

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202092743** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2021.04.29

(22) Дата подачи заявки
2019.07.16

(51) Int. Cl. *C07K 16/28* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)

(54) **АНТИТЕЛА К IL36R**

(31) 62/698,482; 62/846,989; 62/866,028

(32) 2018.07.16; 2019.05.13; 2019.06.25

(33) US

(86) PCT/US2019/041952

(87) WO 2020/018503 2020.01.23

(88) 2020.02.20

(71) Заявитель:
**РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Фэйрхерст Джанетт, Гарнова Елена,
Олсон Уильям, Хаксинасто Сокол
(US)**

(74) Представитель:

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

(57) В настоящем изобретении предусмотрены антитела и антигенсвязывающие фрагменты (например, человеческие антитела), которые специфически связываются с человеческим рецептором IL-36. Способы лечения или предупреждения заболеваний, опосредованных IL36R (например, воспалительных состояний кожи или толстой кишки, таких как ладонно-подошвенный пустулезный псориаз, ладонно-подошвенный пустулез, генерализованный пустулезный псориаз, язвенный колит или IBD), с применением антител и фрагментов также предусмотрены наряду со способами получения антител и фрагментов.

A1

202092743

202092743

A1

Антитела к IL36R

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[001] Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 62/698482, поданной 16 июля 2018 года; предварительной заявки на патент США № 62/846989, поданной 13 мая 2019 года; и предварительной заявки на патент США № 62/866028, поданной 25 июня 2019 года; каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ НАСТОЯЩЕЕ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[002] Область техники, к которой относится настоящее изобретение, относится отчасти к антителам, которые связываются с рецептором IL-36, и к применению таких антител для лечения воспалительных нарушений, в том числе псориаза или воспалительного заболевания кишечника.

ВКЛЮЧЕНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ПОСРЕДСТВОМ ССЫЛКИ

[003] Перечень последовательностей в виде текстового файла с кодировкой ASCII, названный 36432_10484US01_SequenceListing, размером 176 КБ, созданный 15 июля 2019 года и поданный в Ведомство по патентам и товарным знакам США через EFS-Web, включен в данный документ посредством ссылки.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[004] Цитокины типа интерлейкина (IL)-36 включают 3 агониста – IL-36 α , IL-36 β и IL-36 γ , которые связываются с общим рецептором, состоящим из IL-36R и IL-1RAcP, для стимуляции воспалительных реакций. Рецептор IL-36 (IL-36R) представляет собой пронизывающий мембрану один раз рецептор подмножества цитокинов семейства IL-1, IL-36 α , IL-36 β и IL-36 γ , и при связывании с любым из этих лигандов происходит рекрутирование его корецептора, вспомогательного белка IL-1R

(IL-1RAcP), который индуцирует каскад передачи сигнала, который включает сигнальные пути NFκB и митоген-активируемой киназы (Sims et al, 2010).

[005] Медиатором некоторых воспалительных состояний кожи, таких как псориаз, является IL-36. Псориаз представляет собой распространенное иммуноопосредованное воспалительное заболевание кожи, которое включает варианты бляшечного псориаза и генерализованного пустулезного псориаза. Стандартные терапевтические рекомендации включают применение стероидов для местного применения, витамина D для местного применения, системных иммунодепрессантов и различных биопрепаратов, таких как лекарственное средство, подавляющее активность фактора некроза опухолей (TNF) α, антитела к интерлейкину (IL)-23 и антитела к IL-17. Представители семейства IL-36 сверхэкспрессируются в пораженной бляшечным псориазом коже, и активация IL-36R может вносить вклад в устойчивость и хронизацию псориазического воспаления вместе с осью TNF-α/IL-23/IL-17/IL-22. (Di Cesare *et al.*, The IL-23/Th17 axis in the immunopathogenesis of psoriasis, *Journal of Investigative Dermatology* 129: 1339–1350 (2009); и Blumberg *et al.*, IL-1RL2 and its ligands contribute to the cytokine network in psoriasis. *J Immunol* 185: 4354–4362 (2010)).

[006] Однако доступные на данный момент способы лечения ладонно-подошвенного пустулеза (PPP) и ладонно-подошвенного пустулезного псориаза (PPPP) ограничены. Спесолимаб и ANB019 представляют собой антитела к IL36R, находящиеся на стадии клинической разработки, которые имеют недостатки, связанные с иммуногенностью и эффективностью.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[007] В настоящем изобретении предусмотрены антитела к IL36R и их антигенсвязывающие фрагменты, которые проявляют превосходные свойства. Например, авторы настоящего изобретения наблюдали в фармакокинетических исследованиях на трех яванских макаках на группу (группы, которым подкожно вводили дозу, составляющую 0,5 и 5 мг/кг; n = 3/группа), что представленные в данном документе антитела к IL36R (*например*, H4H14708P2) демонстрировали воздействие, в приблизительно 1,2 раза превышающее воздействие антитела к IL36R,

АРЕ6155. Более того, авторы настоящего изобретения также наблюдали, что АРЕ6155 проявляет меньшую эффективность, чем антитела к IL36R, представленные в данном документе, *например*, в отношении уменьшения толщины кожи и показателей патологии при IMQ-индуцированном воспалении кожи и в отношении снижения уровня провоспалительных цитокинов в коже. Спесолимаб, гуманизированное антитело к IL36R, демонстрировал высокие уровни антител к лекарственному средству у субъектов-людей с GPP. В клиническом испытании фазы 1 у 3 из 7 пациентов наблюдались антитела к лекарственному средству на неделе 2, и они сохранялись до недели 20 после введения однократной дозы. Это свойство спесолимаба не было бы желательным при хроническом длительном лечении. Amin, First Data in GPP from Competitor Anti-IL36 Provides Proof of Concept of ANB019, Flash Note, Company Update, AnaptysBio, Jefferies (Sept. 16, 2018). Не предполагается, что человеческие антитела к IL36R по настоящему изобретению будут высокоиммуногенными у людей.

[008] В настоящем изобретении предусмотрен антигенсвязывающий белок (*например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, *например*, человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или полиспецифическое антитело), который (i) специфически связывается с тем же эпитопом на IL36R, что и эталонный антигенсвязывающий белок; или (ii) конкурирует с эталонным антигенсвязывающим белком за связывание с полипептидом IL36R, где эталонный антигенсвязывающий белок содержит (a) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и/или (b) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок содержит (i) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114,

130, 138, 154,170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и/или (ii) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок содержит (a) переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154,170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и/или (b) переменную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок содержит (a) тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154,170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224 и характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154,170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и/или (b) легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226 и характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226. В одном варианте осуществления настоящего изобретения

антигенсвязывающий белок содержит тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 4; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 6; и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 8, и/или CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 20; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22; и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 24, и/или CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 36; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 38; и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 40, и/или CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 52; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 54; и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 56, и/или CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 68; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 70; и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 72, и/или CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 84; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 86; и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 88, и/или CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 100; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 102; и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 104, и/или CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 116; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 118; и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 120, и/или CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность,

аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 80, и/или CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 92; CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 94; и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 96, и/или CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 108; CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 110; и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 112, и/или CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 124; CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 126; и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 128, и/или CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 124; CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 126; и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 128, и/или CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 148; CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 150; и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 152, и/или CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 164; CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 166; и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 168, и/или CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 124; CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 126; и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 128. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок содержит (1) переменную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 4; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 6; и CDR-H3,

NO: 168; или (12) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 172; CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 174; и CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 176; и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 124; CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 126; и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 128. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок содержит (а) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и/или (b) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226. Настоящее изобретение включает антигенсвязывающий белок (*например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент), содержащий (а) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10; (b) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 18, и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 26; (c) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 34, и вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42; (d) вариабельную область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50, и

вариабельную область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 122, например, где вариабельная область тяжелой цепи иммуноглобулина связана с константной областью тяжелой цепи (*например*, IgG (*например*, IgG1 или IgG4)), а вариабельная область легкой цепи иммуноглобулина связана с константной областью легкой цепи (*например*, лямбда или каппа). Например, константные области легкой и тяжелой цепей представляют собой человеческие константные области. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок (*например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент) по настоящему изобретению содержит (а) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 180, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 182; (b) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 184, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 186; (c) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 188, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 190; (d) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 192, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 194; (e) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 196, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 198; (f) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 200, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 202; (g) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 204, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность,

представленную под SEQ ID NO: 206; (h) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 208, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 210; (i) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 212, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 214; (j) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 216, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 218; (k) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 220, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 222; и/или (l) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 224, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 226.

[009] Антигенсвязывающие белки по настоящему изобретению в одном варианте осуществления настоящего изобретения могут быть охарактеризованы одним или несколькими из следующих свойств:

- связывается с человеческим IL36R с K_D , составляющей от приблизительно 2,18 нМ до приблизительно 13,9 нМ при 25°C, или с K_D , составляющей от приблизительно 4,25 нМ до приблизительно 29,5 нМ при 37°C;
- связывается с IL36R *Macaca fascicularis* с K_D , составляющей от приблизительно 7,87 нМ до приблизительно 34,4 нМ при 25°C, или с K_D , составляющей от приблизительно 14,4 нМ до приблизительно 58,2 нМ при 37°C;
- связывается с человеческим IL36R, слитым с мышинным IgG2a, с K_D , составляющей от приблизительно 173 пМ до приблизительно 5,79 нМ при

25°C, или с K_D, составляющей от приблизительно 205 пМ до приблизительно 28,7 нМ при 37°C;

- связывается с человеческим IL36R, слитым с внеклеточным доменом IL1RAcP, экспрессируемым с Fc-меткой мышиного IgG2a, с K_D, составляющей от приблизительно 212 пМ до приблизительно 14 нМ при 25°C, или с K_D, составляющей от приблизительно 264 пМ до приблизительно 40,9 нМ при 37°C;

- конкурирует с H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2 за связывание с IL36R;

- блокирует активацию одного или более элементов NFκB, которые слиты с репортерным геном, в клетке-хозяине, с помощью IL-36R (*например*, человеческого или *Macaca fascicularis*) в присутствии IL-1RAcP и лиганда IL36R;

- обеспечивает предупреждение или облегчение воспаления кожи или уменьшение толщины кожи или общего показателя патологии, или снижение уровней провоспалительных цитокинов у субъекта, страдающего воспалением кожи;

- обеспечивает предупреждение или облегчение колита или воспаления толстой кишки или снижение фекальных уровней полипептида LCN2 у субъекта с таким колитом или воспалением;

- в случае связывания обеспечивает защиту остатков (a) 113-119, 113-122, 116-119 и/или 116-122; и/или (b) 264-271, 267-271, 268-271, 268-276, 268-277 и/или 271-276 человеческого IL36R (IL-1RL2), представленного в данном документе под SEQ ID NO: 227 (или соответствующие остатки в IL-1RL2 дикого типа), от расщепления пепсином и/или протеазой XIII, и/или от дейтерирования в присутствии дейтерия;

- связывается с IL36R (IL-1RL2) (*например*, человеческим IL36R) по остаткам 113-119, 113-122, 116-119, 116-122, 264-271, 267-271, 268-271, 268-276, 268-277 и/или 271-276 человеческого IL36R, содержащего аминокислотную последовательность, представленную в данном документе под SEQ ID NO: 227 (или соответствующим остаткам в IL-1RL2 дикого

типа);

- связывает домен II IL36R (IL-1RL2) (*например*, человеческого IL36R), *например*, с охватом, составляющим приблизительно 80,0, 80,1, 81,0 или 81,5% или охватом, составляющим приблизительно 80-81 или 80-82%; и/или

- связывает полипептид, содержащий аминокислотную последовательность YKQILHLGKD (SEQ ID: 229) (аминокислоты 113-122 из SEQ ID NO: 227);

- обеспечивает подавление IL36 α , IL36 β и/или IL36 γ (*например*, при концентрации, составляющей приблизительно 10 нМ), *например*, в эпидермальных кератиноцитах, миофибробластах кишечника и/или CD14+ моноцитах *in vitro* с IC₅₀, составляющей приблизительно 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нМ, или 1-6 нМ; и/или

- обеспечивает конкурентное подавление IL36 α -, IL36 β - и/или IL36 γ -опосредованной активации NF κ B (*например*, репортерного гена, представляющего собой NF κ B-элемент ответа (5x)-люцифераза-IRES-GFP, в клетке, такой как HEK293) с помощью IL36R; *например*, как измерено в формате анализа Шилда.

[0010] образует комплекс, содержащий полипептид IL36R или его антигенный фрагмент в комплексе с антигенсвязывающим белком по настоящему изобретению (*например*, антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, *например*, человеческим антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или полиспецифическим антителом), что также находится в пределах объема настоящего изобретения.

[0011] В настоящем изобретении также предусмотрены способы получения антигенсвязывающего белка по настоящему изобретению (*например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, *например*, человеческого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или полиспецифического антитела) или его цепи иммуноглобулина, включающие (а) введение одного или более полинуклеотидов, кодирующих цепь иммуноглобулина указанного антигенсвязывающего белка, в клетку-хозяина (*например*, клетку яичника китайского хомячка (CHO)); (b) культивирование клетки-хозяина в условиях, благоприятных для экспрессии полинуклеотида; и (с) необязательно выделение антигенсвязывающего белка или

цепи иммуноглобулина из клетки-хозяина и/или среды, в которых клетку-хозяина выращивают. Антигенсвязывающие белки и цепи иммуноглобулина, которые являются продуктами такого способа, также являются частью настоящего изобретения.

[0012] В настоящем изобретении также предусмотрен полипептид, содержащий (a) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 вариабельной области тяжелой цепи иммуноглобулина из цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и/или (b) CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 вариабельной области легкой цепи иммуноглобулина из цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226; или любую аминокислотную последовательность, представленную в данном документе, *например*, (c) аминокислотную последовательность, представленную в представителе, выбранном из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-226. Полинуклеотид, кодирующий один или более (*например*, 2, *например*, тяжелой и легкой цепи иммуноглобулина, представленных в данном документе) из таких полипептидов, также является частью настоящего изобретения. Векторы, *например*, плазмиды, содержащие такой полинуклеотид, также являются частью настоящего изобретения. Клетка-хозяин (*например*, клетка CHO), содержащая любые антигенсвязывающий белок, или цепь иммуноглобулина, или полипептид, или полинуклеотид, или вектор, представленные в данном документе, является частью настоящего изобретения, *например*, где полинуклеотид и/или вектор встраивается в хромосому клетки-хозяина или является эктопическим.

[0013] Композиция или набор, содержащие один или более из антигенсвязывающих белков, представленных в данном документе (*например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, *например*, человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или полиспецифическое антитело), необязательно в сочетании с дополнительным терапевтическим средством (*например*, противовоспалительным средством, антителом к TNFальфа или его антигенсвязывающим фрагментом, ингибитором IL17, ингибитором IL23p19,

ингибитором IL12p40, гуселкумабом, устекинумабом, бродалумабом, иксекизумабом, секукинумабом, одним или более человеческими рецепторами TNF или их фрагментами, связанными с иммуноглобулином, инфликсимабом, адалимумабом, этанерцептом, дупилумабом, сарилумабом, тоцилизумабом, голимумабом, абатацептом, тофацитинибом, абатацептом, нестероидным противовоспалительным лекарственным средством (NSAID), ибупрофеном, напроксеном, ацетаминофеном, аспирином, целекоксибом, циклофосфамидом, метотрексатом, кортикостероидом, кортизоном и преднизолоном, составляют часть настоящего изобретения.

[0014] Фармацевтические композиции, содержащие антигенсвязывающий белок, представленный в данном документе (*например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, *например*, человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или полиспецифическое антитело), фармацевтически приемлемый носитель и необязательно дополнительное терапевтическое средство, также являются частью настоящего изобретения.

[0015] В настоящем изобретении также предусмотрены емкость или устройство для инъекций (*например*, предварительно заполненный шприц), содержащие антигенсвязывающий белок (*например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, *например*, человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент или полиспецифическое антитело) или композицию, представленную в данном документе.

[0016] В настоящем изобретении дополнительно предусмотрен способ лечения или предупреждения опосредованного IL36R нарушения (*например*, воспалительного или аутоиммунного заболевания или воспалительного заболевания кишечника) у нуждающегося в этом субъекта (*например*, человека), включающий введение (*например*, парентерально) субъекту терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка, представленного в данном документе (*например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, *например*, человеческого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или полиспецифического антитела), необязательно в сочетании с дополнительным терапевтическим средством (*например*, противовоспалительным средством).

[0017] В настоящем изобретении также предусмотрен способ введения антигенсвязывающего белка, представленного в данном документе (*например*,

антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, *например*, человеческого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или полиспецифического антитела) в организм субъекта (*например*, человека), включающий введение путем инъекции (*например*, подкожно, внутривенно или внутримышечно) антигенсвязывающего белка в организм субъекта, необязательно в сочетании с дополнительным терапевтическим средством (*например*, противовоспалительным средством).

[0018] Настоящее изобретение охватывает любой полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая представлена под SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220, 224, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 и/или 226, или ее вариант.

[0019] Настоящее изобретение включает любой полинуклеотид, содержащий нуклеотидную последовательность, которая представлена под SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 179, 183, 187, 191, 195, 199, 203, 207, 211, 215, 219, 223, 181, 185, 189, 193, 197, 201, 205, 209, 213, 217, 221 и/или 225, или ее вариант.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0020] **Фигура 1.** Сравнение последовательностей между зародышевым типом и V_H и V_L из H4H14706P2.

[0021] **Фигура 2.** Сравнение последовательностей между зародышевым типом и V_H и V_L из H4H14708P2.

[0022] **Фигура 3 (A-F).** Повышение концентрации H4H14706P2 и H4H14708P2 приводило к сдвигу вправо кривых зависимости ответа от дозы IL-36 α (A и D), IL-36 β

(В и Е) или IL-36γ (С и F), демонстрируя конкурентный характер подавления с помощью H4N14706P2 и H4N14708P2 (RLU, относительные световые единицы).

[0023] **Фигура 4.** Фармакокинетический анализ H4N141706P2 и APE6155 (концентрация антитела в сыворотке крови в зависимости от времени) у яванских макаков, которым подкожно вводили дозу антитела, составляющую 0,5 мг/кг или 5,0 мг/кг.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0024] В соответствии с настоящим изобретением могут использоваться традиционные методики молекулярной биологии, микробиологии и рекомбинантной ДНК, известные из уровня техники. Такие методики полностью описаны в литературе. См., *например*, Sambrook, Fritsch & Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition* (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (в данном документе «Sambrook, *et al.*, 1989»); *DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II* (D. N. Glover ed. 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait ed. 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1985)); *Transcription And Translation* (B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)); *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney, ed. (1986)); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press, (1986)); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); F. M. Ausubel, *et al.* (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. (1994).

[0025] «Антигенсвязывающий белок» к IL36R представляет собой один полипептид (*например*, ScFv (одноцепочечный вариабельный фрагмент)) или комплекс из более чем одного полипептида (*например*, тетрамерное антитело IgG), который специфически связывается с рецептором IL36 по субъединице IL1RL2 (IL-1Rgp2). IL-36R, в контексте связывания с ним антигенсвязывающего белка, относится к IL-1RL2. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, либо моноспецифическое или полиспецифическое (*например*, биспецифическое), либо моновалентное или поливалентное (*например*, бивалентное). Моновалентный антигенсвязывающий белок имеет один антигенсвязывающий домен,

тогда как бивалентный антигенсвязывающий белок имеет два антигенсвязывающих домена.

[0026] Полинуклеотид включает ДНК и РНК. Настоящее изобретение включает любой полинуклеотид по настоящему изобретению, который функционально связан с промотором или другой последовательностью контроля экспрессии.

[0027] Как правило, «промотор» или «промоторная последовательность» относится к регуляторной области ДНК, способной к связыванию с РНК-полимеразой в клетке (*например*, непосредственно или посредством других связанных с промотором белков или веществ) и инициации транскрипции кодирующей последовательности. Промоторная последовательность, как правило, связана на своем 3'-конце с сайтом инициации транскрипции и простирается против хода транскрипции (в 5'-направлении), включая минимальное количество оснований или элементов, необходимых для инициации транскрипции на любом уровне. В промоторной последовательности может находиться сайт инициации транскрипции (который удобно определять, например, с помощью картирования с применением нуклеазы S1), а также домены связывания белка (консенсусные последовательности), отвечающие за связывание РНК-полимеразы. Промотор может быть функционально ассоциирован с другими последовательностями контроля экспрессии, в том числе с энхансерными и репрессорными последовательностями или с нуклеиновой кислотой по настоящему изобретению. Промоторы, которые могут быть использованы для контроля экспрессии генов, включают без ограничения промотор цитомегаловируса (CMV) (патенты США №№ 5385839 и 5168062), область раннего промотора SV40 (Benoist, *et al.*, (1981) *Nature* 290:304-310), промотор, содержащийся в 3' длинном концевом повторе вируса саркомы Рауса (Yamamoto, *et al.*, (1980) *Cell* 22:787-797), промотор тимидинкиназы вируса герпеса (Wagner, *et al.*, (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1441-1445), регуляторные последовательности гена металлотионеина (Brinster, *et al.*, (1982) *Nature* 296:39-42); прокариотические векторы экспрессии, такие как промотор бета-лактамазы (VIIIa-Komaroff, *et al.*, (1978) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:3727-3731) или промотор tac (DeBoer, *et al.*, (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:21-25); см. также «Useful proteins from recombinant bacteria» in *Scientific American* (1980) 242:74-94; и промоторные элементы из дрожжей или других грибов, такие как

промотор Gal 4, промотор ADC (алкогольдегидрогеназы), промотор PGK (фосфоглицеринкиназы) или промотор щелочной фосфатазы.

[0028] Полинуклеотид, кодирующий полипептид, является «функционально связанным» с промотором или другой последовательностью контроля экспрессии, если в клетке последовательность управляет опосредованной РНК-полимеразой транскрипцией кодирующей последовательности в РНК, предпочтительно мРНК, которая затем может быть подвергнута сплайсингу РНК (если она содержит интроны) и, необязательно, транслируется в белок, кодируемый кодирующей последовательностью.

Рецептор интерлейкина-36 (IL36R)

[0029] IL-36R является представителем семейства рецепторов IL-1, которое включает шесть рецепторных белков, образующих четыре комплекса передачи сигнала: IL-1RI, IL-18R, IL-33R и IL-36R, а также два рецептора-приманки и два негативных регулятора. IL-36R представляет собой гетеродимер, который состоит из рецепторной субъединицы, называемой IL-1Rrp2 (также известной как IL-1RL2, подобный рецептору интерлейкина-1 белок 2 или родственный рецептору интерлейкина-1 белок 2), и вспомогательного белка корцепторной субъединицы рецептора интерлейкина-1 IL-1RAcP. Рецептор способен распознавать три различных агониста, IL-36 α , IL-36 β и IL-36 γ (также известные как IL-1F6, IL-1F8 и IL-1F9), для индукции экспрессии воспалительных цитокинов. Существует также два антагониста рецептора, IL-36Ra и IL-38, которые связываются с рецептором IL-36 и снижают экспрессию воспалительных цитокинов. IL-36 α , IL-36 β и IL-36 γ передают сигнал с помощью рецептора IL-36R/IL-1RAcP для активации NF- κ B и MAPK, таких как p38 и JNK, и стимуляции воспалительных реакций.

[0030] В одном варианте осуществления настоящего изобретения последовательность IL1RL2 *Homo sapiens* доступна под номером доступа в Genbank NP_003845.2. В одном варианте осуществления настоящего изобретения аминокислотная последовательность IL1RL2 *Homo sapiens* представлена под SEQ ID NO: 177.

[0031] В одном варианте осуществления настоящего изобретения последовательность IL-1RAcP *Homo sapiens* доступна под номером доступа в Genbank NP_002173.1. В одном варианте осуществления настоящего изобретения аминокислотная последовательность IL-1RAcP *Homo sapiens* представлена под SEQ ID NO: 178.

Антитела к IL36 и их антигенсвязывающие фрагменты

[0032] В настоящем изобретении предусмотрены антигенсвязывающие белки, такие как антитела (*например*, человеческие антитела) и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с белком IL36R или его антигенным фрагментом. Антигенсвязывающие белки, которые связываются с тем же эпитопом на IL36R, что и любые представленные в данном документе антигенсвязывающие белки, или конкурируют с ними за связывание с IL36R, также являются частью настоящего изобретения.

