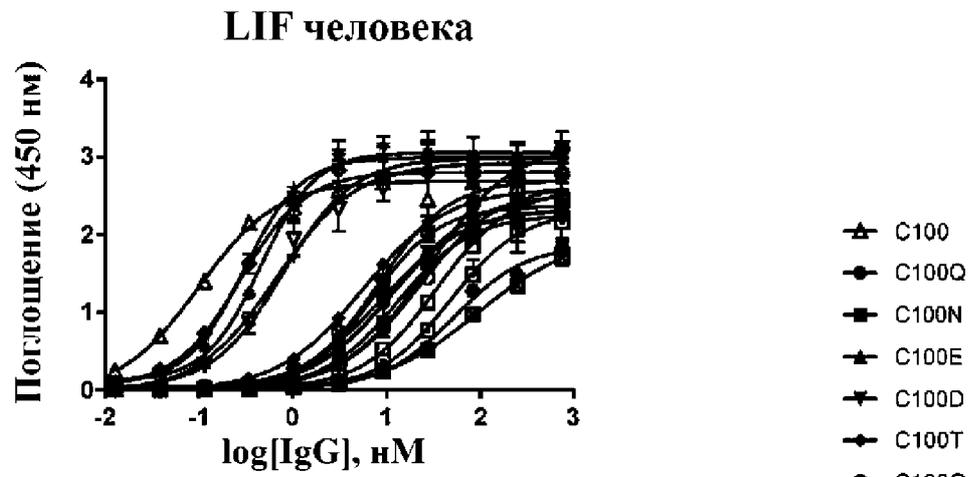
Фиг. 13В



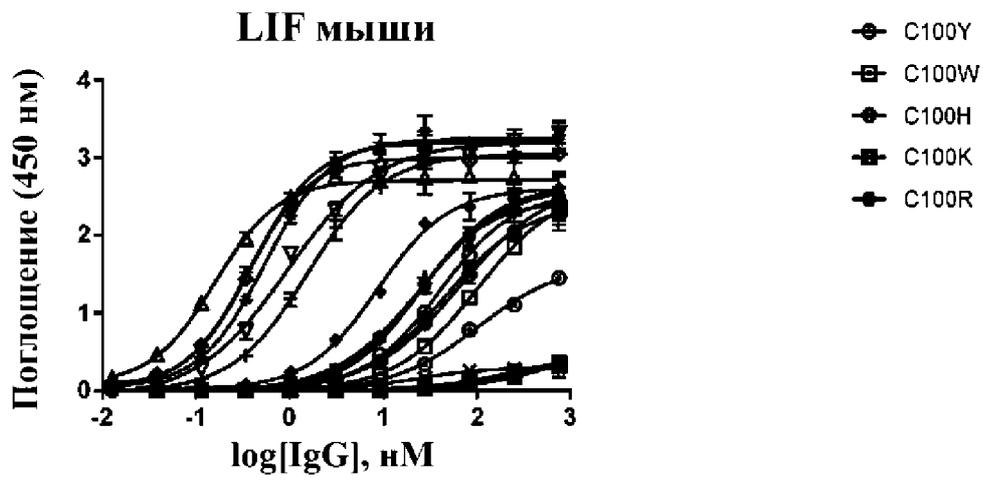
Фиг. 14А



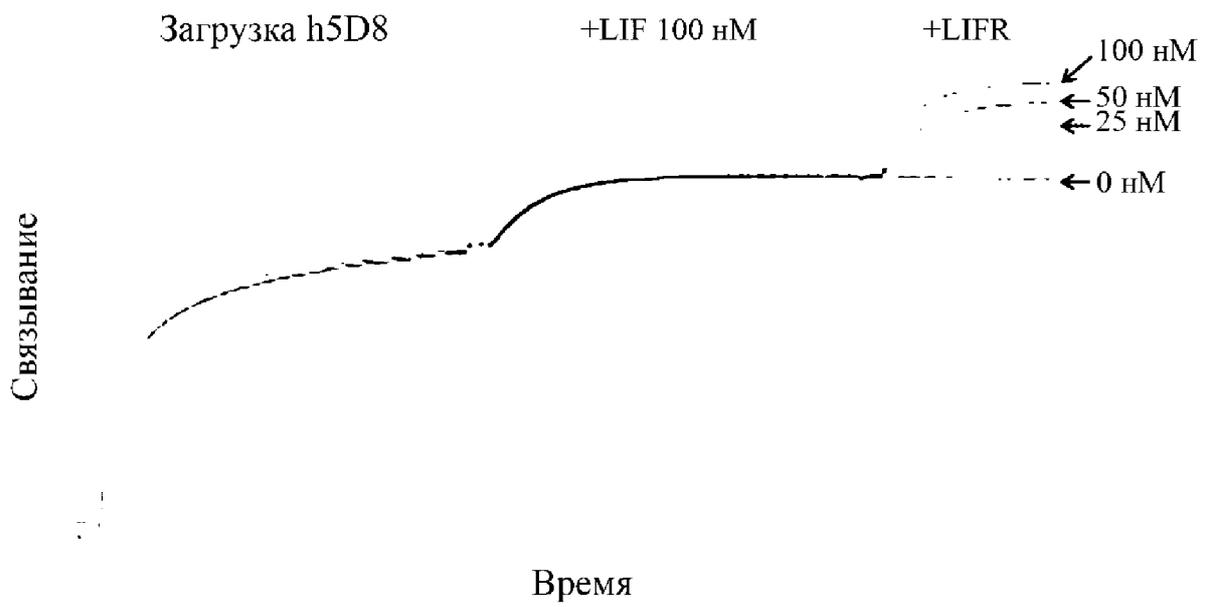