[0033] Используемый в данном документе термин «антитело» относится к молекулам иммуноглобулинов, содержащим четыре полипептидные цепи, две тяжелые цепи (HC) и две легкие цепи (LC), соединенные между собой дисульфидными связями (*т. е.*, «молекулам полного антитела»), а также их мультимерам, например, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2. В одном варианте осуществления настоящего изобретения каждая тяжелая цепь (HC) содержит переменную область тяжелой цепи («HCVR» или «V_H») (*например*, SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154 или 170, или их вариант) и константную область тяжелой цепи (содержащую домены CH1, CH2 и CH3); и каждая легкая цепь (LC) содержит переменную область легкой цепи («LCVR или «V_L») (*например*, SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146 или 162, или их вариант) и константную область легкой цепи (C_L). Области V_H и V_L могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), чередующиеся с более консервативными областями, называемыми каркасными областями (FR). Каждая V_H и V_L содержит три CDR и четыре FR, расположенных от аминоконца к

карбоксихонцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения FR антитела (или его антигенсвязывающего фрагмента) являются идентичными человеческим последовательностям зародышевого типа или естественно или искусственно модифицированы.

[0034] Обычно переменные домены как тяжелой, так и легкой цепей иммуноглобулина содержат три гиперпеременные области, также называемые определяющими комплементарность областями (CDR), расположенные в относительно консервативных каркасных областях (FR). Как правило, от N-конца к C-концу переменные домены как легкой, так и тяжелой цепей содержат FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. В одном варианте осуществления настоящего изобретения отнесение аминокислот к каждому домену соответствует определениям из Sequences of Proteins of Immunological Interest, Kabat, *et al.*; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) Adv. Prot. Chem. 32:1-75; Kabat, *et al.*, (1977) J. Biol. Chem. 252:6609-6616; Chothia, *et al.*, (1987) J Mol. Biol. 196:901-917 или Chothia, *et al.*, (1989) Nature 342:878-883.

[0035] Например, в настоящем изобретении предусмотрен антигенсвязывающий белок, который содержит (а) тяжелую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224 и характеризующуюся по меньшей мере 70, 80 или 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и (b) легкую цепь иммуноглобулина, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, содержащей аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226 и характеризующуюся по меньшей мере 70, 80 или 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или

226. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок содержит (i) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; или ее вариант; и (ii) легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226; или ее вариант.

[0036] В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок по настоящему изобретению содержит тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит V_H , в том числе CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, где

CDR-H1 содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 140, 156 или 172, или ее вариант;

CDR-H2 содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 142, 158 или 174, или ее вариант; и

CDR-H3 содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 144, 160 или 176, или ее вариант; и

легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит V_L , в том числе CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, где

CDR-L1 содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 124, 148 или 164, или ее вариант;

CDR-L2 содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 126, 150 или 166, или ее вариант; и

CDR-L3 содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 128, 152 или 168, или ее вариант.

[0037] Настоящее изобретение включает моноклональные антигенсвязывающие белки IL36R, например, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, а также

моноклональные композиции, содержащие множество выделенных моноклональных антигенсвязывающих белков. Используемый в данном документе термин «моноклональное антитело» или «mAb» относится к представителю популяции по сути гомогенных антител, *т. е.*, молекулы антител, составляющие популяцию, являются идентичными по аминокислотной последовательности, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. «Множество» таких моноклональных антител и фрагментов в композиции относится к концентрации идентичных (*т. е.*, как обсуждалось выше, по аминокислотной последовательности, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах) антител и фрагментов, которая выше концентрации, которая обычно будет встречаться в природе, *например*, в крови организма-хозяина, такого как мышь или человек.

[0038] В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок к IL36R, *например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, содержит константный домен тяжелой цепи, *например*, типа IgA (*например*, IgA1 или IgA2), IgD, IgE, IgG (*например*, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) или IgM. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок, *например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, содержит константный домен легкой цепи, *например*, типа каппа или лямбда.

[0039] Настоящее изобретение включает человеческие антигенсвязывающие белки. Используемый в данном документе термин «человеческий» антигенсвязывающий белок, такой как антитело или антигенсвязывающий фрагмент, включает антитела и фрагменты, имеющие переменные и константные области, полученные из человеческих последовательностей иммуноглобулинов зародышевого типа либо в клетке человека, либо привитые в клетку, отличную от человеческой, *например*, клетку мыши. См., *например*, US8502018, US6596541 или US5789215. Человеческие mAb по настоящему изобретению могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые человеческими последовательностями иммуноглобулинов зародышевого типа (*например*, мутации, введенные с помощью случайного или сайт-специфического мутагеза *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*), *например*, в CDR, и в частности в CDR3. Однако используемый в данном документе

термин «человеческое антитело» не предназначен для включения mAb, в которых последовательности CDR, полученные из последовательностей зародышевого типа другого вида млекопитающего (*например*, мыши), привиты на последовательности FR человека. Термин включает антитела, полученные рекомбинантным путем у млекопитающего, отличного от человека, или в клетках млекопитающего, отличного от человека. Термин не предназначен для включения природных антител, непосредственно выделенных из субъекта-человека.

[0040] Настоящее изобретение включает химерные антигенсвязывающие белки к IL36R, *например*, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, а также способы их применения. Используемый в данном документе термин «химерное антитело» представляет собой антитело, имеющее вариабельный домен из первого антитела и константный домен из второго антитела, где первое и второе антитела принадлежат разным видам (см., *например*, US4816567; и Morrison *et al.*, (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855).

[0041] Термин «рекомбинантные» антигенсвязывающие белки, такие как антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, относится к таким молекулам, созданным, экспрессируемым, выделенным или полученным с помощью технологий или способов, известных из уровня техники, таких как технология рекомбинантных ДНК, которая включает, *например*, сплайсинг ДНК и экспрессию трансгенов. Термин включает антитела, экспрессируемые у млекопитающего, отличного от человека (включая трансгенных млекопитающих, отличных от человека, *например*, трансгенных мышей), или в клетке (*например*, клетках CHO), например, в клеточной системе экспрессии, или выделенные из комбинаторной библиотеки рекомбинантных человеческих антител.

[0042] Рекомбинантные антигенсвязывающие белки к IL36R, *например*, антитела и антигенсвязывающие фрагменты, раскрытые в данном документе, также можно получать в системе экспрессии *E. coli*/T7. В этом варианте осуществления нуклеиновые кислоты, кодирующие молекулы иммуноглобулинов, представляющих собой антитела к IL36R по настоящему изобретению (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), могут быть вставлены в плазмиду на основе pET и экспрессированы в системе *E. coli*/T7.

Например, настоящее изобретение включает способы экспрессии антитела, или его антигенсвязывающего фрагмента, или его цепи иммуноглобулина в клетке-хозяине (например, бактериальной клетке-хозяине, такой как *E. coli*, например, BL21 или BL21DE3), включающие экспрессию РНК-полимеразы Т7 в клетке, которая также содержит полинуклеотид, кодирующий цепь иммуноглобулина, который функционально связан с промотором Т7. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения бактериальная клетка-хозяин, такая как *E. coli*, включает полинуклеотид, кодирующий ген РНК-полимеразы Т7, функционально связанный с промотором *lac*, и экспрессию полимеразы и цепи индуцируют посредством инкубации клетки-хозяина с IPTG (изопропил-бета-D-тиогалактопиранозид). См. US4952496 и US5693489 или Studier & Moffatt, Use of bacteriophage T7 RNA polymerase to direct selective high-level expression of cloned genes, J. Mol. Biol. 1986 May 5;189(1): 113-30.

[0043] Существует несколько способов, с помощью которых получают рекомбинантные антитела, которые известны из уровня техники. Один пример способа рекомбинантного получения антител раскрыт в US4816567.

[0044] Трансформацию можно осуществлять с помощью любого известного способа введения полинуклеотидов в клетку-хозяина. Способы введения гетерологичных полинуклеотидов в клетки млекопитающих хорошо известны из уровня техники и включают опосредованную декстраном трансфекцию, осаждение фосфатом кальция, опосредованную полибренном трансфекцию, слияние протопластов, электропорацию, инкапсулирование полинуклеотида(полинуклеотидов) в липосомы, биолистическую инъекцию и прямую микроинъекцию ДНК в ядра. Кроме того, молекулы нуклеиновой кислоты можно вводить в клетки млекопитающих с помощью вирусных векторов. Способы трансформации клеток хорошо известны из уровня техники. См., например, патенты США №№ 4399216; 4912040; 4740461 и 4959455. Таким образом, настоящее изобретение включает рекомбинантные способы получения антигенсвязывающего белка к IL36R, такого как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению, или его цепь иммуноглобулина, включающие (i) введение одного или более полинуклеотидов (например, содержащих нуклеотидную последовательность под любым одним или более из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13,

15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223 и/или 225; или ее вариант), кодирующих легкую и/или тяжелую цепи иммуноглобулина антигенсвязывающего белка, *например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2, *например*, где полинуклеотид находится в векторе, и/или встроен в хромосому клетки-хозяина, и/или функционально связан с промотором; (ii) культивирование клетки-хозяина (*например*, СНО, или *Pichia*, или *Pichia pastoris*) в условиях, благоприятных для экспрессии полинуклеотида, и (iii) необязательно выделение антигенсвязывающего белка (*например*, антитела или фрагмента) или цепи из клетки-хозяина или среды, в которой клетку-хозяина выращивают. При получении антигенсвязывающего белка (*например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента), содержащего более чем одну цепь иммуноглобулина, *например*, антитела, которое содержит две тяжелые цепи иммуноглобулина и две легкие цепи иммуноглобулина, совместная экспрессия цепей в одной клетке-хозяине приводит к ассоциации цепей, *например*, в клетке, или на поверхности клетки, или снаружи клетки, если такие цепи секретируются с образованием антигенсвязывающего белка (*например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента). Способы по настоящему изобретению включают способы, где в клетке экспрессируется только тяжелая цепь иммуноглобулина, или только легкая цепь иммуноглобулина, или обе (*например*, любые из обсуждаемых в данном документе, в том числе их зрелые фрагменты и/или переменные домены). Такие одиночные цепи применимы, *например*, в качестве промежуточных соединений при экспрессии антитела или антигенсвязывающего фрагмента, которые содержат такую цепь. *Например*, настоящее изобретение также включает антигенсвязывающие белки к IL36R, такие как антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие тяжелую цепь иммуноглобулина (или ее переменный домен или содержащие ее CDR), кодируемую полинуклеотидом, содержащим нуклеотидные последовательности, представленные под SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113,

129, 137, 153, 169, 179, 183, 187, 191, 195, 199, 203, 207, 211, 215, 219 или 223; и легкую цепь иммуноглобулина (или ее вариабельный домен или содержащие ее CDR), кодируемую нуклеотидной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 145, 161, 181, 185, 189, 193, 197, 201, 205, 209, 213, 217, 221 или 225, которые являются продуктом таких способов получения и необязательно способов очистки, представленных в данном документе. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения продуктом способа является антигенсвязывающий белок к IL36R, который представляет собой антитело или фрагмент, содержащий тяжелую цепь иммуноглобулина или V_H, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224, и легкую цепь иммуноглобулина или V_L, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226.

[0045] В одном варианте осуществления настоящего изобретения способ получения антигенсвязывающего белка к IL36R, *например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, включает способ очистки антигенсвязывающего белка, *например*, с помощью колоночной хроматографии, осаждения и/или фильтрации. Продукт такого способа также составляет часть настоящего изобретения.

[0046] Эукариотические и прокариотические клетки-хозяева, в том числе клетки млекопитающих, можно использовать в качестве хозяев для экспрессии антигенсвязывающего белка к IL36R (*например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента). Такие клетки-хозяева хорошо известны из уровня техники, и многие из них доступны из Американской коллекции типовых культур (ATCC). Такие клетки-хозяева включают, *среди прочего*, клетки яичника китайского хомячка (CHO), NSO, клетки SP2, клетки HeLa, клетки почки новорожденного хомячка (ВНК), клетки почки обезьяны (COS), клетки почечноклеточной карциномы человека (*например*, Нер G2), клетки A549, клетки 3T3, клетки HEK-293 и ряд других линий клеток. Клетки-хозяева млекопитающих включают клетки человека, мыши, крысы, собаки, обезьяны, свиньи, козы, крупного рогатого скота, лошади и хомячка. Другими клеточными линиями, которые могут быть использованы, являются линии клеток насекомых (*например*, *Spodoptera frugiperda* или *Trichoplusia ni*), клетки

амфибий, бактериальные клетки, клетки растений и клетки грибов. Клетки грибов включают клетки дрожжей и мицелиальных грибов, включая, например, *Pichia*, *Pichia pastoris*, *Pichia finlandica*, *Pichia trehalophila*, *Pichia koclamae*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia minuta* (*Ogataea minuta*, *Pichia lindneri*), *Pichia opuntiae*, *Pichia thermotolerans*, *Pichia salictaria*, *Pichia guercuum*, *Pichia pijperi*, *Pichia stiptis*, *Pichia methanolica*, *Pichia* sp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces* sp., *Hansenula polymorpha*, *Kluveromyces* sp., *Kluveromyces lactis*, *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium lucknowense*, *Fusarium* sp., *Fusarium gramineum*, *Fusarium venenatum*, *Physcomitrella patens* и *Neurospora crassa*. Настоящее изобретение включает выделенную клетку-хозяина (например, клетку CHO или любой тип клетки-хозяина, представленный выше), содержащую антигенсвязывающий белок, такой как H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2; и/или полинуклеотид, кодирующий одну или более его цепей иммуноглобулина.

[0047] Настоящее изобретение также включает клетку, которая экспрессирует IL36R, или его антигенный фрагмент, или продукт слияния (например, His₆, Fc и/или тус), которые связываются антигенсвязывающим белком по настоящему изобретению, например, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2, например, где клетка находится в организме субъекта или находится *in vitro*.

[0048] Кроме того, в настоящем изобретении также предусмотрен комплекс, содержащий антигенсвязывающий белок к IL36R, например, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, обсуждаемый в данном документе, в комплексе с полипептидом IL36R, или его антигенным фрагментом, или его продуктом слияния, и/или со вторым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (например, выявляемым с помощью меченого вторичного антитела), который специфически связывается с антителом к IL36R или фрагментом. В одном варианте осуществления настоящего изобретения комплекс находится *in vitro* (например, иммобилизован на твердом субстрате) или находится в организме субъекта.

[0049] Термин «специфически связывает» относится к тем антигенсвязывающим белкам (*например*, mAb), которые обладают аффинностью связывания с антигеном, таким как белок IL36R, выражаемой как K_D , составляющая по меньшей мере приблизительно 58 нМ (*например*, 10^{-9} М; 10^{-10} М, 10^{-11} М или 10^{-12} М), как измерено с помощью анализа в реальном времени с использованием биослойной интерферометрии без метки, например, при 25°C или 37°C, *например*, с помощью биосенсора Octet® HTX или с помощью поверхностного плазмонного резонанса, *например*, BIACORE™, или посредством определения аффинности в растворе с помощью способа ELISA. Настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки, которые специфически связываются с белком IL36R. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок к IL36R характеризуется значением K_D для связывания с человеческим IL36R и/или IL36R *Macaca fascicularis*, которое указано в любой из таблиц от 4-1 до 4-8.

[0050] Используемые в данном документе термины «антигенсвязывающая часть» или «антигенсвязывающий фрагмент» антитела или антигенсвязывающего белка и т. п. включают любой встречающийся в природе, получаемый ферментативным путем, синтетический или генетически сконструированный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген с образованием комплекса. Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают (i) Fab-фрагменты; (ii) F(ab')₂-фрагменты; (iii) Fd-фрагменты; (iv) Fv-фрагменты; (v) молекулы, представляющие собой одноцепочечные Fv (scFv); и (vi) dAb-фрагменты, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (*например*, выделенная определяющая комплементарность область (CDR), такая как пептид CDR3), или пептид с ограниченной конформационной свободой FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, антитела с привитой CDR, диатела, триатела, тетратела, минитела и иммунофармацевтические препараты на основе небольшого модульного белка (SMIP) также охватываются выражением «антигенсвязывающий фрагмент», используемым в данном документе. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий фрагмент содержит три или более CDR из H4H14699P2;

H4H14700P2; H4H14706P2; H4H14708P2; H4H14709P; H4H14728P; H4H14731P; H4H14732P2; H4H14734P2; H4H14757P; H4H14758P или H4H14760P2 (*например*, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3; или CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3).

[0051] Антигенсвязывающий фрагмент антитела в одном варианте осуществления настоящего изобретения будет содержать по меньшей мере один переменный домен. Переменный домен может быть любого размера или аминокислотного состава и будет, как правило, содержать по меньшей мере одну CDR, которая находится в смежном положении или в одной рамке считывания с одной или более каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, содержащих домен V_H , ассоциированный с доменом V_L , домены V_H и V_L могут размещаться друг относительно друга в любом подходящем порядке. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры V_H - V_H , V_H - V_L или V_L - V_L . В качестве альтернативы антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен V_H или V_L .

[0052] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один переменный домен, ковалентно связанный с по меньшей мере одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации переменных и константных доменов, которые могут присутствовать в антигенсвязывающем фрагменте антитела по настоящему изобретению, включают (i) V_H - C_H1 ; (ii) V_H - C_H2 ; (iii) V_H - C_H3 ; (iv) V_H - C_H1 - C_H2 ; (v) V_H - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (vi) V_H - C_H2 - C_H3 ; (vii) V_H - C_L ; (viii) V_L - C_H1 ; (ix) V_L - C_H2 ; (x) V_L - C_H3 ; (xi) V_L - C_H1 - C_H2 ; (xii) V_L - C_H1 - C_H2 - C_H3 ; (xiii) V_L - C_H2 - C_H3 и (xiv) V_L - C_L . В любой конфигурации переменных и константных доменов, в том числе любой из иллюстративных конфигураций, перечисленных выше, переменные и константные домены могут быть либо непосредственно соединены друг с другом, либо могут быть соединены посредством целой шарнирной или линкерной области или ее части. Шарнирная область может состоять из по меньшей мере 2 (*например*, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или больше) аминокислот, которые обеспечивают образование гибкого или полугибкого соединяющего элемента между смежными переменными и/или константными доменами в одной молекуле полипептида. Более того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) из любой из

конфигураций переменного и константного домена, перечисленных выше, находящихся в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или более мономерными доменами V_H или V_L (например, с помощью дисульфидной(дисульфидных) связи(связей)).

[0053] Антигенсвязывающие белки (например, антитела и антигенсвязывающие фрагменты) могут быть моноспецифическими или полиспецифическими (например, биспецифическими). Полиспецифические антигенсвязывающие белки обсуждаются далее в данном документе.

[0054] В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающие белки по настоящему изобретению (например, антитело или фрагмент антитела) могут быть конъюгированы с фрагментом, таким как лиганд, выявляемая метка или терапевтический фрагмент («иммуноконъюгат»), второе антитело к IL36R или любой другой терапевтический фрагмент.

[0055] «Выделенные» антигенсвязывающие белки (например, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты), полипептиды, полинуклеотиды и векторы по меньшей мере частично свободны от других биологических молекул из клеток или клеточной культуры, из которых они получены. Такие биологические молекулы включают нуклеиновые кислоты, белки, другие антитела или антигенсвязывающие фрагменты, липиды, углеводы или другой материал, такой как клеточный дебрис и среда для роста. Выделенный антигенсвязывающий белок, кроме того, может быть по меньшей мере частично свободен от компонентов системы экспрессии, таких как биологические молекулы из клетки-хозяина или ее среды для роста. Обычно термин «выделенный» предназначен для обозначения полного отсутствия таких биологических молекул или отсутствия воды, буферов, или солей, или компонентов фармацевтического состава, который содержит антигенсвязывающие белки (например, антитела или антигенсвязывающие фрагменты).

[0056] Настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки, например, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с тем же эпитопом, что и антигенсвязывающий белок по настоящему изобретению (например, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2).

[0057] Термин «эпитоп» относится к антигенной детерминанте (*например*, на IL1RL2), которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим сайтом антигенсвязывающего белка, *например*, вариабельной областью молекулы антитела, известной как паратоп. Один антиген может содержать более чем один эпитоп. Таким образом, различные антитела могут связываться с различными участками на антигене и могут оказывать различные биологические эффекты. Термин «эпитоп» также может относиться к сайту на антигене, на который отвечают В- и/или Т-клетки, и/или к области антигена, которая связывается антителом. Эпитопы можно определять как структурные или функциональные. Функциональные эпитопы, как правило, представляют собой подгруппу структурных эпитопов и содержат те остатки, которые непосредственно вносят вклад в аффинность взаимодействия. Эпитопы могут быть линейными или конформационными, т. е. состоять из нелинейных аминокислот. В определенных вариантах осуществления эпитопы могут включать детерминанты, которые представляют собой химически активные поверхностные структуры молекул, таких как аминокислоты, боковые цепи сахаров, фосфорильные группы или сульфонильные группы, и, в определенных вариантах осуществления могут иметь специфические характеристики трехмерных структур и/или специфические характеристики заряда.

[0058] Способы определения эпитопа антигенсвязывающего белка, *например*, антитела, или фрагмента, или полипептида, включают мутационный анализ с помощью аланинового сканирования, блот-анализ пептидов (Reineke (2004) *Methods Mol. Biol.* 248: 443-63), анализ расщепления пептидов, кристаллографические исследования и анализ ЯМР. Кроме того, можно использовать такие способы, как вырезание эпитопа, экстрагирование эпитопа и химическая модификация антигенов (Tomer (2000) *Prot. Sci.* 9: 487-496). Другим способом, который можно применять для идентификации аминокислот в полипептиде, с которым взаимодействует антигенсвязывающий белок (*например*, антитело, или фрагмент, или полипептид), является водородно-дейтериевый обмен, выявляемый с помощью масс-спектрометрии. См., *например*, Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267: 252-259; Engen и Smith (2001) *Anal. Chem.* 73: 256A-265A.

[0059] Настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки, которые конкурируют за связывание с IL36R, *например*, вариантом эпитопа IL36R, как

обсуждается в данном документе, с антигенсвязывающим белком по настоящему изобретению, *например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2. Используемый в данном документе термин «конкурирует» относится к антигенсвязывающему белку (*например*, антителу или его антигенсвязывающему фрагменту), который связывается с антигеном (*например*, IL1RL2) и подавляет или блокирует связывание другого антигенсвязывающего белка (*например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента) с антигеном. Термин также включает конкуренцию между двумя антигенсвязывающими белками, *например*, антителами, в обоих направлениях, *т. е.* первое антитело связывается и блокирует связывание второго антитела, и *наоборот*. В определенных вариантах осуществления первый антигенсвязывающий белок (*например*, антитело) и второй антигенсвязывающий белок (*например*, антитело) могут связываться с одним и тем же эпитопом. В качестве альтернативы, первый и второй антигенсвязывающие белки (*например*, антитела) могут связываться с разными, но, *например*, перекрывающимися эпитопами, где связывание одного подавляет или блокирует связывание второго антитела, *например*, посредством стерического несоответствия. Конкуренцию между антигенсвязывающими белками (*например*, антителами) можно измерить с помощью способов, известных из уровня техники, *например*, с помощью анализа в реальном времени с использованием биослойной интерферометрии без метки. Также конкуренцию за связывание между антигенсвязывающими белками к IL36R (*например*, моноклональными антителами (mAb)) можно определять с помощью анализа в реальном времени с использованием биослойной интерферометрии без метки на биосенсоре Octet RED384 (Pall ForteBio Corp.).

[0060] Обычно антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению, которые модифицированы некоторым образом, сохраняют способность специфически связываться с IL36R, *например*, сохраняют по меньшей мере 10% от своей активности связывания IL36R (по сравнению с исходным антителом) при выражении этой активности на основе молей. Предпочтительно, антитело или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению сохраняет по меньшей мере 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% или 100% или больше от аффинности связывания IL36R исходного антитела. Также предусматривается, что антитело или

антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению могут содержать консервативные или неконсервативные аминокислотные замены (называемые «консервативными вариантами» или «вариантами с сохранением функции» антитела), которые по сути не изменяют их биологическую активность.

[0061] «Вариант полипептида», такого как цепь иммуноглобулина (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2 V_H, V_L, HC или LC), относится к полипептиду, содержащему аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 70-99,9% (*например*, 70, 72, 74, 75, 76, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, 99,9%) идентична или подобна эталонной аминокислотной последовательности, которая представлена в данном документе (*например*, под любым из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224 или 226); при выполнении сравнения с помощью алгоритма BLAST, где параметры алгоритма выбирают для получения наибольшего совпадения между соответствующими последовательностями по всей длине соответствующих эталонных последовательностей (*например*, порог ожидания: 10; длина «слова»: 3; максимальные совпадения в диапазоне запроса: 0; матрица BLOSUM 62; штрафы за гэп: присутствие – 11, удлинение – 1; условный композиционный показатель корректировки матрицы).