Фиг. 14В



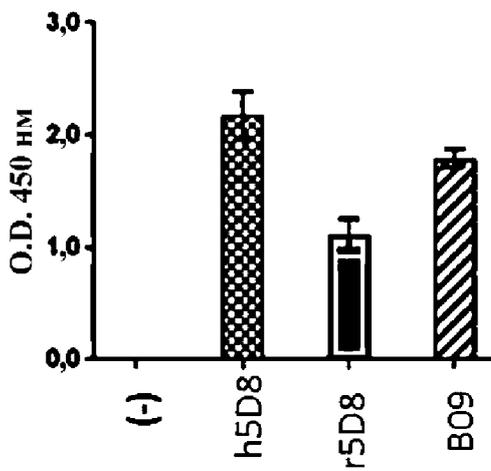
Фиг. 15А



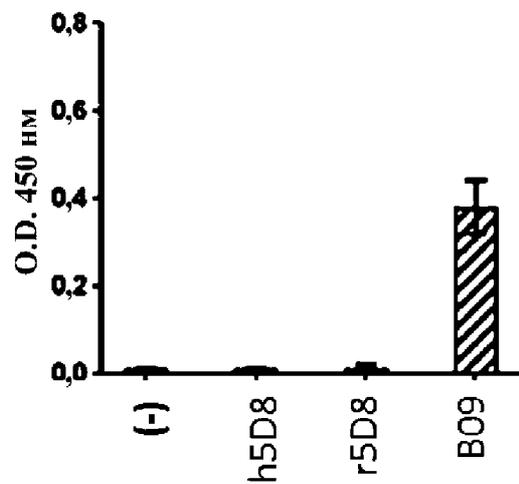
Фиг. 15В