[0062] «Вариант» полинуклеотида относится к полинуклеотиду, содержащему нуклеотидную последовательность, которая на по меньшей мере приблизительно 70-99,9% (*например*, 70, 72, 74, 75, 76, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, 99,9%) идентична эталонной нуклеотидной последовательности, которая представлена в данном документе (*например*, под любым из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125,

127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 179, 183, 187, 191, 195, 199, 203, 207, 211, 215, 219, 223, 181, 185, 189, 193, 197, 201, 205, 209, 213, 217, 221 и/или 225); при выполнении сравнения с помощью алгоритма BLAST, где параметры алгоритма выбирают для получения наибольшего совпадения между соответствующими последовательностями по всей длине соответствующих эталонных последовательностей (*например*, порог ожидания: 10; длина «слова»: 28; максимальные совпадения в диапазоне запроса: 0; показатели совпадения/несовпадения: 1, -2; штрафы за гэп: линейные).

[0063] Следующие ссылки относятся к алгоритмам BLAST, часто используемым для анализа последовательностей: BLAST ALGORITHMS: Altschul *et al.* (2005) FEBS J. 272(20): 5101-5109; Altschul, S. F., *et al.*, (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W., *et al.*, (1993) Nature Genet. 3:266-272; Madden, T. L., *et al.*, (1996) Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S. F., *et al.*, (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J., *et al.*, (1997) Genome Res. 7:649-656; Wootton, J. C., *et al.*, (1993) Comput. Chem. 17:149-163; Hancock, J. M. *et al.*, (1994) Comput. Appl. Biosci. 10:67-70; ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M. O., *et al.*, «A model of evolutionary change in proteins.» in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3. M. O. Dayhoff (ed.), pp. 345-352, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.; Schwartz, R. M., *et al.*, «Matrices for detecting distant relationships». in Atlas of Protein Sequence and Structure, (1978) vol. 5, suppl. 3." M. O. Dayhoff (ed.), pp. 353-358, Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.; Altschul, S. F., (1991) J. Mol. Biol. 219:555-565; States, D. J., *et al.*, (1991) Methods 3:66-70; Henikoff, S., *et al.*, (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-10919; Altschul, S. F., *et al.*, (1993) J. Mol. Evol. 36:290-300; ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., *et al.*, (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268; Karlin, S., *et al.*, (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877; Dembo, A., *et al.*, (1994) Ann. Prob. 22:2022-2039; and Altschul, S. F. «Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments». in Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai, ed.), (1997) pp. 1-14, Plenum, N.Y.

[0064] Антигенсвязывающие белки к IL36R, *например*, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению, в одном варианте осуществления настоящего изобретения содержат тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, характеризующуюся по меньшей мере 70% (*например*,

80%, 85%, 90%, 95%, 99%) идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотами, представленными в SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и/или легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, характеризующуюся по меньшей мере 70% (*например*, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%) идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотами, представленными в SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226.

[0065] Кроме того, антигенсвязывающий белок к IL36R может содержать полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, которая представлена в данном документе, за исключением одной или более (*например*, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10) мутаций, таких как, например, миссенс-мутации (*например*, консервативные замены), нонсенс-мутации, делеции или вставки. Например, настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки к IL36R, которые содержат вариант легкой цепи иммуноглобулина (или V_L), содержащий аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226, но имеющую одну или более из таких мутаций, и/или вариант тяжелой цепи иммуноглобулина (или V_H), содержащий аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224, но имеющую одну или более из таких мутаций. В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок к IL36R содержит вариант легкой цепи иммуноглобулина, содержащий CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, где одна или более (*например*, 1, или 2, или 3) из таких CDR имеют одну или более из таких мутаций (*например*, консервативных замен), и/или вариант тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащий CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3, где одна или более (*например*, 1, или 2, или 3) из таких CDR имеют одну или несколько из таких мутаций (*например*, консервативных замен).

[0066] Варианты осуществления настоящего изобретения также включают антигенсвязывающие белки, *например*, антитела к IL36R и их антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат V_H и V_L иммуноглобулина; или HC и LC, которые

содержат вариант аминокислотной последовательности, характеризующийся 70% или большей (*например*, 80%, 85%, 90%, 95%, 97% или 99%) идентичностью всей аминокислотной последовательности или сходством с аминокислотными последовательностями соответствующих V_H, V_L, HC или LC, конкретно представленных в данном документе, но где CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 таких иммуноглобулинов не являются вариантами и содержат аминокислотные последовательности, конкретно представленные в данном документе. Таким образом, в таких вариантах осуществления CDR в вариантах антигенсвязывающих белков как таковых не являются вариантами.

[0067] Термин «консервативно модифицированный вариант» или «консервативная замена», *например*, цепи иммуноглобулина, представленной в данном документе, относится к варианту, где имеется одна или более замен аминокислот в полипептиде на другие аминокислоты, обладающие сходными характеристиками (*например* зарядом, размером боковой цепи, гидрофобностью/гидрофильностью, конформацией остова и жесткостью и *т. д.*). Такие изменения зачастую могут быть осуществлены без значительного нарушения биологической активности антитела или фрагмента. Специалистам в данной области техники известно, что, как правило, одиночные аминокислотные замены в несущественных областях полипептида по сути не изменяют биологическую активность (*см.*, *например*, Watson *et al.* (1987) *Molecular Biology of the Gene*, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.)). Кроме того, замены структурно или функционально сходных аминокислот с меньшей вероятностью существенно нарушат биологическую активность. Настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки к IL36R, содержащие такие консервативно модифицированные варианты цепей иммуноглобулинов.

[0068] Примеры групп аминокислот, которые содержат боковые цепи со сходными химическими свойствами, включают 1) алифатические боковые цепи: глицин, аланин, валин, лейцин и изолейцин; 2) алифатические боковые цепи с гидроксильными группами: серин и треонин; 3) амид-содержащие боковые цепи: аспарагин и глутамин; 4) ароматические боковые цепи: фенилаланин, тирозин и триптофан; 5) основные боковые цепи: лизин, аргинин и гистидин; 6) кислые боковые цепи: аспартат и глутамат и 7) серосодержащие боковые цепи: цистеин и метионин.

Предпочтительными группами консервативных аминокислотных замен являются: валин-лейцин-изолейцин, фенилаланин-тирозин, лизин-аргинин, аланин-валин, глутамат-аспартат и аспарагин-глутамин. В качестве альтернативы, консервативной заменой является любое изменение, характеризующееся положительным значением в матрице логарифмической функции правдоподобия PAM250, раскрытой в Gonnet *et al.* (1992) Science 256: 1443 45.

[0069] Антигенсвязывающие белки к IL36R, представленные в данном документе, *например*, содержащие варианты цепей иммуноглобулинов, могут проявлять одно или более из следующих свойств:

- связывается с человеческим IL36R (*например*, IL1RL2) (*например*, слитым с меткой мус-мус-His₆) с K_D, составляющей от приблизительно 2,18 нМ до приблизительно 13,9 нМ, *например*, при 25°C, или с K_D, составляющей от приблизительно 4,25 нМ до приблизительно 29,5 нМ, *например*, при 37°C;
- связывается с IL36R *Macaca fascicularis* (*например*, IL1RL2) (*например*, слитым с меткой мус-мус-His₆) с K_D, составляющей от приблизительно 7,87 нМ до приблизительно 34,4 нМ, *например*, при 25°C, или с K_D, составляющей от приблизительно 14,4 нМ до приблизительно 58,2 нМ, *например*, при 37°C;
- связывается с человеческим IL36R (*например*, IL1RL2) (*например*, слитым с мышинным IgG2a) с K_D, составляющей от приблизительно 173 пМ до приблизительно 5,79 нМ, *например*, при 25°C, или с K_D, составляющей от приблизительно 205 пМ до приблизительно 28,7 нМ, *например*, при 37°C;
- связывается с человеческим IL36R (*например*, IL1RL2) (*например*, слитым с внеклеточным доменом IL1RAcP, экспрессируемым с Fc-меткой мышинового IgG2a) с K_D, составляющей от приблизительно 212 пМ до приблизительно 14 нМ, *например*, при 25°C, или с K_D, составляющей от приблизительно 264 пМ до приблизительно 40,9 нМ, *например*, при 37°C;
- конкурирует с одним или более из следующих антител к IL36R: H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P и/или H4N14760P2 за связывание с IL36R (*например*, IL1RL2), необязательно при условии, что такое антитело к IL36R или фрагмент, которые конкурируют с H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P;

H4H14728P; H4H14731P; H4H14732P2; H4H14734P2; H4H14757P; H4H14758P и/или H4H14760P2, не представляют собой антитело APE3798; APE4086; APE5125/APE5100; APE5216; APE5281; APE5214/APE4881; APE5280; APE5257; APE5258/APE5076; APE5212; APE5213/5066; APE5211; APE5217/APE5060; APE3849; APE3850; APE5600; APE5598; APE5627; APE6064; APE6060; APE6157; APE6155/APE6917; APE6194; APE3847; APE5713; APE6083; APE6903/APE7247; APE6904 и/или APE6907 (*например*, APE6155), или его антигенсвязывающий фрагмент, или антигенсвязывающий белок, содержащий CDR, или его переменные области (см. WO2016/168542);

- блокирует активацию NFκB с помощью IL-36R (*например*, человеческого или *Macaca fascicularis*) в присутствии IL-1RAcP и лиганда, такого как hIL-36α, hIL-36β и/или hIL-36γ, *например*, где NFκB находится в клетке-хозяине, такой как HEK293, *например*, содержащей NFκB-чувствительный элемент, представляющий собой (5x)-люцифераза-IRES-GFP, *например*, с IC₅₀, составляющей от приблизительно 1 X 10⁻¹⁰ M до 7 X 10⁻⁹ M;

- обеспечивает предупреждение или облегчение воспаления кожи (*например*, хронического или острого), или уменьшение толщины кожи или общего показателя патологии, или снижение уровней провоспалительных цитокинов (*например*, KC-GRO, IL6, IL1b и/или TNFальфа) у субъекта, страдающего воспалением кожи (*например*, хроническим или острым), *например*, химически индуцированным воспалением кожи (*например*, имиквимод-индуцированным), *например*, у мыши, такой как мышь, демонстрирующая симптомы заболевания DITRA (дефицита антагониста рецептора интерлейкина тридцать шесть) человека, которое описано, *например*, в Marrakchi *et al.*, Interleukin-36-receptor antagonist deficiency and generalized pustular psoriasis, N Engl J Med 365:620-628 (2011), *например*, относительно субъекта, не проходившего лечение с помощью такого антигенсвязывающего белка; и/или

- обеспечивает предупреждение или облегчение колита или воспаления толстой кишки, *например*, химически индуцированного колита или воспаления толстой кишки, *например*, индуцированных натриевой солью сульфата декстрана (DSS) или оксазолоном, или снижение фекальных уровней

полипептида LCN2 у субъекта с таким колитом или воспалением *например*, у мышей, таких как мышь с DITRA, *например*, относительно субъекта, не прошедшего лечение с помощью такого антигенсвязывающего белка;

- в случае связывания обеспечивает защиту остатков (a) 113-119, 113-122, 116-119 и/или 116-122; и/или (b) 264-271, 267-271, 268-271, 268-276, 268-277 и/или 271-276 полипептида IL36R, содержащего аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 227, от расщепления пепсином и/или протеазой XIII (*например*, из *Aspergillus saitoi*), и/или от дейтерирования в присутствии дейтерия (*например*, D₂O);*

- связывается с IL36R, *например*, его субъединицей IL1RL2, по остаткам 113-119, 113-122, 116-119, 116-122, 264-271, 267-271, 268-271, 268-276, 268-277 и/или 271-276 полипептида IL36R, содержащего аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 227;*

- связывает домен II IL36R, *например*, с охватом, составляющим приблизительно 80,0, 80,1, 81,0 или 81,5%;

- связывает полипептид, содержащий аминокислотную последовательность YKQILHLGKD (SEQ ID NO: 229) (аминокислоты 113-122 из SEQ ID NO: 227) и/или GVETHVSFREHNYL (SEQ ID NO: 230) (аминокислоты 264-277 из SEQ ID NO: 227);

- обеспечивает подавление IL36 α , IL36 β и/или IL36 γ (*например*, при концентрации, составляющей приблизительно 10 нМ), *например*, в эпидермальных кератиноцитах, миофибробластах кишечника и/или CD14+ моноцитах *in vitro* с IC₅₀, составляющей приблизительно 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нМ, или 1-6 нМ; и/или

- обеспечивает конкурентное подавление IL36 α -, IL36 β - и/или IL36 γ -опосредованной активации NF κ B (*например*, репортерного гена, представляющего собой NF κ B-элемент ответа (5x)-люцифераза-IRES-GFP, в клетке, такой как HEK293) с помощью IL36R; *например*, как измерено в формате анализа Шилда.

* Включает антигенсвязывающие белки, которые связываются с нативным IL36R (IL1-RL2), *например*, представленным под номером доступа UniProt Q9NB29, по остаткам, соответствующим остаткам, представленным в меченом полипептиде IL36R, содержащем аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 227. См. ниже:

113-119: YKQILHL (SEQ ID NO: 228) (аминокислоты 113-119 из SEQ ID NO: 227);

113-122: YKQILHLGKD (SEQ ID NO: 229) (аминокислоты 113-122 из SEQ ID NO: 227);

116-119: ILHL (SEQ ID NO: 231) (аминокислоты 116-119 из SEQ ID NO: 227);

116-122: ILHLGKD (SEQ ID NO: 232) (аминокислоты 116-122 из SEQ ID NO: 227);

264-271: GVETHVSF (SEQ ID NO: 233) (аминокислоты 264-271 из SEQ ID NO: 227);

267-271: THVSF (SEQ ID NO: 234) (аминокислоты 267-271 из SEQ ID NO: 227);

268-271: HVSF (SEQ ID NO: 235) (аминокислоты 268-271 из SEQ ID NO: 227);

268-276: HVSFREHNL (SEQ ID NO: 236) (аминокислоты 268-276 из SEQ ID NO: 227);

268-277: HVSFREHNL Y (SEQ ID NO: 237) (аминокислоты 268-277 из SEQ ID NO: 227);

271-276: FREHNL (SEQ ID NO: 238) (аминокислоты 271-276 из SEQ ID NO: 227).

См. выделенные ниже остатки в человеческом IL36R (IL1RL2):

MTGLVSLSYF PLSTRSCALQ SCRQPGLGMW SLLLCGLSIA
LPLSVTADGC KDIFMKNEIL

SASQPFAFNC TFPPTSGEV SVTWYKNSSK IPVSKIIQSR IHQDETWILF
LPMEWGDSGV

YQCVIKGRDS CHRIHVNLTV FEKHWCDTSI GGLPNLSDEY
KQILHLGKDD SLTCHLHFPK

SCVLGPIKWY KDCNEIKGER FTVLETRLLV SNVSAEDRGN
YACQAILTHS GKQYEVNLGI

TVSITERAGY GGSVPKIIYP KNHSIEVQLG TTLIVDCNVT DTKDNTNLRC
WRVNNTLVDD

YYDESKRIRE GVETHVSFRE HNL YTVNITF LEVKMEDYGL
PFMCHAGVST AYIILQLPAP

DFRAYLIGGL IALVAVAVSV VYIYNIFKID IVLWYRS AFH STETIVDGKL
YDAYVLYPKP

HKESQRHA VD ALVLNILPEV LERQCGYKLF IFGRDEFPGQ
AVANVIDENV KLCRRLIVIV

VPESLGFGLL KNLSEEQIAV YSALIQDGMK VILIELEKIE DYTVMPE SIQ
YIKQKHGAIR

WHGDFTEQSQ CMKTKFWKTV RYHMPPRRCR PFPPVQLLQH
TPCYRTAGPE LGSRRKKCTLTTG

(SEQ ID NO: 117).

[0070] Настоящее изобретение включает «нейтрализующие» или «антагонистические» антигенсвязывающие белки к IL36R, *например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые включают молекулы, подавляющие активность IL36R до любой выявляемой степени (*например*, связывание лиганда IL36).

[0071] «H4H14699P2», «H4H14700P2», «H4H14706P2», «H4H14708P2», «H4H14709P», «H4H14728P», «H4H14731P», «H4H14732P2», «H4H14734P2», «H4H14757P», «H4H14758P» и «H4H14760P2» относятся к антигенсвязывающим белкам, *например*, антителам и их антигенсвязывающим фрагментам (в том числе к полиспецифическим антигенсвязывающим белкам), содержащим тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область (V_H) под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66,

82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224 (или ее вариант) соответственно; и легкую цепь иммуноглобулина или ее переменную область (V_L) под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226 (или ее вариант) соответственно; или которые содержат тяжелую цепь или V_H , содержащую ее CDR (CDR-H1 (или ее вариант), CDR-H2 (или ее вариант) и CDR-H3 (или ее вариант)), и/или легкую цепь или V_L , содержащую ее CDR (CDR-L1 (или ее вариант), CDR-L2 (или ее вариант) и CDR-L3 (или ее вариант)), *например*, где цепи иммуноглобулина, переменные области и/или CDR содержат конкретные аминокислотные последовательности, описанные ниже. В одном варианте осуществления настоящего изобретения V_H связывается с константным доменом тяжелой цепи IgG (*например*, IgG1 или IgG4), и/или V_L связывается с константным доменом легкой цепи лямбда или каппа.

[0072] Антитела и антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению содержат цепи иммуноглобулина, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в данном документе, а также

клеточные и посттрансляционные модификации *in vitro* антитела или фрагмента. Например, настоящее изобретение включает антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые специфически связываются с IL36R, содержащие аминокислотные последовательности тяжелой и/или легкой цепи, представленные в данном документе (*например*, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и/или CDR-L3), а также антитела и фрагменты, где один или более остатков аспарагина, серина и/или треонина гликозилированы, один или более остатков аспарагина дезамидированы, один или более остатков (*например*, Met, Trp и/или His) окислены, N-концевой глутамин представляет собой пироглутамат (pGlu), и/или C-концевой лизин отсутствует.

[0073] В настоящем изобретении предусмотрена емкость (*например*, пластиковый или стеклянный флакон, *например*, с крышкой или хроматографической колонкой, иглой с осевым отверстием или цилиндром шприца), содержащая антигенсвязывающий белок к IL36R по настоящему изобретению, *например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2.

[0074] В настоящем изобретении также предусмотрено устройство для инъекций, содержащее один или более антигенсвязывающих белков (*например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент), которые специфически связываются с IL36R, *например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2, или фармацевтическую композицию на их основе. Устройство для инъекций может быть упаковано в набор. Устройство для инъекций представляет собой устройство, с помощью которого вводят вещество в организм субъекта парентеральным путем, *например*, внутримышечным, подкожным или внутривенным. Например, устройство для инъекций может представлять собой шприц (*например*, предварительно заполненный фармацевтической композицией, такой как автоинжектор), который, например, содержит цилиндр или корпус для удержания жидкости для инъекции (*например*, содержащей антитело, или фрагмент, или фармацевтическую композицию на их основе), иглу для прокалывания кожи и/или кровеносных сосудов для инъекции жидкости; и поршень для выталкивания жидкости из цилиндра через отверстие иглы.

[0075] В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены способы введения антигенсвязывающего белка к IL36R по настоящему изобретению, *например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2, субъекту, включающие введение антигенсвязывающего белка в организм субъекта (*например*, человека), например, парентерально. Например, способ включает прокалывание тела субъекта иглой шприца и введение путем инъекции антигенсвязывающего белка в организм субъекта, *например*, в вену, артерию, опухоль, мышечную ткань или подкожную жировую ткань субъекта.

Получение человеческих антител

[0076] Способы получения человеческих антител у трансгенных мышей известны из уровня техники. Любые такие известные способы можно использовать в контексте настоящего изобретения для получения человеческих антител, которые специфически связываются с IL36R (*например*, IL1RL2). В определенных вариантах

осуществления настоящего изобретения антитела по настоящему изобретению получают от мышей, иммунизированных с помощью IL36R (*например*, полипептидом IL1RL2 или его иммуногенным фрагментом), или живым аттенуированным или инактивированным вирусом, или ДНК, кодирующей белок или его фрагмент. В качестве альтернативы, IL36R можно получать с применением стандартных биохимических методик, а также модифицировать и использовать в качестве иммуногена. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения иммуноген может представлять собой вакцину на основе полипептида IL36R (*например*, IL1RL2). В определенных вариантах осуществления можно вводить одну или более бустерных инъекций. В определенных вариантах осуществления иммуноген может представлять собой рекомбинантный полипептид IL36R (*например*, IL1RL2), экспрессируемый в *E. coli* или в любых других эукариотических клетках или клетках млекопитающих, таких как клетки яичника китайского хомячка (CHO).

[0077] С применением технологии VELOCIMMUNE® (см., например, US 6596541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®) или любого другого известного способа получения моноклональных антител сначала могут быть выделены высокоаффинные химерные антитела к IL36R, содержащие человеческую переменную область и мышиную константную область. Технология VELOCIMMUNE® включает получение трансгенной мыши, имеющей геном, содержащий человеческие переменные области тяжелых и легких цепей, функционально связанные с эндогенными локусами мышиных константных областей, за счет чего мышь в ответ на стимуляцию антигеном продуцирует антитело, содержащее человеческую переменную область и мышиную константную область. ДНК, кодирующую переменные области тяжелых и легких цепей антитела, выделяют и осуществляют функциональное связывание с ДНК, кодирующей человеческие константные области тяжелой и легкой цепей. Затем экспрессируют ДНК в клетке, способной к экспрессии полностью человеческого антитела.

[0078] Как правило, мыши VELOCIMMUNE® вводят представляющий интерес антиген, и от мышей, которые экспрессируют антитела, выделяют лимфатические клетки (такие как В-клетки). Лимфатические клетки могут быть слиты с линией клеток миеломы с получением immortalized lines of hybridoma, and these lines of hybridoma undergo screening and are selected for identification

линий клеток гибридомы, которые продуцируют антитела, специфические к представляющему интерес антигену. ДНК, кодирующую переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, можно выделять и связывать с константными областями требуемых изотипов тяжелой цепи и легкой цепи. Такой белок, представляющий собой антитело, может продуцироваться в клетке, такой как клетка СНО. В качестве альтернативы, ДНК, кодирующую антигенспецифические химерные антитела или переменные домены легкой и тяжелой цепей, можно выделять непосредственно из антигенспецифических лимфоцитов.

[0079] Сначала выделяют высокоаффинные химерные антитела, имеющие человеческую переменную область и мышиную константную область. Антитела характеризуют и отбирают в отношении требуемых характеристик, включая аффинность, селективность, эпитоп *и т. д.* Мышиные константные области заменяют на требуемую человеческую константную область с получением полностью человеческого антитела по настоящему изобретению, например, дикого типа или модифицированные IgG1 или IgG4. Хотя отобранная константная область может варьироваться в зависимости от конкретного применения, характеристики, касающиеся высокой аффинности связывания антигена или специфичности к мишени, присущи переменной области.

Антитела к IL36R, включающие Fc-варианты

[0080] В соответствии с определенными вариантами осуществления настоящего изобретения предусмотрены антигенсвязывающие белки к IL36R, *например*, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, содержащие Fc-домен, содержащий одну или более мутаций, которые, *например*, усиливают или ослабляют связывание антитела с FcRn-рецептором, *например*, при кислом pH по сравнению с нейтральным pH. *Например*, настоящее изобретение включает антитела к IL36R, содержащие мутацию в C_H2- или C_H3-области Fc-домена, где мутация(мутации) повышает(повышают) аффинность Fc-домена к FcRn в кислой среде (*например*, в эндосоме, где pH находится в диапазоне от приблизительно 5,5 до приблизительно 6,0). Результатом таких мутаций может быть увеличение периода полужизни антитела в сыворотке крови при введении животному. Неограничивающие примеры таких модификаций Fc

включают, *например*, модификацию в положении 250 (*например*, E или Q); 250 и 428 (*например*, L или F); 252 (*например*, L/Y/F/W или T), 254 (*например*, S или T) и 256 (*например*, S/R/Q/E/D или T); или модификацию в положении 428, и/или 433 (*например*, H/L/R/S/P/Q или K), и/или 434 (*например*, A, W, H, F или Y [N434A, N434W, N434H, N434F или N434Y]); или модификацию в положении 250 и/или 428; или модификацию в положении 307 или 308 (*например*, 308F, V308F) и 434. В одном варианте осуществления модификация включает модификацию 428L (*например*, M428L) и 434S (*например*, N434S); модификацию 428L, 259I (*например*, V259I) и 308F (*например*, V308F); модификацию 433K (*например*, H433K) и 434 (*например*, 434Y); модификацию 252, 254 и 256 (*например*, 252Y, 254T и 256E); модификацию 250Q и 428L (*например*, T250Q и M428L); и модификацию 307 и/или 308 (*например*, 308F или 308P). В еще одном варианте осуществления модификация включает модификацию 265A (*например*, D265A) и/или 297A (*например*, N297A).

[0081] Например, настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки к IL36R, *например*, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, содержащие Fc-домен, содержащий одну или более пар или групп мутаций, выбранных из группы, состоящей из 250Q и 248L (*например*, T250Q и M248L); 252Y, 254T и 256E (*например*, M252Y, S254T и T256E); 428L и 434S (*например*, M428L и N434S); 257I и 311I (*например*, P257I и Q311I); 257I и 434H (*например*, P257I и N434H); 376V и 434H (*например*, D376V и N434H); 307A, 380A и 434A (*например*, T307A, E380A и N434A); а также 433K и 434F (*например*, H433K и N434F).

[0082] Антигенсвязывающие белки к IL36R, *например*, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат V_H и/или V_L, представленные в данном документе, содержащие любые возможные комбинации вышеупомянутых мутаций Fc-домена, охватываются объемом настоящего изобретения.

[0083] Настоящее изобретение также включает антигенсвязывающие белки к IL36R, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, содержащие V_H, представленную в данном документе, и химерную константную область тяжелой цепи (C_H), где химерная область C_H содержит сегменты, полученные из областей C_H более чем одного изотипа иммуноглобулина. Например, антитела по настоящему изобретению могут содержать химерную область C_H, содержащую часть домена C_{H2} или весь этот домен, полученный из молекулы человеческого IgG1, человеческого

IgG2 или человеческого IgG4, в комбинации с частью домена C_H3 или всем этим доменом, полученным из молекулы человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4. В соответствии с определенными вариантами осуществления антитела по настоящему изобретению содержат химерную область C_H, содержащую химерную шарнирную область. Например, химерный шарнир может содержать «верхнюю шарнирную» аминокислотную последовательность (аминокислотные остатки из положений 216-227 в соответствии с нумерацией EU), полученную из шарнирного участка человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4, в комбинации с «нижней шарнирной» последовательностью (аминокислотные остатки из положений 228-236 в соответствии с нумерацией EU), полученной из шарнирного участка человеческого IgG1, человеческого IgG2 или человеческого IgG4. В соответствии с определенными вариантами осуществления химерный шарнирный участок содержит аминокислотные остатки, полученные из верхней шарнирной последовательности человеческого IgG1 или человеческого IgG4, и аминокислотные остатки, полученные из нижней шарнирной последовательности человеческого IgG2. Антитело, содержащее химерную область C_H, описанное в данном документе, может в определенных вариантах осуществления проявлять эффекторные функции модифицированного Fc без неблагоприятного воздействия на терапевтические или фармакокинетические свойства антитела. (См., например, WO2014/022540).

Полиспецифические антигенсвязывающие белки

[0084] Настоящее изобретение включает антигенсвязывающие белки к IL36R, например, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, а также способы их применения и способы получения таких антигенсвязывающих белков. Термин антигенсвязывающий белок «к IL36R», например, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, включает полиспецифические (например, биспецифические или бипаратопные) молекулы, которые содержат по меньшей мере один первый антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с IL36R (например, IL1RL2) (например, антигенсвязывающий домен из H4H14699P2; H4H14700P2; H4H14706P2; H4H14708P2; H4H14709P; H4H14728P; H4H14731P; H4H14732P2; H4H14734P2; H4H14757P; H4H14758P или H4H14760P2), и по меньшей мере один

второй антигенсвязывающий домен, который связывается с другим антигеном или с эпитопом в IL36R, и который отличается от первого антигенсвязывающего домена (*например*, IL23-p19, IL12/IL23-p40, TNFальфа, IL-22, MADCAM, a4b7, CCR9 и/или CCR6). В одном варианте осуществления настоящего изобретения первый и второй эпитопы перекрываются. В другом варианте осуществления настоящего изобретения первый и второй эпитопы не перекрываются.

[0085] «H4H14699P2»; «H4H14700P2»; «H4H14706P2»; «H4H14708P2»; «H4H14709P»; «H4H14728P»; «H4H14731P»; «H4H14732P2»; «H4H14734P2»; «H4H14757P»; «H4H14758P» или «H4H14760P2» включают полиспецифические молекулы, *например*, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат HCDR и LCDR, V_H и V_L или HC и LC из H4H14699P2; H4H14700P2; H4H14706P2; H4H14708P2; H4H14709P; H4H14728P; H4H14731P; H4H14732P2; H4H14734P2; H4H14757P; H4H14758P или H4H14760P2 соответственно, и один или более антигенсвязывающих доменов, которые связываются с другим эпитопом.

[0086] В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с IL36R (*например*, IL1RL2), который может быть включен в полиспецифическую молекулу, содержит

(1)

(i) последовательность переменного домена тяжелой цепи (V_H), которая содержит CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 из тяжелой цепи иммуноглобулина, выбранную из H4H14699P2; H4H14700P2; H4H14706P2; H4H14708P2; H4H14709P; H4H14728P; H4H14731P; H4H14732P2; H4H14734P2; H4H14757P; H4H14758P и H4H14760P2, и

(ii) последовательность переменного домена легкой цепи (V_L), которая содержит CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 из тяжелой цепи иммуноглобулина, выбранную из H4H14699P2; H4H14700P2; H4H14706P2; H4H14708P2; H4H14709P; H4H14728P; H4H14731P; H4H14732P2; H4H14734P2; H4H14757P; H4H14758P и H4H14760P2 соответственно;

или

(2)

(i) последовательность варибельного домена тяжелой цепи (V_H), выбранную из H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P и H4N14760P2; и

(ii) последовательность варибельного домена легкой цепи (V_L), выбранную из H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P и H4N14760P2 соответственно;

и

один или более антигенсвязывающих доменов, которые связываются с другим эпитопом.

[0087] В одном варианте осуществления настоящего изобретения полиспецифическое антитело или фрагмент включают более чем две различных специфичности связывания (*например*, триспецифическая молекула), например, содержат один или более дополнительных антигенсвязывающих доменов, которые являются такими же, как первый и/или второй антигенсвязывающие домены, или отличаются от них.

[0088] В одном варианте осуществления настоящего изобретения биспецифический антигенсвязывающий фрагмент содержит первый scFv (*например*, содержащий V_H и V_L из H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P и H4N14760P2), характеризующийся специфичностью связывания в отношении первого эпитопа (*например*, IL36R), и второй scFv, характеризующийся специфичностью связывания в отношении второго, отличающегося эпитопа. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения первый и второй scFv соединены с помощью линкера, *например*, пептидного линкера (*например*, GS-линкера, такого как $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO: 177), где n равняется, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10).

[0089] Другие биспецифические антигенсвязывающие фрагменты содержат $F(ab)_2$ биспецифического антитела IgG, которое содержит CDR тяжелой и легкой цепей из H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P;

H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P и H4N14760P2, и другого антитела, которое связывается с другим эпитопом.

Иммуноконъюгаты

[0090] Настоящее изобретение охватывает антигенсвязывающие белки к IL36R, *например*, антитела или антигенсвязывающие фрагменты, конъюгированные с другим фрагментом, *например*, терапевтическим фрагментом («иммуноконъюгат»). В одном варианте осуществления настоящего изобретения антигенсвязывающий белок к IL36R, *например*, антитело или антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированы с любым из дополнительных терапевтических средств, представленных в данном документе. Используемый в данном документе термин «иммуноконъюгат» относится к антигенсвязывающему белку, *например*, антителу или антигенсвязывающему фрагменту, которые химически или биологически связаны с другим антигенсвязывающим белком, радиоактивным средством, репортерным фрагментом, ферментом, пептидом, белком или терапевтическим средством.

Терапевтические и профилактические способы

[0091] В настоящем изобретении предусмотрены способы лечения или предупреждения IL-36R-опосредованного заболевания посредством введения терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка к IL36R, *например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента, (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), субъекту (*например*, человеку) при необходимости такого лечения или предупреждения.

[0092] Термины «лечить» или «лечение» означают введение антигенсвязывающего белка к IL36R, *например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), субъекту, страдающему IL36R-опосредованным заболеванием, таким образом, что один или более признаков, и/или симптомов, и/или клинических особенностей IL36R-опосредованного

заболевания регрессируют или устраняются, и/или его прогрессирование подавляется (*например*, заболевание у субъекта стабилизируется, снижается или устраняется).

[0093] «Предупреждение» IL36R-опосредованного заболевания означает введение антигенсвязывающего белка к IL36R, *например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), субъекту до проявления заболевания в организме субъекта.

[0094] Интерлейкин IL-36RN является представителем семейства цитокинов IL-1, который проявляет антагонизм в отношении провоспалительных сигналов IL-36альфа, IL-36бета и IL-36гамма при связывании с IL-36R.

[0095] IL-36R-опосредованное заболевание представляет собой любое заболевание, которое вызывается или обостряется активностью IL-36R (*например*, активацией нисходящей воспалительной передачи сигналов с помощью NFκB и MAP-киназ из-за связывания рецептора с лигандом, таким как IL36γ, IL36γ и/или IL36γ), *например*, из-за дефицита антагониста IL36R (*например*, IL-36RN). В одном варианте осуществления настоящего изобретения мутация в *IL36RN* лежит в основе IL-36R-опосредованного заболевания. Примером такого заболевания является аутоиммунное и/или воспалительное нарушение. В одном варианте осуществления настоящего изобретения IL-36R-опосредованное заболевание, которое лечат с помощью антигенсвязывающего белка к IL36R, представляет собой воспалительное заболевание, аутоиммунное заболевание, синдром дефицита антагониста рецептора интерлейкина IL-36 (DITRA), герпетиформное импетиго, акродерматит, нейтрофильное пустулезное заболевание кожи, псориаз, пустулезное заболевание, генерализованный пустулезный псориаз (GPP; *например*, семейный или спорадический), вульгарный псориаз/бляшечный псориаз, ладонно-подошвенный пустулезный псориаз (PPPP), ладонно-подошвенный пустулез (PPP), колит, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, болезнь Крона, химически индуцированный колит, воспаление, воспаление дыхательных путей (*например*, нейтрофильное воспаление дыхательных путей, COPD (хроническое обструктивное заболевание легких) или астма), воспаление суставов (*например*, анкилозирующий спондилит, ревматоидный артрит или псориатический артрит), воспаление почки,

очаговую алопецию, воспаление кожи (*например*, химически индуцированные воспаление кожи, псориаз, пустулезный псориаз, генерализованный пустулезный псориаз, ладонно-подошвенный пустулез, ладонно-подошвенный пустулезный псориаз, вульгарный псориаз или псориатические поражения кожи), акантоз, гиперкератоз, синдром Киндлер, системную красную волчанку (SLE), нефротический синдром, виды ANCA (антитело к антигену цитоплазмы нейтрофилов)-ассоциированной васкулопатии, тубулоинтерстициальные поражения и гломерулонефрит.

[0096] Воспалительное нарушение представляет собой нарушение, характеризующееся неконтролируемым или нежелательным воспалением, которое может вызывать разрушение здоровой ткани.

[0097] Аутоиммунное нарушение представляет собой состояние, при котором иммунная система индивидуума по ошибке атакует организм индивидуума.

[0098] Герпетиформное импетиго (ИИ) представляет собой один из редких дерматозов беременных, который в настоящее время считается формой генерализованного пустулезного псориаза. В одном варианте осуществления настоящего изобретения в основе ИИ лежит мутация в *IL36RN*.

[0099] Акродерматит представляет собой состояние кожи, которое может поражать детей, *например*, в возрасте от 3 месяцев до 15 лет, которое характеризуется зудящими красными или пурпурными волдырями на теле, вздутием живота, лихорадкой и опухшими болезненными лимфатическими узлами. Причина акродерматита может быть вирусной. Мутации антагонистов рецептора IL-36 (*например*, IL-36Ra) присутствуют у значительной части пациентов с GPP и персистирующим акродерматитом. В одном варианте осуществления настоящего изобретения в основе акродерматита лежит мутация в *IL36RN*.

[00100] Псориаз представляет собой аутоиммунное заболевание, которое вызывает появление кожных бляшек, которые представляют собой зудящие или болезненные участки толстой, красной, сухой кожи. Наиболее распространенной формой псориаза является вульгарный псориаз (бляшечный псориаз), который характеризуется четко выраженными бляшками красной приподнятой кожи, которые могут появляться на любом участке кожи, включая колени, локти, кожу головы и туловище. Чешуйчатое серебристо-белое образование на вершине бляшек называется

чешуйкой, которая состоит из мертвых клеток кожи. Эти чешуйки отслаиваются и постоянно отрываются от бляшек. Кожные симптомы включают боль, зуд и растрескивание.

[00101] Генерализованный пустулезный псориаз (GPP) является тяжелой формой псориаза. У индивидуумов с GPP обычно возникают повторяющиеся эпизоды, при которых большие участки кожи становятся красными и воспаленными, а также образуются небольшие заполненные гноем волдыри (пустулы). Часть субъектов с GPP страдает от бляшек. Проблемы с кожей могут сопровождаться лихорадкой, сильной усталостью (утомляемостью), мышечной слабостью, повышенным количеством белых клеток крови и другими признаками воспаления во всем организме (системное воспаление). Цитокин IL-36, по-видимому, участвует в развитии GPP. В одном варианте осуществления настоящего изобретения в основе GPP лежит мутация в *IL36RN*.

[00102] Ладонно-подошвенный пустулезный псориаз (PPPP; 4P) является формой локализованного пустулезного псориаза, характеризующейся образованием бляшек и пустул на поверхностях кожи ладоней и подошв. PPPP может быть ассоциирован с гомозиготными или сложными гетерозиготными мутациями гена *IL36RN*, приводящими к абберациям в функционировании антагониста IL-36R. В одном варианте осуществления настоящего изобретения в основе PPPP лежит мутация в *IL36RN*.

[00103] Ладонно-подошвенный пустулез (PPP; 3P) представляет собой иммуноопосредованное заболевание, которое вызывает появление волдырь-подобных пустул на ладонях рук и подошвах ног. Как правило, субъекты с PPP не страдают от бляшек. В одном варианте осуществления настоящего изобретения в основе PPP лежит мутация в *IL36RN*.

[00104] Синдром дефицита антагониста рецептора интерлейкина IL-36 (DITRA) представляет собой редкое аутосомно-рецессивное заболевание, вызванное мутациями в *IL36RN*. DITRA представляет собой редкий генетический аутовоспалительный синдром с иммунодефицитным заболеванием, характеризующийся повторяющимися и тяжелыми обострениями генерализованного пустулезного псориаза, ассоциированного с высокой температурой, астенией и системным воспалением из-за дефицита антагониста IL36R. Иногда с ним могут быть

ассоциированы псориатические изменения ногтей (*например*, точечные углубления и онихомадезис) и ихтиоз. См. Marrakchi *et al.*, New Engl J. Med. 365(7): 620-628 (2011). В одном варианте осуществления настоящего изобретения в основе DITRA лежит мутация в *IL36RN*.

[00105] Воспалительное заболевание представляет собой состояние, характеризующееся аномальным воспалением в одном или нескольких участках организма субъекта. Аутоиммунное заболевание представляет собой состояние, характеризующееся аномальной атакой ткани организма субъекта собственной иммунной системой субъекта.

[00106] Виды ANCA-ассоциированной васкулопатии (AAV) представляют собой воспалительные нарушения, которые включают гранулематоз с полиангиитом (ранее болезнь Вегенера), микроскопический полиангиит и EGPA/болезнь Чарга-Стросс. Эти состояния характеризуются хроническим воспалением, приводящим к закупорке кровеносных сосудов и уменьшению кровотока к жизненно важным органам, таким как почка.

[00107] Воспалительное заболевание кишечника (IBD) представляет собой термин, включающий два состояния (болезнь Крона и язвенный колит), которые характеризуются хроническим воспалением желудочно-кишечного (GI) тракта.

[00108] Нейтрофильное воспаление дыхательных путей представляет собой воспаление дыхательных путей, которое опосредуется притоком нейтрофилов в легкие. Признаки и симптомы нейтрофильного воспаления дыхательных путей включают астму и хрипы.

[00109] Хроническое обструктивное заболевание легких (COPD) представляет собой хроническую воспалительную болезнь легких, которая вызывает затруднение оттока воздуха из легких. Признаки и симптомы включают затрудненное дыхание, кашель, выделение слизи (мокроты) и хрипы.

[00110] Анкилозирующий спондилит (AS) представляет собой заболевание, характеризующееся длительным воспалением позвоночника (*например*, крестцово-подвздошных суставов (SI) и осевого скелета). Со временем AS может привести к сращению некоторых позвонков в позвоночнике. Симптомы включают боль и скованность в пояснице и бедрах.

[00111] Ревматоидный артрит представляет собой аутоиммунное состояние, характеризующееся воспалением суставов. Симптомы включают болезненные, теплые, опухшие суставы; тугоподвижность суставов, утомляемость, лихорадку и потерю веса.

[00112] Псориазический артрит является формой артрита, которая поражает некоторых людей, страдающих псориазом. Симптомы могут включать опухшие пальцы рук и ног, боль в ногах и боль в пояснице.

[00113] Очаговая алопеция представляет собой точечное облысение, характеризующееся небольшими участками облысения на теле.

[00114] Акантоз представляет собой диффузное утолщение (гиперплазию) шиповатого слоя (слоя шиловидных клеток) кожи, которое может выглядеть темнее, чем остальная кожа. Гиперкератоз представляет собой утолщение внешнего слоя кожи.

[00115] Гиперкератоз представляет собой утолщение кожи, часто из-за раздражения от солнца, химических веществ, частого трения или давления. Утолщение кожи обычно происходит во внешнем слое кожи, который содержит жесткий защитный белок, называемый кератином.

[00116] Синдром Киндлер представляет собой аутосомно-рецессивный генодерматоз, характеризующийся врожденным образованием волдырей на акральных участках кожи, светочувствительностью, прогрессирующей пойкилодермией и диффузной атрофией кожи. Проявления обычно встречаются на слизистой оболочке с частым поражением слизистой оболочки полости рта, десен и желудочно-кишечного тракта.

[00117] Системная красная волчанка (SLE) представляет собой аутоиммунное заболевание. При этом заболевании иммунная система организма по ошибке атакует здоровую ткань. SLE может поражать кожу, суставы, почки, головной мозг и другие органы.

[00118] Нефротический синдром представляет собой нарушение функционирования почек, при котором организм выделяет слишком много белка с мочой. Нефротический синдром обычно вызывается повреждением скоплений мелких кровеносных сосудов в почках, которые фильтруют отходы и лишнюю воду из крови. Симптомы нефротического синдрома могут включать опухание (отек), особенно стоп

и лодыжек, пенистую мочу, увеличение веса (из-за задержки жидкости), утомляемость и потерю аппетита.

[00119] Гломерулонефрит представляет собой воспаление почечных клубочков. Симптомы включают мочу цвета чернил или колы из-за красных клеток крови в моче (гематурия), пенистую мочу (из-за протеинурии), высокое кровяное давление (гипертония), задержку жидкости (отек).

[00120] Эффективная или терапевтически эффективная доза антигенсвязывающего белка к IL36R, *например*, антитела или антигенсвязывающего фрагмента (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), для лечения или предупреждения IL-36R-опосредованного заболевания относится к количеству антитела или фрагмента, достаточному для облегчения одной(одного) или более из клинических особенностей, признаков и/или симптомов заболевания у проходящего лечение субъекта либо посредством индукции регрессии или устранения таких особенностей, признаков и/или симптомов, либо посредством подавления прогрессирования таких особенностей, признаков и/или симптомов. Количество, составляющее дозу, может варьироваться в зависимости от возраста и размера субъекта, которому будут осуществлять введение, целевого заболевания, состояний, пути введения и т. п. В одном варианте осуществления настоящего изобретения эффективная или терапевтически эффективная доза антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по настоящему изобретению для лечения или предупреждения IL36R-опосредованного заболевания, *например*, у взрослого субъекта-человека, составляет приблизительно 1 мг/кг или больше, *например*, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 25 мг/кг. В зависимости от тяжести инфекции можно корректировать частоту введения и длительность лечения. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок по настоящему изобретению можно вводить в начальной дозе с последующими одной или более вторичными дозами. В определенных вариантах осуществления после введения начальной дозы может следовать введение второй дозы или множества последующих доз антигенсвязывающего белка в количестве, которое может быть примерно тем же, что и в начальной дозе, или меньше начальной дозы, где последующие введения доз разделены интервалом

времени, составляющим от по меньшей мере 1 дня до 3 дней; по меньшей мере одну неделю, по меньшей мере 2 недели; по меньшей мере 3 недели; по меньшей мере 4 недели; по меньшей мере 5 недель; по меньшей мере 6 недель; по меньшей мере 7 недель; по меньшей мере 8 недель; по меньшей мере 9 недель; по меньшей мере 10 недель; по меньшей мере 12 недель или по меньшей мере 14 недель.

[00121] Используемый в данном документе термин «субъект» относится к млекопитающему (*например*, крысе, мыши, кошке, собаке, корове, овце, лошади, козе, кролику), предпочтительно человеку, например, нуждающемуся в предупреждении и/или лечении IL-36R-опосредованного заболевания. Субъект может страдать IL-36R-опосредованным заболеванием или может быть предрасположен к развитию такого заболевания. В одном варианте осуществления настоящего изобретения субъект имеет генотип с гомозиготной или гетерозиготной мутацией *IL36RN*.

[00122] Настоящее изобретение охватывает способы введения антигенсвязывающего белка к IL36R субъекту с риском развития IL36R-опосредованного заболевания. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения заболевание представляет собой воспалительное заболевание кожи или воспалительное заболевание толстой кишки. В примере 5 в данном документе продемонстрировано, что воспалительные заболевания кожи могут быть предупреждены в модели DITRA-подобной мыши до воздействия имиквимода и развития симптомов воспаления кожи. В одном варианте осуществления настоящего изобретения IL36R-опосредованное заболевание (*например*, воспаление кожи) предупреждают посредством введения профилактической дозы антигенсвязывающего белка субъекту до проявления любого клинически значимого воспаления, *например*, воспаления кожи, или любого усиления индуцированного воспалением утолщения кожи по общему показателю патологии (как обсуждается в данном документе) или в присутствии провоспалительных цитокинов, таких как KC-GRO, IL-6, IL-1β или TNFα, в коже. В одном варианте осуществления настоящего изобретения доза антигенсвязывающего белка к IL36R по настоящему изобретению для предупреждения IL36R-опосредованного заболевания составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг.

Комбинации и фармацевтические композиции

[00123] В настоящем изобретении предусмотрены композиции, которые содержат антигенсвязывающие белки к IL36R и один или более ингредиентов; а также способы их применения и способы получения таких композиций.

[00124] Для получения фармацевтических композиций на основе антигенсвязывающих белков к IL36R, *например*, антител и их антигенсвязывающих фрагментов (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), антигенсвязывающий белок смешивают с фармацевтически приемлемым носителем или вспомогательным веществом. См., *например*, Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1984); Hardman, *et al.* (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y.; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N.Y.; Avis, *et al.* (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. В одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтическая композиция является стерильной. Такие композиции являются частью настоящего изобретения.

[00125] Фармацевтические композиции по настоящему изобретению содержат фармацевтически приемлемые носители, разбавители, вспомогательные вещества и/или стабилизаторы, такие как, например, вода, буферные средства, стабилизирующие средства, консерванты, изотонические средства, неионные детергенты, антиоксиданты и/или другие различные добавки.

[00126] Объем настоящего изобретения включает высушенные, *например*, лиофилизированные композиции, содержащие антигенсвязывающий белок к IL36R, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), или

фармацевтическую композицию на его основе, которая содержит фармацевтически приемлемый носитель, но по-сути не содержит воду.

[00127] В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство, которое вводят субъекту в сочетании с антигенсвязывающим белком к IL36R, *например*, антителом или его антигенсвязывающим фрагментом (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), раскрытым в данном документе, вводят субъекту в соответствии с Physicians' Desk Reference 2003 (Thomson Healthcare; 57th edition (Nov. 1, 2002)).

[00128] Способ введения антигенсвязывающего белка или композиции на его основе может варьироваться. Пути введения включают пероральный, ректальный, трансмукозальный, кишечный, парентеральный; внутримышечный, подкожный, внутрикожный, интрамедуллярный, интратекальный, прямой интравентрикулярный, внутривенный, интраперитонеальный, интраназальный, внутриглазной, ингаляцию, инфузию, местный, кожный, трансдермальный или внутриартериальный.

[00129] В настоящем изобретении предусмотрены способы введения антигенсвязывающего белка к IL36R, *например*, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), субъекту, включающие введение белка или фармацевтической композиции на его основе или в комбинации с ним в организм субъекта. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения способ включает прокалывание тела субъекта, *например*, иглой шприца, и введение путем инъекции антигенсвязывающего белка или фармацевтической композиции на его основе или в комбинации с ним в организм субъекта, *например*, в вену, артерию, опухоль, мышечную ткань или подкожную жировую ткань субъекта.