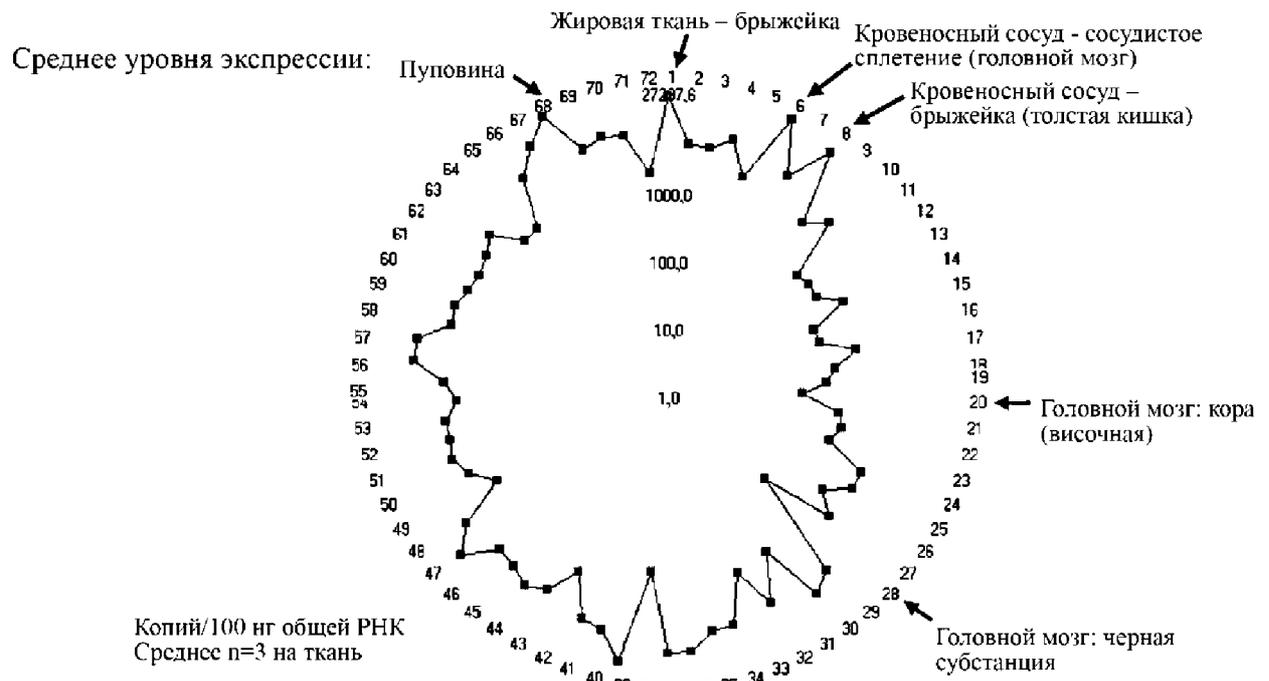
Фиг. 16А



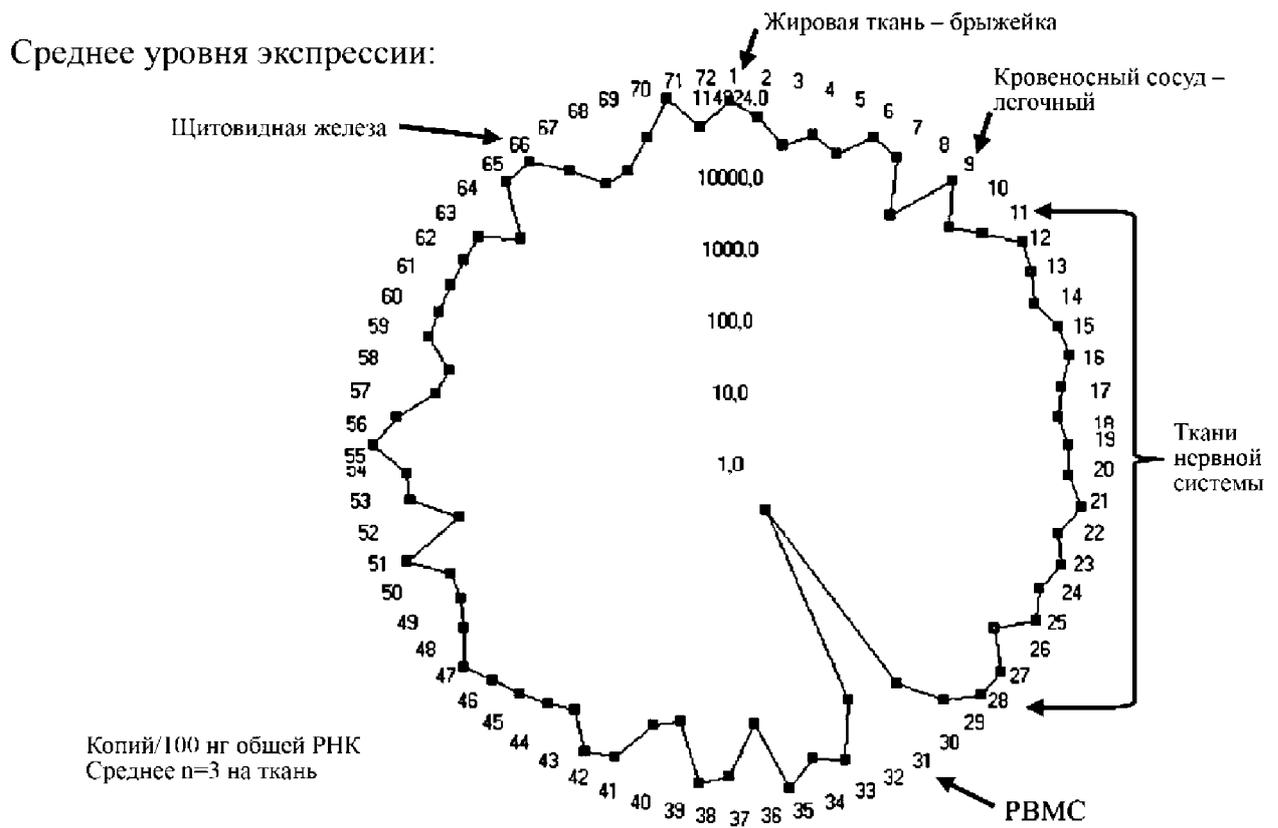
Фиг. 16В



Фиг. 16С



Фиг. 17А



Фиг. 17В