[00130] В настоящем изобретении предусмотрена емкость (*например*, пластиковый или стеклянный флакон, *например*, с крышкой или хроматографической колонкой, иглой с осевым отверстием или цилиндром шприца), содержащая любой из антигенсвязывающих белков к IL36R, *например*, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2;

H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), или фармацевтическую композицию, содержащую фармацевтически приемлемый носитель, или их комбинацию.

[00131] Настоящее изобретение включает комбинации, содержащие антигенсвязывающий белок к IL36R, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению (*например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2), в сочетании с одним или более дополнительными терапевтическими средствами.

Антигенсвязывающий белок к IL36R и дополнительное терапевтическое средство могут находиться в одной композиции или в отдельных композициях. Например, в одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой противовоспалительное лекарственное средство. В одном варианте осуществления настоящего изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой другой антигенсвязывающий белок к IL35R, ингибитор IL17, ингибитор IL23p19, ингибитор IL12p40, гуселкумаб, устекинумаб, бродалумаб, иксекизумаб, секукинумаб, антитело к TNFальфа или его антигенсвязывающий фрагмент, один или более человеческих рецепторов TNF или их фрагментов, связанных с иммуноглобулином, таким как Fc-часть человеческого IgG1, инфликсимаб, адалимумаб, этанерцепт, дупилумаб, сарилумаб, тоцилизумаб, голимумаб, абатацепт, тофацитиниб, абатацепт, нестероидное противовоспалительное лекарственное средство (NSAID), ибупрофен, напроксен, ацетаминофен, аспирин, целекоксиб, циклофосфамид, метотрексат, кортикостероид, кортизон или преднизон.

[00132] Способы лечения или предупреждения IL-36-опосредованного заболевания у субъекта, нуждающегося в указанном лечении или предупреждении посредством введения антигенсвязывающего белка к IL36R, *например*, H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2, в сочетании с дополнительным терапевтическим средством являются частью настоящего изобретения.

[00133] Термин «в сочетании с» указывает на то, что компоненты, антигенсвязывающий белок к IL36R, *например*, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению, наряду с другим средством, таким как метотрексат, могут быть составлены в одну композицию, *например*, для одновременной доставки, или составлены отдельно в двух или более композициях (*например*, набор, содержащий каждый компонент). Каждый компонент можно вводить субъекту в момент времени, отличающийся от времени введения другого компонента; например, каждое введение можно осуществлять не одновременно (*например*, отдельно или последовательно) с интервалами в течение заданного периода времени. Более того, отдельные компоненты можно вводить субъекту одним или разными путями.

ПРИМЕРЫ

[00134] Следующие примеры представлены для того, чтобы предоставить специалистам в данной области техники полное раскрытие и описание того, как получать и применять способы и композиции по настоящему изобретению, и не предназначены для ограничения объема того, что авторы настоящего изобретения считают своим изобретением.

[00135] **Пример 1: Получение человеческих антител, которые специфически связываются с IL-36R**

[00136] Антитела к IL36R получали посредством иммунизации мыши VELOCIMMUNE (*т. е.* сконструированной мыши, содержащей ДНК, кодирующую переменные области тяжелой цепи и легкой каппа-цепей человеческого иммуноглобулина) ДНК-иммуногеном, содержащим полноразмерную последовательность IL36R (IL-1RL2). За опосредованным антителами иммунным ответом наблюдали с помощью IL36R-специфического иммуноанализа и полностью человеческие антитела к IL36R выделяли и очищали. Два иллюстративных сравнения между V_H и V_L антител, полученных как представлено в данном документе, и их соответствующими вариантами зародышевого типа, представлены на фигуре 1 и фигуре 2.

Таблица 1. Последовательности цепей иммуноглобулинов по
настоящему изобретению*

Антитело	VH	CDR1		CDR2		CDR3		VK		CDR1		CDR2		CDR3																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
		PER	ДНК	PER	ДНК	PER	ДНК	PER	ДНК	PER	ДНК	PER	ДНК	PER	ДНК	PER	ДНК																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
1	H4H14699P2	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2	H4H14700P2	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
3	H4H14706P2	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
4	H4H14708P2	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
5	H4H14709P	65	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
6	H4H14728P	81	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
7	H4H14731P	97	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
8	H4H14732P2	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
9	H4H14734P2	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
10	H4H14757P	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
11	H4H14758P	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545	546	547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590	591	592	593	594	595	596	597	598	599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624	625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720	721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824	825	826	827	828	829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884	885	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900	901	902	903	904	905	906	907	908	909	910	911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924	925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936	937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948	949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000

*Числа, соответствующие V_H , CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, V_L , CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, относятся к SEQ ID NO, представленным в данном документе. «PEP» относится к аминокислотной последовательности; «ДНК» относится к нуклеотидной последовательности.

SEQ ID NO: 1

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCGGCCTCTGGATT
CACCTTTGATGATTATGCCATACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGTTATCAGTTGGA
ATAGTGATATCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCG
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT
CTGCAAATGAATAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGT
GCAAAAGGATATAACTGGAACTTCTTTGACTA
TTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 2

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAIHWVRQAPGKGLEWVS
VISWNSDIIGYADSVKGRFTVSRDNAKNSLY
LQMNSLRTEDTALYYCAKGYNWNFFDYWGQGTLLTVSS;

SEQ ID NO: 3

GGA TTC ACC TTT GAT GAT TAT GCC;

SEQ ID NO: 4

G F T F D D Y A;

SEQ ID NO: 5

ATC AGT TGG AAT AGT GAT ATC ATA;

SEQ ID NO: 6

I S W N S D I I;

SEQ ID NO: 7

GCA AAA GGA TAT AAC TGG AAC TTC TTT GAC TAT;

SEQ ID NO: 8

A K G Y N W N F F D Y;

SEQ ID NO: 9

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTATCTCCAGGGG
AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCA

GAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGC
TCCCAGGCTCCTCATCTATAATGCAGCAAACA

GGGCCACTGACATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG
ACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCT

GAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA
CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAA

A;

SEQ ID NO: 10

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYNA
ANRATDIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP

EDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK;

SEQ ID NO: 11

CAG AGT GTT AGC AGC TAC;

SEQ ID NO: 12

Q S V S S Y;

SEQ ID NO: 13

AAT GCA GCA;

SEQ ID NO: 14

N A A;

SEQ ID NO: 15

CAG CAG CGT AGC AAC TGG CCT CTC ACT;

SEQ ID NO: 16

Q Q R S N W P L T;

SEQ ID NO: 17

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAACCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTAGTTGGA

ATAGTGATGTCATAGCCTATTCGGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACCA
TTTCCAGAGACAACGCCAAGAACCTCCCTGTAT

CTGCAAATGAACAGTCTGGGAACTGAGGACACGGCCTTATATTACTGT
GCAAAAGGCCATAACTGGAACCTCTTTGACTA

TTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 18

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQTPGKGLEWV
SVISWNSDVIAYSDSVKGRFTISRDNKNSLY

LQMNSLGTEDTALYYCAKGHNWNFFDYWGQGTLVTVSS;

SEQ ID NO: 19

GGA TTC ACC TTT GAT GAT TAT GCC;

SEQ ID NO: 20

G F T F D D Y A;

SEQ ID NO: 21

ATT AGT TGG AAT AGT GAT GTC ATA;

SEQ ID NO: 22

I S W N S D V I;

SEQ ID NO: 23

GCA AAA GGC CAT AAC TGG AAC TTC TTT GAC TAT;

SEQ ID NO: 24

A K G H N W N F F D Y;

SEQ ID NO: 25

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGAG
AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCA

GAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGC
TCCCAGGCTCCTCATCTATAATGTAGCCAACA

GGGCCACAGACATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA
GACTTCACTCTCACCATCAGCGGCCTAGAGCCT

GAAGATTTTGCAGTTTATTTCTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA
CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAA

A;

SEQ ID NO: 26

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYNV
ANRATDIPARFSGSGSGTDFTLTISGLEP

EDFAVYFCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK;

SEQ ID NO: 27

CAG AGT GTT AGC AGC TAC;

SEQ ID NO: 28

Q S V S S Y;

SEQ ID NO: 29

AAT GTA GCC;

SEQ ID NO: 30

N V A;

SEQ ID NO: 31

CAG CAG CGT AGC AAC TGG CCT CTC ACT;

SEQ ID NO: 32

Q Q R S N W P L T;

SEQ ID NO: 33

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTGGATT

CACCTTTGATGATTATGCCATACTGGGTCCGGCAATCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGTTATCAGTTGGA

ATAGTGATGTCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT

CTGCAGATGAATAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGT
GCAAAAGGATATAACTGGA ACTTCTTTGACTA

TTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 34

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAIHWVRQSPGKGLEWVS
VISWNSDVIGYADSVKGRFTISRDNKNSLY

LQMNSLRAEDTALYYCAKGYNWNFFDYWGQGTLVTVSS;

SEQ ID NO: 35

GGA TTC ACC TTT GAT GAT TAT GCC;

SEQ ID NO: 36

G F T F D D Y A;

SEQ ID NO: 37

ATC AGT TGG AAT AGT GAT GTC ATA;

SEQ ID NO: 38

I S W N S D V I;

SEQ ID NO: 39

GCA AAA GGA TAT AAC TGG AAC TTC TTT GAC TAT;

SEQ ID NO: 40

A K G Y N W N F F D Y;

SEQ ID NO: 41

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTATCTCCAGGGG
AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCA

GAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGC
TCCCAGGCTCCTCATCTATAATGCAGCAAACA

GGGCCACTGACATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG
ACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCT

GAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA
CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAA

A;

SEQ ID NO: 42

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYNA
ANRATDIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP

EDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK;

SEQ ID NO: 43

CAG AGT GTT AGC AGC TAC;

SEQ ID NO: 44

Q S V S S Y;

SEQ ID NO: 45

AAT GCA GCA;

SEQ ID NO: 46

N A A;

SEQ ID NO: 47

CAG CAG CGT AGC AAC TGG CCT CTC ACT;

SEQ ID NO: 48

Q Q R S N W P L T;

SEQ ID NO: 49

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAATGGGTCTCAGTTATTAGTTGGA

ATAGTGATGTCATAGCCTATTCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGA AACTCCCTGTAT

CTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTATATTACTGT
ACAAAAGGCCATAAGTGGAGCTTCTTTGACTA

TTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 50

EVQLVESGGDLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SVISWNSDVIA YSDSVKGRFTISRDNKNSLY

LQMNSLRTE DTALYYCTKGHKWSFFDYWGQGTLVTVSS;

SEQ ID NO: 51

GGA TTC ACC TTT GAT GAT TAT GCC;

SEQ ID NO: 52

G F T F D D Y A;

SEQ ID NO: 53

ATT AGT TGG AAT AGT GAT GTC ATA;

SEQ ID NO: 54

I S W N S D V I;

SEQ ID NO: 55

ACA AAA GGC CAT AAG TGG AGC TTC TTT GAC TAT;

SEQ ID NO: 56

T K G H K W S F F D Y;

SEQ ID NO: 57

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG
AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCA

GAGTATTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGC
TCCCAGACTCCTCATCTTTAATGTAGCCAACA

GGGCCACTGACATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG
ACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCT

GAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA
CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAA

A;

SEQ ID NO: 58

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIFNVA
NRATDIPARFSGSGSGTDFLTLSLEP

EDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK;

SEQ ID NO: 59

CAG AGT ATT AGC AGC TAC;

SEQ ID NO: 60

Q S I S S Y;

SEQ ID NO: 61

AAT GTA GCC;

SEQ ID NO: 62

N V A;

SEQ ID NO: 63

CAG CAG CGT AGC AAC TGG CCT CTC ACT;

SEQ ID NO: 64

Q Q R S N W P L T;

SEQ ID NO: 65

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTTCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGCGCAGCCTCTGGATT

CACCTTTAGCGACTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCGGGGAA
GGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGGA

ATGGTGGTGACACATACTACGGAGACTTCGTGAAGGGCCGGTTCACCA
TCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT

CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCCGCATATTTCTGT
GTGATAGATCTTGACTATTGGGGTCAGGGAAC

CCTGGTCACCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 66

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMSWVRQAPGKGLEWVS
GISGNNGDYYGDFVKGRFTISRDNKNTLY

LQMNSLRGEDTAA YFCVIDLDYWGQGLVTVSS;

SEQ ID NO: 67

GGA TTC ACC TTT AGC GAC TAT GCC;

SEQ ID NO: 68

G F T F S D Y A;

SEQ ID NO: 69

ATT AGT GGA AAT GGT GGT GAC ACA;

SEQ ID NO: 70

I S G N G G D T;

SEQ ID NO: 71

GTG ATA GAT CTT GAC TAT;

SEQ ID NO: 72

V I D L D Y;

SEQ ID NO: 73

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGAAGGA
GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCA

GAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGAAAAGC
CCCTAGGCTCCTGATCTATAAGGCGTCTATTT

TAGGAGATGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACA
GAATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT

GATGATTTTGCTACTTATTACTGCCACCAGTATAATAGTTATTTGTGGA
CGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAA

A;

SEQ ID NO: 74

DIQMTQSPSTLSASEGDRVITICRASQSISWLAWYQQKPGKAPRLIYKA
SILGDGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP

DDFATYYCHQYNSYLVWTFGQGTKVEIK;

SEQ ID NO: 75

CAG AGT ATT AGT AGC TGG;

SEQ ID NO: 76

Q S I S S W;

SEQ ID NO: 77

AAG GCG TCT;

SEQ ID NO: 78

K A S;

SEQ ID NO: 79

CAC CAG TAT AAT AGT TAT TTG TGG ACG;

SEQ ID NO: 80

H Q Y N S Y L W T;

SEQ ID NO: 81

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACA
GACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGG

CTCCATCAGCAGTGCTGATTACTATTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCC
AGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGATCCATCT

ATTATACTGGGAGTACTTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGACTTA
CCATATCAATAGACACGTCTGAGAACCAGTTC

TCTTTGAAACTGACCTCTCTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACT
GTGCGAGCGAGGAGGCTAACTGGGGATCCCA

CTTTGACTCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 82

QVQLQESGPGLVKPSQTLTCTVSGGSISSADYYWSWIRQHPGKGLEWI
GSIYYTGSTYYNPSLKSRLTISIDTSENQF

SLKLTSLTAADTAVYYCASEEANWGSHFDSWGQGLVTVSS;

SEQ ID NO: 83

GGT GGC TCC ATC AGC AGT GCT GAT TAC TAT;

SEQ ID NO: 84

G G S I S S A D Y Y;

SEQ ID NO: 85

ATC TAT TAT ACT GGG AGT ACT;

SEQ ID NO: 86

I Y Y T G S T;

SEQ ID NO: 87

GCG AGC GAG GAG GCT AAC TGG GGA TCC CAC TTT GAC TCC;

SEQ ID NO: 88

A S E E A N W G S H F D S;

SEQ ID NO: 89

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTGACAACCTTTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCATCTTACTACTGTCAACATAGTCACAGTGCCCATCCGA
TCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT

TAAA;

SEQ ID NO: 90

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDNFLNWFYQQKPKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQP

EDFASYQCQHSASHAHPITFGQGTRLEIK;

SEQ ID NO: 91

CAG AGC ATT GAC AAC TTT;

SEQ ID NO: 92

Q S I D N F;

SEQ ID NO: 93

GCT GCA TCC;

SEQ ID NO: 94

A A S;

SEQ ID NO: 95

CAA CAT AGT CAC AGT GCC CAT CCG ATC ACC;

SEQ ID NO: 96

Q H S H S A H P I T;

SEQ ID NO: 97

CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGA
GACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGG

CTCCATCAGCAGTAGTAATTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCC
AGGGAAGAGACTGGAGTGGATTGGGAGTATCT

ATTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGACTCGAGTCA
CCATATCCGTAGACACGTCCAAGAATCAGTTC

TCCCTGAAGCTGACCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTAC
TGTGCGAGAGAGGAAGCAGCAGCTTTGACGCA

CTTTGACTTCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 98

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSNYYWGWIRQPPGKRLEWIG
SIYYSGSTYYNPSLKTRVTISVDTSKNQF

SLKLTSVTAADTAVYYCAREEAAALTHFDWQGLVTVSS;

SEQ ID NO: 99

GGT GGC TCC ATC AGC AGT AGT AAT TAC TAC;

SEQ ID NO: 100

G G S I S S S N Y Y;

SEQ ID NO: 101

ATC TAT TAT AGT GGG AGC ACC;

SEQ ID NO: 102

I Y Y S G S T;

SEQ ID NO: 103

GCG AGA GAG GAA GCA GCA GCT TTG ACG CAC TTT GAC TTC;

SEQ ID NO: 104

A R E E A A A L T H F D F;

SEQ ID NO: 105

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAGCTCCTGATCTTTGCTGCATCCAGTT

TACAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACATAGTCACAGTTCCCATCCGA
TCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT

TAAA;

SEQ ID NO: 106

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSSISNYLNWYQQKPKAPKLLIFAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP

EDFATYYCQHSHPITFGQGRLEIK;

SEQ ID NO: 107

CAG AGC ATT AGC AAC TAT;

SEQ ID NO: 108

Q S I S N Y;

SEQ ID NO: 109

GCT GCA TCC;

SEQ ID NO: 110

A A S;

SEQ ID NO: 111

CAA CAT AGT CAC AGT TCC CAT CCG ATC ACC;

SEQ ID NO: 112

Q H S H S S H P I T;

SEQ ID NO: 113

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGG

CTGGTTATAACATAGACTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT

CTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGT
GCAAAAGATATGCGTGGATTCAGTTATGGTTT

CCCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 114

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SGINWAGYNIDYADSVKGRFTISRDNKNSLY

LQMNSLRAEDTALYYCAKDMRGFSYGFPPFDYWGQGTLVTVSS;

SEQ ID NO: 115

GGA TTC ACC TTT GAT GAT TAT GCC;

SEQ ID NO: 116

G F T F D D Y A;

SEQ ID NO: 117

ATT AAT TGG GCT GGT TAT AAC ATA;

SEQ ID NO: 118

I N W A G Y N I;

SEQ ID NO: 119

GCA AAA GAT ATG CGT GGA TTC AGT TAT GGT TTC CCC TTT GAC
TAC;

SEQ ID NO: 120

A K D M R G F S Y G F P F D Y;

SEQ ID NO: 121

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCGTCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCCG
ATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT

TAAA;

SEQ ID NO: 122

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQP

EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTRLEIK;

SEQ ID NO: 123

CAG AGC ATT AGC AGC TAT;

SEQ ID NO: 124

Q S I S S Y;

SEQ ID NO: 125

GCT GCA TCC;

SEQ ID NO: 126

A A S;

SEQ ID NO: 127

CAA CAG AGT TAC AGT ACC CCT CCG ATC ACC;

SEQ ID NO: 128

Q Q S Y S T P P I T;

SEQ ID NO: 129

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAAAGCCGGGGGG
GTCCCTTAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

TATTTTCAGTAACGCCTGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAA
GGGACTGGCGTGGGTTGGCCGTATTAACCG

AAACTGATGGTGGGACAACAGACTACGCTGCACCCGTAAAAGGCAGA
TTCACCATCTCAAGAGATGACTCAAAAAACACG

CTGTATCTGCAAATGAACAGCGTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTAT
TACTGTACAGGGGGATACAGCTATGGTGACGA

TAGCAGCAGCTGGAACGAGGGCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTG
GGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 130

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFIFSNAWMNWVRQAPGKGLAWV
GRIKTETDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNT

LYLQMNSVKTEDTAVYYCTGGYSYGDDSSSWNEGYYYYGMDVWGQGT
TVTVSS;

SEQ ID NO: 131

GGA TTT ATT TTC AGT AAC GCC TGG;

SEQ ID NO: 132

G F I F S N A W;

SEQ ID NO: 133

ATT AAA ACC GAA ACT GAT GGT GGG ACA ACA;

SEQ ID NO: 134

I K T E T D G G T T;

SEQ ID NO: 135

ACA GGG GGA TAC AGC TAT GGT GAC GAT AGC AGC AGC TGG AAC
GAG GGC TAC TAC TAC TAC GGT ATG GAC GTC;

SEQ ID NO: 136

T G G Y S Y G D D S S S W N E G Y Y Y Y G M D V;

SEQ ID NO: 137

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTGGATT

CACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTCGTTGGA

ATGGTGGTAGTATAGGCTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGTCCCTGCAT

CTGCAAATGAACAGTCTAAAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGT
GCAAAAGATATAGGCGATATTTTACTGGTTT

TTATGGAGAATACGGAATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 138

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SGIRWNGGSIGYVDSVKGRFTISRDNAKKSLH

LQMNSLKTEDTALYYCAKDIGDILTGIFYGEYGM DVWVGQGT TVTVSS;

SEQ ID NO: 139

GGA TTC ACC TTT GAT GAT TAT GCC;

SEQ ID NO: 140

G F T F D D Y A;

SEQ ID NO: 141

ATT CGT TGG AAT GGT GGT AGT ATA;

SEQ ID NO: 142

I R W N G G S I;

SEQ ID NO: 143

GCA AAA GAT ATA GGC GAT ATT TTG ACT GGT TTT TAT GGA GAA
TAC GGA ATG GAC GTC;

SEQ ID NO: 144

A K D I G D I L T G F Y G E Y G M D V;

SEQ ID NO: 145

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGAAGGA
GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAGCAGGGAAAG
CCCCTAACCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
AGTACACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACATTATCCCGTACA
CTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA

A;

SEQ ID NO: 146

DIQMTQSPSSLSASEGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKAGKAPNLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQP

EDFATYYCQQSIIIPYTFGQGTKLEIK;

SEQ ID NO: 147

CAG AGC ATT AGC AGC TAT;

SEQ ID NO: 148

Q S I S S Y;

SEQ ID NO: 149

GCT GCA TCC;

SEQ ID NO: 150

A A S;

SEQ ID NO: 151

CAA CAG AGT TAC ATT ATC CCG TAC ACT;

SEQ ID NO: 152

Q Q S Y I I P Y T;

SEQ ID NO: 153

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGGTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAAGTGTTAGGTGGA

ATGGTGGTATTATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGA AACTCCCTGTAT

CTGCAAATGAACAGTCTGAGACCTGAGGACACGGCCCTCTATTACTGT
GCAAAAGATATAGGCGATGTTTTGACTGGTTA

TTATGGAGAATACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAC
CGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 154

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SSVRWNGGIIGYADSVKGRFTISRDNKNSLY

LQMNSLRPEDTALYYCAKDIGDVLTYGYYGEYGMVWVGQTTVTVSS;

SEQ ID NO: 155

GGA TTC ACC TTT GAT GAT TAT GCC;

SEQ ID NO: 156

G F T F D D Y A;

SEQ ID NO: 157

GTT AGG TGG AAT GGT GGT ATT ATA;

SEQ ID NO: 158

V R W N G G I I;

SEQ ID NO: 159

GCA AAA GAT ATA GGC GAT GTT TTG ACT GGT TAT TAT GGA GAA
TAC GGT ATG GAC GTC;

SEQ ID NO: 160

A K D I G D V L T G Y Y G E Y G M D V;

SEQ ID NO: 161

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAG
ACAGAGTCACCATCGCTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTACCACCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAACTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGTAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACATTTCCCCGTACA
CTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA;

SEQ ID NO: 162

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIACRASQSITTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQP

EDFATYYCQQS YISPYTFGQGTKLEIK;

SEQ ID NO: 163

CAG AGC ATT ACC ACC TAT;

SEQ ID NO: 164

Q S I T T Y;

SEQ ID NO: 165

GCT GCA TCC;

SEQ ID NO: 166

A A S;

SEQ ID NO: 167

CAA CAG AGT TAC ATT TCC CCG TAC ACT;

SEQ ID NO: 168

Q Q S Y I S P Y T;

SEQ ID NO: 169

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAA
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACCTTCAGTAATTATGGCATACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAA
GGGGCTGGAGTGGGTGGCGATTATATTATATG

ATGGAAGTAATCAACACTATGCAGATTCCGTGAAGGGCCGATTCACCA
TTTCCAGAGACAATTCCAAAAACACGCTGTAT

CTTCAAATGAACAACCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGT
GCGAGAGATCTTGATCTTTGGAGTGGTTATTA

TACAAACGGGGACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCCTCA;

SEQ ID NO: 170

QVQLVESGGGVVQP GKSLRLSCAASGFTFSNYGIHWVRQAPGKGLEWVA
IILYDGSNQHYADSVKGRFTISRDN SKNTLY

LQMNNLRAEDTAVYYCARDLDLWSGY YTNGDGM DVWGQGTTVTVSS;

SEQ ID NO: 171

GGA TTC ACC TTC AGT AAT TAT GGC;

SEQ ID NO: 172

G F T F S N Y G;

SEQ ID NO: 173

ATA TTA TAT GAT GGA AGT AAT CAA;

SEQ ID NO: 174

I L Y D G S N Q;

SEQ ID NO: 175

GCG AGA GAT CTT GAT CTT TGG AGT GGT TAT TAT ACA AAC GGG
GAC GGT ATG GAC GTC;

SEQ ID NO: 176

A R D L D L W S G Y Y T N G D G M D V;

Ниже представлены аминокислотные и нуклеотидные последовательности тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов, содержащих константные домены антигенсвязывающих белков по настоящему изобретению.

H4H14699P2*ДНК тяжелой цепи*

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCGGCCTCTGGATT

CACCTTTGATGATTATGCCATACACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGTTATCAGTTGGA

ATAGTGATATCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCG
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT

CTGCAAATGAATAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGT
GCAAAAGGATATAACTGGAACTTCTTTGACTA

TTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGG
CCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCA

GGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT
ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAC

TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT

GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGT
AGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA

AGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCCAGCAC
CTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTG

TTCCCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG
GTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA

AGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA
TAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT

TCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG
ACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG

GTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA
GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTA

CACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT
GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCG

ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTAC
AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC

TCCTTCTCCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
GAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA

TGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTG
GGTAAATGA

(SEQ ID NO: 179)

Полипептид тяжелой цепи

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAIHWVRQAPGKGLEWVS
VISWNSDIIGYADSVKGRFTVSRDNAKNSLY

LQMNSLRTEDTALYYCAKGYNWNFFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPL
APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN

SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL

FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK

VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG

SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 180)

ДНК легкой цепи

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTATCTCCAGGGG
AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCA

GAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGC
TCCCAGGCTCCTCATCTATAATGCAGCAAACA

GGGCCACTGACATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG
ACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCT

GAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA
CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAA

ACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GT

(SEQ ID NO: 181)

Полипептид легкой цепи

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYNA
ANRATDIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP

EDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

(SEQ ID NO: 182)

H4H14700P2*ДНК тяжелой цепи*

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACSTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAACCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTAGTTGGA

ATAGTGATGTCATAGCCTATTCGGACTCTGTGAAGGGCCGCTTCACCA
TTTCCAGAGACAACGCCAAGAACCTCCCTGTAT

CTGCAAATGAACAGTCTGGGAACTGAGGACACGGCCTTATATTA CTGT
GCAAAAGGCCATAACTGGA ACTTCTTTGACTA

TTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGG
CCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCA

GGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT
ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAC

TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT

GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGT
AGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA

AGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCCAGCAC
CTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTG

TTCCCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG
GTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA

AGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA
TAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT

TCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG
ACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG

GTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA
GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTA

CACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT
GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCG

ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTAC
AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC

TCCTTCTCCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
GAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA

TGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTG
GGTAAATGA

(SEQ ID NO: 183)

Полипептид тяжелой цепи

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQTPGKGLEWV
SVISWNSDVIAYSDSVKGRFTISRDNKNSLY

LQMNSLGTEDTALYYCAKGHNWNFFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPL
APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN

SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL

FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK

VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG

SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 184)

ДНК легкой цепи

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGAG
AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCA

GAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGC
TCCCAGGCTCCTCATCTATAATGTAGCCAACA

GGGCCACAGACATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACA
GACTTCACTCTCACCATCAGCGGCCTAGAGCCT

GAAGATTTTGCAGTTTATTTCTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA
CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAA

ACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GT

(SEQ ID NO: 185)

Полипептид легкой цепи

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYNV
ANRATDIPARFSGSGSGTDFTLTISGLEP

EDFAVYFCQQRSNWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

(SEQ ID NO: 186)

H4H14706P2*ДНК тяжелой цепи*

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTGGATT

CACSTTTGATGATTATGCCATACTGGGTCCGGCAATCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGTTATCAGTTGGA

ATAGTGATGTCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT

CTGCAGATGAATAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGT
GCAAAAGGATATAACTGGA ACTTCTTTGACTA

TTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGG
CCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCA

GGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT
ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAC

TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT

GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGT
AGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA

AGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCCAGCAC
CTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTG

TTCCCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG
GTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA

AGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA
TAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT

TCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG
ACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG

GTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA
GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTA

CACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT
GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCG

ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTAC
AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC

TCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
GAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA

TGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTG
GGTAAATGA

(SEQ ID NO: 187)

Полипептид тяжелой цепи

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAIHWVRQSPGKGLEWVS
VISWNSDVIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLY

LQMNSLRAEDTALYYCAKGYNWNFFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPL
APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN

SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL

FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK

VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG

SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 188)

ДНК легкой цепи

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTATCTCCAGGGGAAA
GAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCA

GAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGC
TCCCAGGCTCCTCATCTATAATGCAGCAAACA

GGGCCACTGACATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG
ACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCT

GAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA
CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAA

ACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GT

(SEQ ID NO: 189)

Полипептид легкой цепи

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYNA
ANRATDIPARFSGSGSGTDFLTISLLEP

EDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

(SEQ ID NO: 190)

H4H14708P2*ДНК тяжелой цепи*

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACSTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAATGGGTCTCAGTTATTAGTTGGA

ATAGTGATGTCATAGCCTATTCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT

CTGCAAATGAACAGTCTGAGAACTGAGGACACGGCCTTATATTA CTGT
ACAAAAGGCCATAAGTGGAGCTTCTTTGACTA

TTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGG
CCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCA

GGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT
ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAC

TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT

GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGT
AGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA

AGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCCAGCAC
CTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTG

TTCCCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG
GTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA

AGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA
TAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT

TCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGG
ACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG

GTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAA
GCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTA

CACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCT
GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCG

ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTAC
AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC

TCCTTCTCCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG
GAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA

TGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTG
GGTAAATGA

(SEQ ID NO: 191)

Полипептид тяжелой цепи

EVQLVESGGDLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SVISWNSDVIAYSDSVKGRFTISRDNAKNSLY

LQMNSLRTEDTALYYCTKGHKWSFFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPL
APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN

SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTK
VDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL

FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK

VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG

SFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 192)

ДНК легкой цепи

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG
AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGGCCAGTCA

GAGTATTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGC
TCCCAGACTCCTCATCTTTAATGTAGCCAACA

GGGCCACTGACATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAG
ACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCT

GAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCTCA
CTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAA

ACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GT

(SEQ ID NO: 193)

Полипептид легкой цепи

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIFNVA
NRATDIPARFSGSGSGTDFLTISSELP

EDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

(SEQ ID NO: 194)

H4H14709P*ДНК тяжелой цепи*

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTTCAGCCTGGGGG
GTCCCTGAGACTCTCCTGCGCAGCCTCTGGATT

CACSTTTAGCGACTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCGGGGAA
GGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGGA

ATGGTGGTGACACATACTACGGAGACTTCGTGAAGGGCCGGTTCACCA
TCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT

CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGGGCGAGGACACGGCCGCATATTTCTGT
GTGATAGATCTTGACTATTGGGGTCAGGGAAC

CCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCC
CTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGA

GCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG
TGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACC

AGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT
CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG

CAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAG
CAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCA

AATATGGTCCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGG
GACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCC

AAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTG
GTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCA

GTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA
GCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACC

GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCA
AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGC

CTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC
CGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATC

CCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA
AAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT

GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCC
GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTAC

AGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTT
CTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA

CCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

(SEQ ID NO: 195)

Полипептид тяжелой цепи

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMSWVRQAPGKGLEWVS
GISGNNGDYYGDFVKGRFTISRDN SKNTLY

LQMNSLRGEDTAA YFCVIDLDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS
TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT

SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKR
VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKP

KDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKG

LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY

SRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 196)

ДНК легкой цепи

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGAAGGA
GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCA

GAGTATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGAAAAGC
CCCTAGGCTCCTGATCTATAAGGCGTCTATTT

TAGGAGATGGGGTCCCATCAAGGTTACAGCGGCAGTGGATCTGGGACA
GAATTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT

GATGATTTTGCTACTTATTACTGCCACCAGTATAATAGTTATTTGTGGA
CGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAA

ACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GT

(SEQ ID NO: 197)

Полипептид легкой цепи

DIQMTQSPSTLSASEGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPRLLIYKA
SILGDGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP

DDFATYYCHQYNSYLWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA
SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEN

(SEQ ID NO: 198)

H4H14728P

ДНК тяжелой цепи

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACA
GACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGG

CTCCATCAGCAGTGCTGATTAATAATTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCC
AGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGATCCATCT

ATTATACTGGGAGTACTTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGACTTA
CCATATCAATAGACACGTCTGAGAACCAGTTC

TCTTTGAAACTGACCTCTCTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACT
GTGCGAGCGAGGAGGCTAACTGGGGATCCCA

CTTTGACTCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCC
ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGC

CCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGG
TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG

TCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT
GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG

CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACAC
CTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCA

AGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCT
GCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCA

GTCTTCCTGTTCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGA
CCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGT

GAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGT
GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG

AGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCC
TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC

AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACC
ATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCC

ACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACC
AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT

ACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG
AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC

TCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTC

CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTC
CCTGTCTCTGGGTAAATGA

(SEQ ID NO: 199)

Полипептид тяжелой цепи

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSADYYWSWIRQHPGKGLEWI
GSIYYTGSTYYNPSLKSRLTISIDTSENQF

SLKLTSLTAADTAVYYCASEEANWGS HFDSWGQGLVTVSSASTKGPSV
FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV

SWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS
NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS

VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY

KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD

SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 200)

ДНК легкой цепи

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTGACAACTTTTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCATCTTACTACTGTCAACATAGTCACAGTGCCCATCCGA
TCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT

TAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT
GAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTG

TGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGA
AGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC

CAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCT
CAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTA

CGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGA
GCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG

AGTGT

(SEQ ID NO: 201)

Полипептид легкой цепи

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIDNFLNWFYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP

EDFASYCQHSASHPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS

QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

(SEQ ID NO: 202)

H4H14731P

ДНК тяжелой цепи

CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGA
GACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGG

CTCCATCAGCAGTAGTAATTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCC
AGGGAAGAGACTGGAGTGGATTGGGAGTATCT

ATTATAGTGGGAGCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGACTCGAGTCA
CCATATCCGTAGACACGTCCAAGAATCAGTTC

TCCCTGAAGCTGACCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTAC
TGTGCGAGAGAGGAAGCAGCAGCTTTGACGCA

CTTTGACTTCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCC
ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGC

CCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGG
TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG

TCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT
GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG

CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACAC
CTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCA

AGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCT
GCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCA

GTCTTCCTGTTCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGA
CCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGT

GAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGT
GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG

AGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCC
TGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTAC

AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAAACC
ATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCC

ACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACC
AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT

ACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAG
AACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC

TCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTC

CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTC
CCTGTCTCTGGGTAAATGA

(SEQ ID NO: 203)

Полипептид тяжелой цепи

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSNYYWGWIRQPPGKRLEWIG
SIYYSGSTYYNPSLKTRVTISVDTSKNQF

SLKLTSVTAADTAVYYCAREEAAALTHFDWQGTLLTVSSASTKGPSVF
PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV

SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS
NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS

VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY

KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD

SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

(SEQ ID NO: 204)

ДНК легкой цепи

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAGCTCCTGATCTTTGCTGCATCCAGTT

TACAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACATAGTCACAGTTCATCCGA
TCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT

TAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGAT
GAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTG

TGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGGA
AGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCC

CAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCT
CAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTA

CGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGA
GCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG

AGTGT

(SEQ ID NO: 205)

Полипептид легкой цепи

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSSISNYLNWYQQKPGKAPKLLIFAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP

EDFATYYCQHSHPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS

QESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

(SEQ ID NO: 206)

H4H14732P2

ДНК тяжелой цепи

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACSTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAATTGGG

CTGGTTATAACATAGACTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT

CTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGT
GCAAAAGATATGCGTGGATTCAGTTATGGTTT

CCCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGC
CTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGG

CGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCC
TGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG

GTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG
GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCT

CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTA
CACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACA

CCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCAC
CCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGACCA

TCAGTCTTCCTGTTCCCCCAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCC
GGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGGA

CGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGG
CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC

GGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAG

TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAA
ACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA

GCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGA
ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT

TCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG
GAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG

GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAG
AGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATG

CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCT
CTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

(SEQ ID NO: 207)

Полипептид тяжелой цепи

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SGINWAGYNIDYADSVKGRFTISRDNANKNSLY

LQMNSLRAEDTALYYCAKDMRGFSYGFPPFDYWGQGLVTVSSASTKGPS
VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT

VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTKYTCNVDHK
PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGP

SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE

YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL

DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 208)

ДНК легкой цепи

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCGTCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCCG
ATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT

TAAAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GTTAG

(SEQ ID NO: 209)

Полипептид легкой цепи

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP

EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTRLEIKTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEN

(SEQ ID NO: 210)

H4H14734P2

ДНК тяжелой цепи

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAAAGCCGGGGGG
GTCCCTTAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

TATTTTCAGTAACGCCTGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAA
GGGACTGGCGTGGGTTGGCCGTATTAACCG

AAACTGATGGTGGGACAACAGACTACGCTGCACCCGTAAAAGGCAGA
TTCACCATCTCAAGAGATGACTCAAAAAACACG

CTGTATCTGCAAATGAACAGCGTGAAAACCGAGGACACAGCCGTGTAT
TACTGTACAGGGGGATACAGCTATGGTGACGA

TAGCAGCAGCTGGAACGAGGGCTACTACTACTACGGTATGGACGTCTG
GGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG

CCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGA
GCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGC

CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTTCGTGGAACCTCA
GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC

GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC
CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCT

ACACCTGCAACGTAGATCACAAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG
AGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCA

CCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTC
CCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTC

CCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAG
ACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATG

GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTC
AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACC

GTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGT
CTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAA

AACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACA
CCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGA

ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACA
TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG

GAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCC
TTCTTCCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAA

GAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA
GGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCC

TCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

(SEQ ID NO: 211)

Полипептид тяжелой цепи

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFIFSNAMNWVRQAPGKGLAWV
GRIKTETDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNT

LYLQMNSVKTEDTAVYYCTGGYSYGDDSSSWNEGYYYYGMDVWGQGT
TVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC

LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT
KTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCP

PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT

VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHY
TQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 212)

ДНК легкой цепи

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCGTCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCCG
ATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT

TAAAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GTTAG

(SEQ ID NO: 213)

Полипептид легкой цепи

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTISSLQP

EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTRLEIKTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

(SEQ ID NO: 214)

H4H14757P*ДНК тяжелой цепи*

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTGGATT
CACSTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTCGTTGGA
ATGGTGGTAGTATAGGCTATGTGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGTCCCTGCAT
CTGCAAATGAACAGTCTAAAACTGAGGACACGGCCTTGTATTA CTGT
GCAAAAGATATAGGCGATATTTTGACTGGTTT
TTATGGAGAATACGGAATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG
TCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCG
CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC
GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTG
CACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGG
ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGG
CACGAAGACCTACACCTGCAACG TAGATCACA
AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGT
CCCCATGCCACCCCTGCCCAGCACCTGAGTTC
CTGGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTC CCCCCAAAACCCAAGGACT
CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTG
CGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTG
GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA
AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTC
AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG

AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTC
CTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG

GCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGA
GATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC

TGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA
ATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG

CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTCA
CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAA

TGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACA
CAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAT

GA

(SEQ ID NO: 215)

Полипептид тяжелой цепи

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SGIRWNGGSIGYVDSVKGRFTISRDNAKKSLH

LQMNSLKTEDTALYYCAKDIGDILTFYGEYGMVWVGQTTVTVSSAST
KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP

EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEF

LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL

NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
LGK

(SEQ ID NO: 216)

ДНК легкой цепи

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGAAGGA
GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAGCAGGGAAAG
CCCCTAACCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
AGTACACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACATTATCCCGTACA
CTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA

ACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GT

(SEQ ID NO: 217)

Полипептид легкой цепи

DIQMTQSPSSLSASEGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKAGKAPNLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQP

EDFATYYCQQSYIIPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDYSLSTLTLTKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

(SEQ ID NO: 218)

H4H14758P

ДНК тяжелой цепи

GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGGTTGGTACAGCCTGGCAG
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAA
GGGCCTGGAGTGGGTCTCAAGTGTTAGGTGGA

ATGGTGGTATTATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCA
TCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTAT

CTGCAAATGAACAGTCTGAGACCTGAGGACACGGCCCTCTATTACTGT
GCAAAAGATATAGGCGATGTTTTGACTGGTTA

TTATGGAGAATACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAC
CGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG

TCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCG
CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC

GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTG
CACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGG

ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGG
CACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACA

AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGT
CCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTC

CTGGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACT
CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTG

CGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTG
GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA

AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTC
AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG

AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTC
CTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG

GCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGA
GATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC

TGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA
ATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG

CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTCA
CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAA

TGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACA
CAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAT

GA

(SEQ ID NO: 219)

Полипептид тяжелой цепи

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWV
SSVRWNGGIIGYADSVKGRFTISRDNKNSLY

LQMNSLRPEDTALYYCAKDIGDVLTYGYYGEYGMVWVGQTTVTVSSAS
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP

EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEF

LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL

NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

PPVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
LGK

(SEQ ID NO: 220)

ДНК легкой цепи

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAG
ACAGAGTCACCATCGCTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTACCACCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAACTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGTAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACATTTCCCCGTACA
CTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA

ACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GT

(SEQ ID NO: 221)

Полипептид легкой цепи

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIACRASQSITTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP

EDFATYYCQQS YISPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

(SEQ ID NO: 222)

H4H14760P2

ДНК тяжелой цепи

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAA
GTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT

CACCTTCAGTAATTATGGCATACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAA
GGGGCTGGAGTGGGTGGCGATTATATTATATG

ATGGAAGTAATCAACACTATGCAGATTCCGTGAAGGGCCGATTCACCA
TTTCCAGAGACAATTCCAAAAACACGCTGTAT

CTTCAAATGAACAACCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTTTATTACTGT
GCGAGAGATCTTGATCTTTGGAGTGGTTATTA

TACAAACGGGGACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCA
CCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCGG

TCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCG
CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC

GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTG
CACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGG

ACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGG
CACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACA

AGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGT
CCCCCATGCCACCCTGCCAGCACCTGAGTTC
CTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCAAACCCAAGGACACT
CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTG
CGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTG
GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCA
AGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTC
AGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG
AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTC
CTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG
GCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGA
GATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC
TGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA
ATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACG
CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTCA
CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAA
TGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACA
CAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAAT
GA

(SEQ ID NO: 223)

Полипептид тяжелой цепи

QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSNYGIHWVRQAPGKGLEWVA
IILYDGSNQHYADSVKGRFTISRDN SKNTLY
LQMNNLRAEDTAVYYCARDLDLWSGYTNGDGMDVWGQTTVTVSSA
STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP

EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV
DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEF

LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL

NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT

PPVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
LGK

(SEQ ID NO: 224)

ДНК легкой цепи

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA

GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGC
CCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT

TGCAAAGTGGGGTCCCGTCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT

GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCCG
ATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT

TAAAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG
CAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGT

GCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGG
TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG

GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAG
CAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA

GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGT

GTTAG

(SEQ ID NO: 225)

Полипептид легкой цепи

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAA
SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP

EDFATYYCQQSYSTPPITFGQGTRLEIKTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPRKAKVQWKVDNALQSGNSQ

ESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
RGEC

(SEQ ID NO: 226)

[00137] **Пример 2: Биоанализ с клетками HEK293/D9(NFκB-люцифераза)/hIL-36R и HEK293/NFκB-люцифераза/mfIL-36R.**

[00138] Рецептор IL-36 (IL-36R) представляет собой пронизывающий мембрану один раз рецептор подмножества представителей цитокинов семейства IL-1, IL-36α, IL-36β и IL-36γ, и при связывании с этими лигандами происходит рекрутирование его корецептора, вспомогательного белка IL-1R (IL-1RAcP), который индуцирует каскад передачи сигнала, который включает сигнальные пути NFκB и митоген-активируемой киназы (Sims et al, 2010). Разрабатывали биоанализ для выявления активации транскрипции с помощью NFκB посредством активации IL-36R с применением репортерных линий клеток, которые стабильно экспрессируют либо полноразмерный человеческий IL-36R (hIL-36R; аминокислоты 1-575 под номером доступа NP_003845.2), либо IL-36R *Mascasa fascicularis* (MfIL-36R) вместе с репортерным элементом, содержащим ген люциферазы [NFκB-элемент ответа (5x)-люцифераза-IRES-GFP], в клетках HEK293. IL-1RAcP эндогенно экспрессируется в линии клеток HEK293. Полученные стабильные линии клеток, обозначенные как HEK293/NFκB-luc/hIL-36R и HEK293/NFκB-luc/MfIL-36R, выделяли и поддерживали в DMEM, содержащей 10% FBS, NEAA, пенициллин/стрептомицин/глутамин и 500 мкг/мл G418.

[00139] Для биоанализа клетки высевали в 96-луночные планшеты для анализа при 10000 клеток на лунку в OPTIMEM, дополненную с помощью 0,1% FBS, а затем инкубировали при 37°C в 5% CO₂ в течение ночи. На следующий день для определения ответа на дозу лигандов человеческий IL-36α (hIL-36α; R&D Systems, № 6995/IL), человеческий IL-36β (hIL-36β; R&D Systems, № 6334-IL) или человеческий IL-36γ (hIL-36γ; R&D Systems, № 6835-IL) серийно разбавляли в соотношении 1:3 (от 10 нМ до 0,0002 нМ) и добавляли к клеткам. К одному образцу клеток также добавляли контроль, содержащий буфер для разбавления, но без лиганда IL-36. Для измерения подавления антитела серийно разбавляли в соотношении 1: 3 (от 100 нМ до 0,002 нМ) плюс контрольный образец, не содержащий антитело, и предварительно инкубировали с клетками с последующим добавлением постоянных концентраций hIL-36α, hIL-36β или hIL-

36γ. Для тестирования с клетками HEK293/NFκB-luc/hIL-36R использовали 20 пМ hIL-36α, 15 пМ hIL-36β или 10 пМ hIL-36γ в качестве постоянной концентрации, а для тестирования с клетками HEK293/NFκB-luc/mfIL-36R использовали 500 пМ hIL-36α, 600 пМ hIL-36β или 300 пМ hIL-36γ в качестве постоянной концентрации. После 5,5 часов инкубации при 37°C в 5% CO₂ к образцам добавляли реагент OneGlo (Promega, № E6051) и затем измеряли активность люциферазы с применением устройства для считывания планшетов Victor X (Perkin Elmer).

[00140] Результаты анализировали с применением нелинейной регрессии (логистической с 4 параметрами) с помощью программного обеспечения Prism 6 (GraphPad) с получением значений EC₅₀ и IC₅₀. Для определения максимального подавления диапазон между максимальным и минимальным значениями RLU для каждого антитела рассчитывали как процент от диапазона RLU между отсутствием лиганда IL-36 и постоянным количеством лиганда IL-36, используемым для анализа.

[00141] Как показано в таблице 2-1, 9 из 12 тестируемых антител к IL-36R по настоящему изобретению полностью блокировали стимуляцию клеток HEK293/NFκB-luc/hIL-36R при 20 пМ hIL-36α со значениями IC₅₀, находящимися в диапазоне 100-970 пМ. Одно из тестируемых антител к IL-36R продемонстрировало частичную блокаду стимуляции с помощью hIL-36α клеток HEK293/NFκB-luc/hIL-36R с максимальным процентом блокады, составляющим 22%. Одно из тестируемых антител к IL-36R продемонстрировало слабую блокаду стимуляции с помощью hIL-36α клеток HEK293/NFκB-luc/hIL-36R с максимальным процентом блокады, составляющим 61%, тогда как другие из тестируемых антител к IL-36R не демонстрировали никакого подавления стимуляции с помощью hIL-36α. Шесть из 12 тестируемых антител к IL-36R по настоящему изобретению полностью блокировали стимуляцию клеток HEK293/NFκB-luc/hIL-36R с помощью 15 пМ hIL-36β со значениями IC₅₀, находящимися в диапазоне от 120 пМ до 1,3 нМ. Одно из тестируемых антител к IL-36R продемонстрировало слабую блокаду стимуляции с помощью hIL-36β клеток HEK293/NFκB-luc/hIL-36R с максимальным процентом блокады, составляющим 69%, и 5 тестируемых антител к IL-36R не демонстрировали

измеримого подавления стимуляции с помощью hIL-36 β . Шесть из 12 тестируемых антител к IL-36R по настоящему изобретению полностью блокировали стимуляцию клеток НЕК293/NFkB-luc/hIL-36R с помощью 10 пМ hIL-36 γ со значениями IC₅₀, находящимися в диапазоне от 120 пМ до 1,2 нМ. Четыре тестируемых антитела к IL-36R по настоящему изобретению демонстрировали частичную блокаду стимуляции с помощью hIL-36 γ с максимальным процентом блокады, находящимся в диапазоне 24-87%. Одно из тестируемых антител к IL36R продемонстрировало слабую блокаду стимуляции с помощью hIL-36 γ с максимальным процентом блокады, составляющим 69%, и одно антитело к IL36R по настоящему изобретению не демонстрировало подавления стимуляции с помощью hIL-36 γ . Тестируемое антитело изотипического контроля не демонстрировало подавления стимуляции лигандом IL-36 клеток НЕК293/NFkB-luc/hIL-36R. Как показано в таблице 2-1, hIL-36 α , hIL-36 β и hIL-36 γ активировали клетки НЕК293/NFkB-luc/hIL-36R со значениями EC₅₀, составляющими 12 пМ, 14 пМ и 8,4 пМ соответственно.

[00142] Как показано в таблице 2-2, шесть из 12 тестируемых антител к IL-36R по настоящему изобретению полностью или почти полностью блокировали стимуляцию клеток НЕК293/NFkB-luc/MfIL-36R с помощью 500 пМ hIL-36 α со значениями IC₅₀, находящимися в диапазоне от 60 пМ до 3,1 нМ. Два тестируемых антитела к IL-36R по настоящему изобретению демонстрировали слабую блокаду стимуляции с помощью hIL-36 α клеток НЕК293/NFkB-luc/MfIL-36R с максимальным процентом блокады, составляющим 29 и 47%, тогда как 4 антитела к IL-36R не демонстрировали подавления стимуляции с помощью hIL-36 α этой линии клеток. Шесть из 12 тестируемых антител к IL-36R по настоящему изобретению полностью или почти полностью блокировали стимуляцию клеток НЕК293/NFkB-luc/MfIL-36R с помощью 600 пМ hIL-36 β со значениями IC₅₀, находящимися в диапазоне от 120 пМ до 7,1 нМ. Три тестируемых антитела к IL-36R по настоящему изобретению демонстрировали слабую блокаду стимуляции с помощью hIL-36 β клеток НЕК293/NFkB-luc/MfIL-36R с максимальным процентом блокады, находящимся в диапазоне 36-48%, тогда как три антитела к IL-36R по настоящему изобретению не демонстрировали подавления стимуляции с помощью

hIL-36 β этой линии клеток. Шесть из тестируемых антител к IL-36R по настоящему изобретению полностью или почти полностью блокировали стимуляцию клеток HEK293/NF κ B-luc/MfIL-36R с помощью 300 пМ hIL-36 γ со значениями IC₅₀, находящимися в диапазоне от 85 пМ до 5,4 нМ. Три тестируемых антитела к IL-36R по настоящему изобретению демонстрировали слабую блокаду стимуляции с помощью hIL-36 γ клеток HEK293/NF κ B-luc/MfIL-36R с максимальным процентом блокады, находящимся в диапазоне 25-43 %, тогда как три антитела к IL-36R по настоящему изобретению не демонстрировали подавления стимуляции с помощью hIL-36 γ этой линии клеток. Тестируемое антитело изотипического контроля не демонстрировало подавления стимуляции лигандом IL-36 клеток HEK293/NF κ B-luc/MfIL-36R. Как показано в таблице 2-1, hIL-36 α , hIL-36 β и hIL-36 γ активировали клетки HEK293/NF κ B-luc/MfIL-36R со значениями EC₅₀, составляющими 170 пМ, 270 пМ и 62 пМ соответственно.

Таблица 2-1. Подавление антителом к IL36R стимуляции клеток HEK293/NF κ B-luc/hIL-36R с помощью лигандов hIL-36

Лиганд	hIL-36 α		hIL-36 β		hIL-36 γ	
EC ₅₀	1,2E-11 М		1,4E-11 М		8,4E-12 М	
Постоянная	20 пМ		15 пМ		10 пМ	
Антитела	IC ₅₀ [М]	Максимальное подавление (%)	IC ₅₀ [М]	Максимальное подавление (%)	IC ₅₀ [М]	Максимальное подавление (%)
H4H14699P 2	1,3E-10	100	1,3E-10	100	1,4E-10	99
H4H14700P 2	1,9E-10	101	2,0E-10	100	1,2E-10	100

H4H14706P 2	1,0E-10	101	1,2E-10	101	1,2E-10	99
H4H14708P 2	1,3E-10	101	2,0E-10	100	1,6E-10	99
H4H14709P	1,4E-10 (частичное)	22	Отсутствие подавления	Отсутствие подавления	1,3E-10 (частичное)	24
H4H14728P	9,7E-10	97	1,3E-09	99	1,2E-09	99
H4H14731P	7,8E-10	99	9,4E-10	99	7,3E-10	99
H4H14732P 2	>1,0E-08	61	>1,0E-08	69	>1,0E-08	69
H4H14734P 2	Отсутствие подавления	Отсутствие подавления	Отсутствие подавления	Отсутствие подавления	Отсутствие подавления	Отсутствие подавления
H4H14757P	1,8E-10	101	Отсутствие подавления	Отсутствие подавления	1,3E-10 (частичное)	87
H4H14758P	1,2E-10	100	Отсутствие подавления	Отсутствие подавления	1,6E-10 (частичное)	57
H4H14760P 2	4,9E-10	99	Отсутствие подавления	Отсутствие подавления	7,0E-10 (частичное)	49

Антитело	Отсутст		Отсутст		Отсутст	
изотипичес	вие	Отсутствие	вие	Отсутствие	вие	Отсутствие
кого	подавле	подавления	подавле	подавления	подавле	подавления
контроля	ния		ния		ния	

Таблица 2-2. Подавление антителом к IL36R стимуляции клеток НЕК293/NFκB-luc/MfIL-36R с помощью лигандов hIL-36

Лиганд	hIL-36α		hIL-36β		hIL-36γ	
EC ₅₀	1,7E-10 M		2,7E-10 M		6,2E-11 M	
Постоянна я	500 пМ		600 пМ		300 пМ	
Антитела	IC ₅₀ [M]	Максимал ьное подавлени е (%)	IC ₅₀ [M]	Максимал ьное подавлени е (%)	IC ₅₀ [M]	Максимал ьное подавлени е (%)
H4H14699P 2	8,4E-11	97	1,9E-10	98	2,0E-10	97
H4H14700P 2	1,2E-10	99	1,8E-10	99	1,8E-10	99
H4H14706P 2	6,0E-11	100	1,2E-10	100	8,5E-11	100
H4H14708P 2	8,9E-11	99	1,2E-10	100	1,2E-10	100
H4H14709P	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления
H4H14728P	1,3E-09	93	1,5E-09	95	2,0E-09	93
H4H14731P	3,1E-09	84	7,1E-09	78	5,4E-09	75
H4H14732P	>1,0E-	47	>1,0E-	43	>1,0E-	36

2	07		07		07	
H4N14734P 2	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления
H4N14757P	>1,0E- 07	29	>1,0E- 07	36	>1,0E- 07	25
H4N14758P	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления
H4N14760P 2	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления	>1,0E- 07	48	>1,0E- 07	43
Антитело изотипичес кого контроля	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления	Отсутст вие подавле ния	Отсутствие подавления

[00143] **Пример 3: Перекрестная конкуренция за связывание с IL-36R, определенная с помощью Octet**

[00144] Конкуренцию за связывание для панели различных антител к IL-36R определяли с применением анализа в реальном времени с применением биослойной интерферометрии без метки на биосенсоре Octet® HTX (ForteBio, подразделение Pall Life Sciences). Весь эксперимент проводили при 25°C в 0,01M HEPES, pH 7,4, 0,15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0,05% объем/объем поверхностно-активного вещества Tween-20, 0,002% NaN₃ и 1 мг/мл BSA (буфер для кинетического анализа HBS-ET) при встряхивании планшета при скорости, составляющей 1000 об./мин. Чтобы оценить, способны ли два антитела конкурировать друг с другом за связывание со своими соответствующими

эпитопами на внеклеточном домене рекомбинантного человеческого IL-36R, экспрессируемого с С-концевой мус-мус-гексагистидиновой меткой (hIL-36R-MMH: сигнальная последовательность mROR1 (M1-A29)-человеческий IL36R (D20-Y337)-мусмусHis₆), около 0,3 нМ hIL-36R-MMH сначала захватывали на покрытых антителом к His биосенсорах Octet (Fortebio Inc, № 18-5079) посредством погружения биосенсоров на 3 минуты в лунки, содержащие 30 мкг/мл hIL-36R-MMH. Затем биосенсоры с захваченным антигеном насыщали первым антителом к IL-36R (далее называемым mAb-1) посредством погружения в лунки, содержащие 50 мкг/мл раствора mAb-1, на 4 минуты. Затем биосенсоры погружали в лунки, содержащие раствор с концентрацией 50 мкг/мл второго антитела к IL-36R (далее называемого mAb-2), на 3 минуты. Биосенсоры промывали в буфере для кинетического анализа HBS-ET после каждой стадии эксперимента. Мониторинг ответа связывания осуществляли в течение всего эксперимента и регистрировали максимальный ответ связывания для всех стадий. Сравнивали ответ связывания mAb-2 с предварительно полученным комплексом hIL-36R-MMH и mAb-1 и определяли характер конкурентного/неконкурентного связывания различных антител к IL-36R, как показано в таблице 3-1.

Таблица 3-1. Перекрестная конкуренция антител к IL-36R за связывание с человеческим IL-36R-MMH

Первое антитело (mAb-1), связывающееся с захваченным hIL-36R-MMH	Второе антитело (mAb-2), как показано, конкурирует с mAb-1
H4H14699P2	H4H14700P2
	H4H14706P2
	H4H14708P2
	H4H14732P2

H4H14700P2	H4H14699P2
	H4H14706P2
	H4H14708P2
	H4H14732P2
H4H14706P2	H4H14699P2
	H4H14700P2
	H4H14708P2
	H4H14732P2
H4H14708P2	H4H14699P2
	H4H14700P2
	H4H14706P2
	H4H14732P2
H4H14732P2	H4H14699P2
	H4H14700P2
	H4H14706P2
	H4H14708P2
H4H14757P	H4H14758P
	H4H14760P2
H4H14758P	H4H14757P
	H4H14760P2
H4H14760P2	H4H14757P
	H4H14758P
H4H14728P	H4H14731P
H4H14731P	H4H14728P
H4H14709P	H4H14734P2
H4H14734P2	H4H14709P

[00145] **Пример 4: Кинетика связывания антитела**

[00146] Равновесные константы диссоциации (значения K_D) для IL-36R, связывающегося с очищенными антителами к IL-36R, определяли с применением

биосенсора поверхностного плазмонного резонанса в реальном времени с применением прибора Biacore 4000. Поверхность сенсора Biacore сначала дериватизировали посредством связывания амина с моноклональным мышинным антителом к человеческому Fc (GE, № BR-1008-39) для захвата моноклональных антител к IL-36R. Все исследования связывания выполняли в 0,01 М HEPES, pH 7,4, 0,15 М NaCl, 3 мМ EDTA и 0,05% объем/объем поверхностно-активного вещества Tween-20 (буфер для анализа HBS-ET) при 25°C и 37°C. Различные концентрации реагентов IL-36R, внеклеточного домена человеческого IL-36R, экспрессируемого с С-концевой мус-мус-гексагистидиновой меткой (hIL-36R-MMH), внеклеточного домена IL-36R *Macaca fascicularis*, экспрессируемого с С-концевой мус-мус-гексагистидиновой меткой (mfIL-36R-MMH: сигнальная последовательность mROR1 (M1-A29).IL36R *Macaca fascicularis*_эктодомен (D20-A336).мусмусHis6), внеклеточного домена человеческого IL-36R, экспрессируемого с С-концевой Fc-меткой мышинового IgG2a (hIL-36R-mFc: сигнальная последовательность mROR1 (M1-A29)-человеческий IL36R (D20-Y337)-мышинный IgG2aFc (E98-K330)), или соответствующего слитого белка, полученного посредством слияния внеклеточного домена человеческого IL-36R и внеклеточного домена IL1RacP, экспрессируемого с Fc-меткой мышинового IgG2a (hIL-36R-Trap-mFc: сигнальная последовательность mROR1 (M1-A29)-эктодомен человеческого IL36R (D20-Y337)-эктодомен человеческого IL1RacP (S21-E359)-мышинный IgG2aFc), в буфере для анализа HBS-ET (в диапазоне 100-3,7 нМ, 3-кратные разбавления) вводили на поверхность с захваченным антителом к IL-36R в течение 4 минут при скорости потока, составляющей 30мкл/минута и наблюдали их диссоциацию в буфере для анализа HBS-ET в течение 10 минут. Кинетическую константу скорости ассоциации (k_a) и константу скорости диссоциации (k_d) определяли посредством аппроксимации сенсограмм в реальном времени по модели связывания 1:1 с применением программного обеспечения для аппроксимации кривой Scrubber 2.0с. Равновесные константы диссоциации связывания (K_D) и полупериоды диссоциации ($t^{1/2}$) рассчитывали исходя из кинетических констант скорости:

$$K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}, \text{ и } t^{1/2} (\text{мин}) = \frac{\ln(2)}{60 * k_d}$$

[00147] Кинетические параметры связывания для связывания hIL-36R-ММН, mfIL-36R-ММН или hIL-36R.mFc с различными антителами к IL-36R по настоящему изобретению при 25°C и 37°C показаны в таблицах от 4-1 до 4-8. При 25°C hIL-36R-ММН связывался со всеми из антител к IL-36R по настоящему изобретению со значениями K_D , находящимися в диапазоне 2,18-13,9 нМ, как показано в таблице 4-1. При 37°C hIL-36R-ММН связывался со всеми из антител к IL-36R по настоящему изобретению со значениями K_D , находящимися в диапазоне 4,25-29,5 нМ, как показано в таблице 4-2. При 25°C mfIL-36R-ММН связывался с 9 из 12 антител к IL-36R по настоящему изобретению со значениями K_D , находящимися в диапазоне 7,87-34,4 нМ, как показано в таблице 4-3. При 37°C mfIL-36R-ММН связывался с 9 из 12 антител к IL-36R по настоящему изобретению со значениями K_D , находящимися в диапазоне 14,4-58,2 нМ, как показано в таблице 4-4. При 25°C hIL-36R-mFc связывался с 11 из 12 антител к IL-36R по настоящему изобретению со значениями K_D , находящимися в диапазоне от 173 пМ до 5,79 нМ, как показано в таблице 4-5. Одно антитело к IL-36R по настоящему изобретению демонстрировало недостаточное связывание с hIL-36R-mFc в экспериментальных условиях при 25°C. При 37°C hIL-36R-mFc связывался со всеми из антител к IL-36R по настоящему изобретению со значениями K_D , находящимися в диапазоне от 205 пМ до 28,7 нМ, как показано в таблице 4-6. При 25°C hIL-36R-Trap-mFc связывался со всеми из антител к IL-36R по настоящему изобретению со значениями K_D , находящимися в диапазоне от 212 пМ до 14 нМ, как показано в таблице 4-7. При 37°C hIL-36R-Trap-mFc связывался со всеми из антител к IL-36R по настоящему изобретению со значениями K_D , находящимися в диапазоне от 264 пМ до 40,9 нМ, как показано в таблице 4-8.

Таблица 4-1. Кинетические параметры связывания для связывания антител к IL-36R с hIL-36R-ММН при 25°C

Антитело	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ hIL-36R-ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин)
H4H14699P2	198 ± 0,6	74	1,65E+05	1,68E-03	1,02E-08	7
H4H14700P2	159 ± 0,3	67	1,20E+05	5,79E-04	4,82E-09	20
H4H14706P2	199 ± 0,5	89	1,21E+05	4,95E-04	4,08E-09	23
H4H14708P2	209 ± 0,9	76	9,14E+04	6,23E-04	6,82E-09	19
H4H14709P	156 ± 0,2	64	7,23E+04	2,96E-04	4,09E-09	39
H4H14728P	175 ± 0,6	69	9,83E+04	7,73E-04	7,87E-09	15
H4H14731P	204 ± 0,6	54	9,22E+04	3,43E-04	3,72E-09	34
H4H14732P2	197 ± 0,3	26	4,10E+04	5,69E-04	1,39E-08	20
H4H14734P2	174 ± 0,8	22	3,32E+04	4,04E-04	1,22E-08	29
H4H14757P	180 ± 0,9	94	1,82E+05	3,96E-04	2,18E-09	29
H4H14758P	177 ± 0,7	87	1,21E+05	9,23E-04	7,63E-09	13
H4H14760P2	180 ± 0,5	61	6,79E+04	4,15E-04	6,11E-09	28

Таблица 4-2. Кинетические параметры связывания для связывания антител к IL-36R с hIL-36R-ММН при 37°C

Антитело	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ hIL-36R-ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин)
H4H14699P2	257 ± 1,2	89	1,42E+05	4,18E-03	2,95E-08	2,8
H4H14700P2	218 ± 0,7	89	1,76E+05	1,84E-03	1,05E-08	6
H4H14706P2	266 ± 1	113	1,50E+05	1,30E-03	8,65E-09	9
H4H14708P2	280 ± 2,5	106	1,36E+05	1,86E-03	1,36E-08	6
H4H14709P	218 ± 0,9	106	1,31E+05	5,54E-04	4,25E-09	21

H4H14728P	242 ± 0,7	93	1,36E+05	2,93E-03	2,15E-08	4
H4H14731P	262 ± 0,7	81	1,37E+05	9,71E-04	7,11E-09	12
H4H14732P2	272 ± 0,8	34	4,21E+04	1,16E-03	2,76E-08	10
H4H14734P2	248 ± 0,8	25	5,39E+04	7,49E-04	1,39E-08	15
H4H14757P	262 ± 1,0	129	2,10E+05	1,09E-03	5,18E-09	11
H4H14758P	247 ± 1,2	111	1,58E+05	2,37E-03	1,50E-08	5
H4H14760P2	252 ± 0,8	83	9,06E+04	2,08E-03	2,30E-08	6

Таблица 4-3. Кинетические параметры связывания для связывания антител к IL-36R с mfIL-36R-ММН при 25°C

Антитело	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ mfIL-36R-ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин)
H4H14699P2	198 ± 0,4	53	6,38E+04	1,83E-03	2,87E-08	6
H4H14700P2	158 ± 0,3	48	6,02E+04	6,35E-04	1,06E-08	18
H4H14706P2	199 ± 0,4	65	6,72E+04	5,52E-04	8,21E-09	21
H4H14708P2	209 ± 0,9	51	4,50E+04	5,79E-04	1,29E-08	20
H4H14709P	156 ± 0,3	34	2,80E+04	4,01E-04	1,43E-08	29
H4H14728P	175 ± 0,6	51	5,15E+04	4,06E-04	7,87E-09	28
H4H14731P	203 ± 0,4	33	5,98E+04	9,51E-04	1,59E-08	12
H4H14732P2	197 ± 0,4	12	1,88E+04	6,49E-04	3,44E-08	18
H4H14734P2	175 ± 0,6	12	2,60E+04	2,54E-04	9,78E-09	46
H4H14757P	183 ± 0,7	1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H14758P	179 ± 0,6	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H14760P2	181 ± 0,4	0	NB*	NB*	NB*	NB*

*NB указывает на то, что в экспериментальных условиях реагент mfIL-36R-ММН не связывался с захваченным антителом к IL-36R

Таблица 4-4. Кинетические параметры связывания для связывания антител к IL-36R с mfIL-36R-ММН при 37°C.

Антитело	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ mfIL-36R-ММН (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин)
H4H14699P2	257 ± 0,4	59	7,80E+04	4,54E-03	5,82E-08	2,5
H4H14700P2	218 ± 0,7	67	7,14E+04	1,98E-03	2,78E-08	6
H4H14706P2	266 ± 0,4	84	7,47E+04	1,42E-03	1,90E-08	8
H4H14708P2	279 ± 2,8	75	5,96E+04	1,81E-03	3,04E-08	6
H4H14709P	220 ± 1,4	66	4,91E+04	8,71E-04	1,77E-08	13
H4H14728P	243 ± 0,7	77	6,48E+04	1,34E-03	2,07E-08	9
H4H14731P	261 ± 0,3	41	6,68E+04	3,22E-03	4,82E-08	4
H4H14732P2	273 ± 0,8	17	3,19E+04	1,64E-03	5,15E-08	7
H4H14734P2	248 ± 0,6	12	3,61E+04	5,21E-04	1,44E-08	22
H4H14757P	264 ± 1,5	4	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H14758P	248 ± 0,9	-1	NB*	NB*	NB*	NB*
H4H14760P2	253 ± 0,9	2	NB*	NB*	NB*	NB*

*NB указывает на то, что в экспериментальных условиях реагент mfIL-36R-ММН не связывался с захваченным антителом к IL-36R

Таблица 4-5. Кинетические параметры связывания для связывания антител к IL-36R с hIL-36R-mFc при 25°C

Антитело	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ hIL-36R-mFc (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин)
H4H14699P2	197 ± 0,8	150	5,64E+05	2,03E-04	3,59E-10	57
H4H14700P2	158 ± 0,3	128	5,17E+05	1,20E-04	2,33E-10	96

H4H14706P2	197 ± 1,7	163	5,75E+05	1,32E-04	2,30E-10	87
H4H14708P2	207 ± 2,3	146	4,03E+05	1,28E-04	3,17E-10	90
H4H14709P	155 ± 0,7	142	2,57E+05	8,62E-05	3,35E-10	134
H4H14728P	174 ± 0,5	7	IC*	IC*	IC*	IC*
H4H14731P	204 ± 0,3	10	5,58E+04	3,23E-04	5,79E-09	36
H4H14732P2	197 ± 0,6	145	5,70E+05	7,97E-04	1,40E-09	14
H4H14734P2	174 ± 0,5	77	6,22E+04	1,01E-04	1,63E-09	114
H4H14757P	182 ± 1,4	167	5,75E+05	9,97E-05	1,73E-10	116
H4H14758P	179 ± 0,8	161	5,26E+05	1,63E-04	3,09E-10	71
H4H14760P2	181 ± 0,8	121	2,07E+05	1,09E-04	5,26E-10	106

*IC указывает на то, что в экспериментальных условиях связывание hIL-36R.mFc является недостаточным

Таблица 4-6. Кинетические параметры связывания для связывания антител к IL-36R с hIL-36R-mFc при 37°C.

Антитело	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ hIL-36R-mFc (RU)	k_a (1/Mc)	k_d (1/c)	K_D (M)	$t_{1/2}$ (мин)
H4H14699P2	258 ± 0,7	186	5,94E+05	4,56E-04	7,67E-10	25
H4H14700P2	218 ± 0,5	174	5,35E+05	2,09E-04	3,90E-10	55
H4H14706P2	266 ± 0,6	207	5,93E+05	2,66E-04	4,49E-10	43
H4H14708P2	280 ± 2,5	203	4,60E+05	2,00E-04	4,35E-10	58
H4H14709P	218 ± 1,2	211	5,43E+05	1,12E-04	2,05E-10	104
H4H14728P	243 ± 1,0	11	1,62E+04	4,65E-04	2,87E-08	25
H4H14731P	261 ± 0,5	12	6,99E+04	4,50E-04	6,43E-09	26
H4H14732P2	273 ± 1,2	195	6,35E+05	1,27E-03	2,00E-09	9
H4H14734P2	247 ± 1,0	96	5,27E+04	1,22E-04	2,31E-09	95
H4H14757P	264 ± 2,0	235	6,16E+05	1,50E-04	2,43E-10	77

H4H14758P	248 ± 0,7	210	5,54E+05	2,86E-04	5,17E-10	40
H4H14760P2	254 ± 0,9	173	2,17E+05	2,22E-04	1,02E-09	52

Таблица 4-7. Кинетические параметры связывания для связывания антител к IL-36R с hIL-36R-Trap-mFc при 25°C

Антитело	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ hIL-36R-Trap-mFc (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин)
H4H14699P2	196 ± 0,7	188	4,98E+05	2,28E-04	4,58E-10	51
H4H14700P2	156 ± 0,7	157	4,42E+05	1,25E-04	2,83E-10	92
H4H14706P2	195 ± 0,6	205	4,77E+05	1,10E-04	2,32E-10	105
H4H14708P2	205 ± 2,1	172	3,61E+05	1,29E-04	3,57E-10	90
H4H14709P	155 ± 0,4	173	2,00E+05	8,07E-05	4,04E-10	143
H4H14728P	175 ± 0,5	63	4,03E+04	5,65E-04	1,40E-08	20
H4H14731P	203 ± 0,5	60	4,52E+04	2,01E-04	4,45E-09	57
H4H14732P2	197 ± 0,4	161	4,62E+05	1,36E-03	2,95E-09	8
H4H14734P2	174 ± 0,5	85	4,89E+04	1,10E-04	2,24E-09	105
H4H14757P	181 ± 0,5	202	4,85E+05	1,03E-04	2,12E-10	113
H4H14758P	179 ± 0,6	197	4,36E+05	1,80E-04	4,13E-10	64
H4H14760P2	181 ± 1,0	134	1,58E+05	1,00E-04	6,36E-10	115

Таблица 4-8. Кинетические параметры связывания для связывания антител к IL-36R с hIL-36R-Trap-mFc при 37°C.

Антитело	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ hIL-36R-Trap-mFc (RU)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	$t_{1/2}$ (мин)
----------	--------------------------	--------------------------------------	--------------	-------------	-----------	-----------------

H4H14699P2	256 ± 0,8	229	4,84E+05	5,13E-04	1,06E-09	23
H4H14700P2	217 ± 0,5	216	4,55E+05	2,53E-04	5,55E-10	46
H4H14706P2	266 ± 0,8	264	4,91E+05	2,71E-04	5,51E-10	43
H4H14708P2	280 ± 1	239	3,85E+05	2,53E-04	6,56E-10	46
H4H14709P	218 ± 1,3	257	4,67E+05	1,23E-04	2,64E-10	94
H4H14728P	243 ± 0,5	89	4,85E+04	1,98E-03	4,09E-08	6
H4H14731P	261 ± 0,4	78	5,26E+04	5,14E-04	9,77E-09	22
H4H14732P2	272 ± 0,7	212	5,01E+05	1,82E-03	3,63E-09	6
H4H14734P2	248 ± 0,5	99	4,84E+04	1,43E-04	2,96E-09	81
H4H14757P	263 ± 1,2	281	5,23E+05	1,96E-04	3,74E-10	59
H4H14758P	248 ± 0,6	251	4,68E+05	3,63E-04	7,77E-10	32
H4H14760P2	254 ± 1,1	195	1,66E+05	2,83E-04	1,70E-09	41

[00148] Выполняли дополнительные эксперименты по связыванию для определения влияния pH на скорость диссоциации IL-36R, связанного с очищенными антителами к IL-36R, что определяли с применением биосенсора поверхностного плазмонного резонанса в реальном времени с применением прибора Biacore T200. Поверхность сенсора Biacore сначала дериватизировали посредством связывания амина с моноклональным мышинным антителом к человеческому Fc (GE, № BR-1008-39) для захвата антител к IL-36R. Эти исследования связывания Biacore выполняли с применением двух буферов для анализа, PBS-T, pH 7,4 (8,1 мМ Na₂HPO₄, 1,9 мМ NaH₂PO₄, 3 мМ KCl, 137 мМ NaCl, 0,05% объем/объем Tween-20, доводили до pH 7,4) и PBS-T, pH 6,0 (6,6 мМ Na₂HPO₄, 3,4 мМ NaH₂PO₄, 3 мМ KCl, 137 мМ NaCl, 0,05% объем/объем Tween-20, доводили до pH 6,0). Различные концентрации hIL-36R-ММН и mIL-36R-ММН, полученные в буфере PBS-T, pH 7,4 (в диапазоне 100-11,11 нМ, 3-кратные разбавления), вводили на поверхность с захваченным антителом к IL-36R в течение 4 минут при скорости потока, составляющей 50 мкл/минута, и их диссоциацию в двух буферах для анализа, PBS-T, pH 7,4, и PBS-T, pH 6,0, наблюдали в течение 10 минут. Все эти эксперименты по кинетике связывания выполняли при 25°C и 37°C. Кинетическую константу диссоциации (k_d)

определяли посредством аппроксимации сенсограмм в реальном времени по модели связывания 1:1 с применением программного обеспечения для аппроксимации кривой Scrubber 2.0с. Полупериоды диссоциации связывания ($t_{1/2}$) рассчитывали по k_d следующим образом:

$$t_{1/2} \text{ (мин)} = \frac{\ln(2)}{60 * k_d}$$

[00149] Константы скорости диссоциации связывания для связывания hIL-36R-ММН или mfIL-36R-ММН с различными антителами к IL-36R при 25°C и 37°C в двух буферах для анализа, PBS-T, pH7,4, и PBS-T, pH 6,0, показаны в таблицах от 4-9 до 4-12.

Таблица 4-9. Константа скорости диссоциации связывания для связывания моноклональных антител к IL-36R с hIL-36R-ММН в двух буферах для анализа, выполненного при 25°C

PID mAb	Буфер для анализа PBS-T, pH 7,4				Буфер для анализа PBS-T, pH 6,0			
	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ человеческого IL-36R-ММН (RU)	k_d (1/с)	$t_{1/2}$ (мин)	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ человеческого IL-36R-ММН (RU)	k_d (1/с)	$t_{1/2}$ (мин)
H4H1469 9P2	255 ± 2,7	84	1,93E -03	6	278 ± 0,6	79	2,93 E-03	4
H4H1470 0P2	330 ± 0,9	128	7,95E -04	15	350 ± 0,9	120	1,72 E-03	7
H4H1470 6P2	298 ± 0,9	119	6,16E -04	19	312 ± 2,2	109	9,27 E-04	12

H4H1470 8P2	268 ± 2,8	87	7,96E -04	15	283 ± 2,5	79	1,63 E-03	7
H4H1470 9P	283 ± 0,8	111	4,20E -04	28	300 ± 1,8	99	8,42 E-04	14
H4H1472 8P	265 ± 1,7	103	8,98E -04	13	269 ± 2	96	8,87 E-04	13
H4H1473 1P	282 ± 1,9	65	5,53E -04	21	281 ± 0,9	43	6,79 E-04	17
H4H1473 2P2	244 ± 1,5	32	8,65E -04	13	255 ± 1,3	28	9,18 E-04	13
H4H1473 4P2	230 ± 1,3	20	7,38E -04	16	240 ± 1,8	18	7,87 E-04	15
H4H1475 7P	226 ± 0,6	105	5,97E -04	19	235 ± 1,5	98	8,87 E-04	13
H4H1475 8P	244 ± 2,5	108	1,12E -03	10	255 ± 1,6	103	1,80 E-03	6
H4H1476 0P2	257 ± 1,5	80	5,45E -04	21	266 ± 1,3	69	9,72 E-04	12

Таблица 4-10. Константа скорости диссоциации связывания для связывания моноклональных антител к IL-36R с hIL-36R-ММН в двух буферах для анализа, выполненного при 37°C.

	Буфер для анализа PBS-T, pH 7,4				Буфер для анализа PBS-T, pH 6,0			
PID mAb	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ hIL-36R-	k_d (1/с)	$t_{1/2}$ (мин)	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ hIL-36R-	k_d (1/с)	$t_{1/2}$ (мин)

		MM H (RU)				MM H (RU)		
H4H14699P 2	312 ± 2,9	96	4,15E- 03	3	300 ± 14,2	83	5,81E- 03	2
H4H14700P 2	422 ± 5,7	153	1,69E- 03	7	435 ± 1,5	144	3,50E- 03	3
H4H14706P 2	367 ± 3,5	140	1,31E- 03	9	378 ± 2	132	2,33E- 03	5
H4H14708P 2	313 ± 6,8	105	1,77E- 03	7	318 ± 4,6	95	3,37E- 03	3
H4H14709P	372 ± 3	159	7,04E- 04	16	380 ± 2,9	146	1,72E- 03	7
H4H14728P	306 ± 1	121	2,96E- 03	4	302 ± 1,3	114	3,06E- 03	4
H4H14731P	272 ± 3,9	91	1,08E- 03	11	276 ± 1,6	84	2,01E- 03	6
H4H14732P 2	303 ± 3	40	1,10E- 03	10	310 ± 2	36	1,23E- 03	9
H4H14734P 2	287 ± 1,4	20	1,21E- 03	10	289 ± 1,8	17	1,69E- 03	7
H4H14757P	254 ± 0,7	113	1,29E- 03	9	267 ± 1	109	2,60E- 03	4
H4H14758P	308 ± 1,2	126	2,26E- 03	5	314 ± 0,5	120	3,39E- 03	3
H4H14760P 2	311 ± 1,4	94	1,87E- 03	6	317 ± 2,1	85	3,90E- 03	3

Таблица 4-11. Константа скорости диссоциации связывания для связывания моноклональных антител к IL-36R с mfIL-36R-ММН в двух буферах для анализа, выполненного при 25°C.

PID mAb	Буфер для анализа PBS-T, pH 7,4				Буфер для анализа PBS-T, pH 6,0			
	Уровень захвата mAb (RU)	Связано на 100 нМ mfIL-36R-ММН (RU)	k_d (1/с)	$t_{1/2}$ (мин)	Уровень захвата mAb (RU)	Связано на 100 нМ mfIL-36R-ММН (RU)	k_d (1/с)	$t_{1/2}$ (мин)
H4H14699P2	258 ± 1,5	55	2,04E-03	6	276 ± 0,7	48	3,22E-03	4
H4H14700P2	331 ± 1,8	91	8,21E-04	14	350 ± 1,7	80	1,71E-03	7
H4H14706P2	295 ± 1,7	80	6,46E-04	18	312 ± 1,5	71	9,65E-04	12
H4H14708P2	270 ± 2	57	7,52E-04	15	281 ± 1,2	47	1,50E-03	8
H4H14709P	282 ± 1,3	57	5,19E-04	22	301 ± 0,7	48	1,12E-03	10
H4H14728P	264 ± 2	74	5,44E-04	21	269 ± 1,2	68	6,16E-04	19
H4H14731P	279 ± 2,2	36	1,37E-03	8	279 ± 1,9	23	1,52E-03	8
H4H14732P	245 ±	14	7,87E-	15	253 ±	12	1,15E-	10

2	0,9		04		0,9		03	
H4H14734P	229 ±	9	5,05E-	23	238 ±	8	6,31E-	18
2	2,2		04		1,2		04	
H4H14757P	224 ±	1	NB*	NB*	235 ±	1	NB*	NB*
	1,8				0,9			
H4H14758P	243 ±	0	NB*	NB*	254 ± 1	1	NB*	NB*
	0,5							
H4H14760P	257 ±	1	NB*	NB*	266 ±	1	NB*	NB*
2	1,9				1,2			

*NB указывает на то, что в данных экспериментальных условиях не наблюдали связывания mIL-36R-ММН с mAb к IL-36R, захваченным с помощью антитела к hFc.

Таблица 4-12. Константа скорости диссоциации связывания для связывания моноклональных антител к IL-36R с mIL-36R-ММН в двух буферах для анализа, выполненного при 37°C.

PID mAb	Буфер для анализа PBS-Т, pH 7,4				Буфер для анализа PBS-Т, pH 6,0			
	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ mIL-36R-ММН (RU)	kd (1/c)	t½ (мин)	Уровень захвата mAb (RU)	Связано 100 нМ mIL-36R-ММН (RU)	kd (1/c)	t½ (мин)
H4H14699P 2	310 ± 4,9	58	4,59E- 03	3	308 ± 1,9	50	6,22E- 03	2
H4H14700P 2	422 ± 1,1	108	1,80E- 03	6	434 ± 1,8	97	3,33E- 03	3
H4H14706P	366 ±	95	1,38E-	8	375 ±	85	2,64E-	4

2	1,3		03		1,6		03	
H4H14708P 2	302 ± 3,6	66	1,69E- 03	7	314 ± 2,2	58	3,10E- 03	4
H4H14709P	370 ± 2,3	92	9,87E- 04	12	379 ± 1	80	2,94E- 03	4
H4H14728P	305 ± 2,5	98	1,39E- 03	8	301 ± 1,2	91	1,91E- 03	6
H4H14731P	266 ± 4	43	3,61E- 03	3	279 ± 1,8	40	5,38E- 03	2
H4H14732P 2	302 ± 1,4	18	9,37E- 04	12	309 ± 1,7	16	1,57E- 03	7
H4H14734P 2	283 ± 0,8	9	7,87E- 04	15	287 ± 1,9	7	1,19E- 03	10
H4H14757P	255 ± 0,5	0	NB*	NB*	267 ± 1,9	-1	NB*	NB*
H4H14758P	306 ± 1	0	NB*	NB*	314 ± 2,5	1	NB*	NB*
H4H14760P 2	309 ± 1,6	1	NB*	NB*	315 ± 1,3	1	NB*	NB*

*NB указывает на то, что в данных экспериментальных условиях не наблюдали связывания mIL-36R-ММН с mAb к IL-36R, захваченным с помощью антитела к hFc

[00150] **Пример 5: Оценка антител к IL36R *in vivo*** на мышинных моделях IMQ-индуцированного воспаления кожи и хронического колита.

[00151] Моноклональные антитела к человеческому IL-36R по настоящему изобретению тестировали *in vivo* на мышах с гуманизированными IL-36R/hIL-36 α , β , γ с острым и хроническим имиквимод (IMQ)-индуцированным воспалением кожи и хроническим колитом, индуцированным натриевой солью сульфата декстрана (DSS). Выявление цитокина осуществляли в гомогенатах кожи и

толстой кишки с применением провоспалительной панели 1 (мышь) из набора для мультиплексного иммуноанализа. Выявление липокалина 2 (Lcn2) в фекальных гомогенатах осуществляли с применением набора Duoset для выявления мышинового липокалина-2/набора NGAL ELISA. Измерение активности миелопероксидазы (MPO) в гомогенатах толстой кишки осуществляли с применением набора для измерения активности мышиной MPO с помощью ELISA.

[00152] Антитела к IL36R, H4H14706P2 и H4H14708P2 использовали вместе с человеческим совпадающим по изотипу контрольным антителом IgG4.

[00153] Для изучения роли IL-36R в воспалении кожи и кишечника и для тестирования эффективности антагонизма hIL-36R *in vivo* моноклональные антитела к человеческому IL-36R по настоящему изобретению тестировали на мышинных моделях имиквимод (IMQ)-индуцированного воспаления кожи и DSS-индуцированного хронического колита. В обеих моделях использовали полученных гомозиготных мышей Velocigene, экспрессирующих человеческий IL-36R и человеческий IL-36 α , β , γ и эндогенный мышинный IL-36Ra (полученные мыши называются DITRA-подобными мышами из-за пониженной аффинности мышинового IL-36Ra к человеческому IL-36R, что напоминает мутацию, наблюдаемую у пациентов с DITRA (дефицитом антагониста рецептора интерлейкина тридцать шесть) (Marrakchi *et al.*, Interleukin-36-receptor antagonist deficiency and generalized pustular psoriasis, N Engl J Med 365:620-628 (2011)).

[00154] Получали гуманизированную линию мышей с генотипом $\text{Il1r1}^{\text{hu/hu}}$ $\text{Il1f6}^{\text{hu/hu}}$ $\text{Il1f8}^{\text{hu/hu}}$ $\text{Il1f9}^{\text{hu/hu}}$. В этой линии мышей человеческие *IL1F6*, *IL1F8* и *IL1F9* заменили эндогенные мышинные *IL1F6*, *IL1F8* и *IL1F9* (также называемые IL36 α , β и γ соответственно); а химерный IL1RL2 заменил эндогенный мышинный IL1RL2. Химерный IL1RL2 содержал внеклеточный домен человеческого IL1RL2 и мышинный внутриклеточный домен. В результате получили химерный рецептор, который поддерживал специфичность внутриклеточной передачи сигнала у мышей, делая внеклеточный домен человеческим и, таким образом, способным связываться с человеческими лигандами IL1F6, IL1F8 и IL1F9.

[00155] *Индукция острого и хронического IMQ-индуцированного воспаления кожи и обработка антителом у DITRA-подобных мышей.* Для

индукции воспаления кожи самкам гуманизированных DITRA-подобных мышей в возрасте 8-10 недель выбривали волосы на спине с применением триммера для мышиных волос (Oster, MiniMax, № по каталогу 78049-100) и депилировали кожу с применением 0,5 г геля для удаления волос Veet за три дня до нанесения крема на основе IMQ. Местную ежедневную дозу, составляющую 62,5 мг коммерчески доступного крема на основе IMQ (5%) (Aldara, GM Health Care Limited, NDC 99207-206-12) или вазелина (CVS Pharmacy), наносили на выбритую кожу спины мышей в течение четырех последовательных дней для индукции острого заболевания и девяти дней для индукции хронического заболевания. Ежедневную местную дозу, составляющую 62,5 мг Aldara, переводили в суточную дозу, составляющую 3,125 мг активного соединения. При остром IMQ-индуцированном воспалении кожи антитела к человеческим IL-36R H4H14706P2 и H4H14708P2 вводили подкожно в кожу спины при 10 мг/кг и 1 мг/кг за три дня до (день -3) и через один день после (день 1) начала применения IMQ. Контрольная группа получала инъекции PBS и 10 мг/кг изотипического контроля, представляющего собой hIgG4. При хроническом IMQ-индуцированном воспалении кожи антитела к человеческим IL-36R H4H14706P2 и H4H14708P2 вводили подкожно в кожу спины при 10 мг/кг терапевтически в день 4 и день 8. Через два или три дня после начала применения IMQ кожа спины мышей начала демонстрировать признаки эритемы, шелушения и утолщения. Тяжесть воспаления измеряли ежедневно с применением адаптированной версии клинического индекса распространенности и тяжести псориаза. Эритему, шелушение и утолщение оценивали независимо по шкале 0-4: 0 – отсутствует; 1 – слабое; 2 – умеренное; 3 – выраженное; и 4 – сильно выраженное (van der Fits *et al.*, Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *J Immunol* 2009, 182:5836–5845). В день 4 острого и день 11 хронического IMQ-индуцированного воспаления кожи толщину кожи измеряли с применением штангенциркуля (Kaefer).

[00156] *Гистопатология.* Образцы ткани кожи диаметром 6 мм с мышью спины фиксировали в 10% буферном формалине и залитые парафином срезы размером 4-5 μ m окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы кожи оценивали вслепую на наличие паракератоза, ортокератоза, микроабсцесса Мунро, акантоза,

эпидермального изъязвления, воспаления в дерме и гиподерме, закупорки кровеносных сосудов в дерме и гиподерме, фолликулярного гиперкератоза и эпителиальной гиперплазии. Применяли шкалу для оценивания 0-4: 0 – в пределах нормы, 1 – минимальная, 2 – легкая, 3 – умеренная и 4 – тяжелая степень. Общий показатель патологии рассчитывали для каждой мыши посредством сложения отдельных показателей гистопатологических признаков. Анализ данных проводили с применением программного обеспечения GraphPad Prism™. Danilenko, Review paper: preclinical models of psoriasis, *Vet Pathol.* 2008 Jul;45(4):563-75; Lowes *et al.*, Pathogenesis and therapy of psoriasis, *Nature.* 2007 Feb 22;445(7130):866-73; Mecklenburg *et al.*, Proliferative and non-proliferative lesions of the rat and mouse integument, *J Toxicol Pathol.* 2013;26(3 Suppl):27S-57S; Uribe-Herranz *et al.*, IL-1R1 signaling facilitates Munro's microabscess formation in psoriasiform imiquimod-induced skin inflammation, *J Invest Dermatol.* 2013 Jun;133(6):1541-9; van der Fits *et al.*, Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis, *J Immunol.* 2009 May 1;182(9):5836-45.

[00157] *Измерение уровня цитокинов в гомогенатах кожи.* Полнослойные образцы ткани кожи диаметром 6 мм с мышинной спины отбирали и помещали в пробирку объемом 15 мл, содержащую буфер T-per (Thermo Scientific, № по каталогу 378510), 1X смесь ингибиторов протеаз Halt (Thermo Scientific, № по каталогу 87786) и 5 М раствор EDTA (Thermo Scientific, № по каталогу 378429). Образцы ткани кожи разрушали при 28000 об./мин в течение 1 минуты с применением Polytron (PT10-35 GT-D, № по каталогу 9158158) и помещали на лед. Полученные гомогенаты кожи центрифугировали при 1500 об./мин в течение 8 минут при 4°C и супернатанты собирали в 96-луночные планшеты. Гомогенаты кожи подвергали анализу белка по Брэдфорду с применением красителя для анализа белка (BioRad, № по каталогу 500-0006) для количественного определения общего содержания белка. Концентрации цитокинов в гомогенатах кожи измеряли с применением провоспалительной панели 1 (мышь) из набора для мультиплексного иммуноанализа (MesoScale Discovery, № по каталогу K15048D) в соответствии с инструкциями изготовителя. Вкратце, 50 μ л/лунка калибраторов и

образцов (разбавленных в разбавителе Diluent 41) добавляли в планшеты, предварительно покрытые антителами для захвата, и инкубировали при комнатной температуре при встряхивании при 700 об./мин в течение 2 часов. Затем планшеты промывали 3 раза с помощью 1х PBS, содержащего 0,05% (вес/объем) Tween-20, с последующим добавлением 25 мкл раствора антител для выявления, разбавленного в разбавителе Diluent 45. После 2-часовой инкубации при комнатной температуре при встряхивании планшеты промывали 3 раза и в каждую лунку добавляли 150 мкл 2х буфера для считывания. Электрохемилюминесценцию немедленно считывали с помощью прибора MSD Spector[®]. Анализ данных проводили с применением программного обеспечения GraphPad Prism[™]. Уровни цитокинов нормализовывали по отношению к общему содержанию белка.

[00158] *Индукция на модели DSS-индуцированного хронического колита и обработка антителом у DITRA-подобных мышей.* Для индукции хронического DSS-опосредованного колита самкам DITRA-подобных мышей в возрасте 12-20 недель со средним весом тела, составляющим более 23 г, давали 3% DSS (Sigma-Aldrich № по каталогу 87786) в питьевой воде в течение 7 дней, затем дистиллированную воду в течение 10 дней. Этот цикл повторяли два раза до дня 28. Контрольная группа получала дистиллированную воду на протяжении исследования. Антитела к человеческому IL-36R, H4H14706P2 и H4H14708P2, вводили интраперитонеально при 10 мг/кг и 5 мг/кг два раза в неделю, начиная в день 7. Контрольная группа получала инъекции PBS и 10 мг/кг изотипического контроля, представляющего собой hIgG4. Мышей взвешивали и наблюдали клинические признаки колита (например, консистенцию стула и кровь в фекалиях) ежедневно. В день 28 мышей умерщвляли и измеряли длину толстой кишки.

[00159] *Измерение уровня Lcn-2 в гомогенатах толстой кишки.* Для наблюдения воспаления кишечника на протяжении всего исследования фекалии отдельных DITRA-подобных мышей собирали в планшеты с глубокими лунками объемом 2 мл еженедельно и хранили при -80°C. По завершении исследования фекалии, собранные в разные дни, подвергали гомогенизации. Вкратце, образцы фекалий восстанавливали с помощью 1 мл PBS, содержащего 0,1% Tween-20, 1х смесь ингибиторов протеаз Halt (Thermo Scientific, № по каталогу 87786) и 5 М

раствор EDTA (Thermo Scientific, № по каталогу 378429). После добавления в лунки 2 шариков из карбида вольфрама размером 3 мм (Qiagen, № по каталогу 69997) планшеты помещали на встряхиватель с максимальной скоростью в течение ночи при 4°C. Гомогенные суспензии фекалий центрифугировали при 1200 об./мин в течение 10 минут при 4°C и супернатанты собирали в 96-луночные планшеты. Уровни фекального липокалина-2 (Lcn2) измеряли с применением набора для измерения уровня мышинового липокалина-2 DuoSet /набора NGAL ELISA (R&D Systems, № по каталогу DY1857) в соответствии с инструкциями изготовителя. Анализ данных проводили с применением программного обеспечения GraphPad Prism™.

[00160] *Измерение активности миелопероксидазы (МРО) в гомогенатах толстой кишки.* Кусочки дистальной части толстой кишки помещали в микроцентрифужные пробирки объемом 2 мл, содержащие 2 шарика из карбида вольфрама размером 3 мм (Qiagen, № по каталогу 69997), содержащие буфер T-per (Thermo Scientific, № по каталогу 378510), 1x смесь ингибиторов протеаз Halt (Thermo Scientific, № по каталогу 87786) и 5 М раствор EDTA (Thermo Scientific, № по каталогу 78429). Ткани толстой кишки разрушали с применением Qiagen Tissue Lyser II с частотой, составляющей 27,5 с⁻¹, в течение 10 минут. Пробирки центрифугировали при 1500 об./мин в течение 8 минут при 4°C и супернатанты собирали в 96-луночные планшеты. Гомогенаты толстой кишки подвергали анализу белка по Брэдфорду с применением красителя для анализа белка (BioRad, № по каталогу 500-0006) для количественного определения общего содержания белка. Активность миелопероксидазы (МРО) в гомогенатах толстой кишки измеряли с применением набора МРО ELISA для мышей (Nucult Biotech, № по каталогу НК210-02) в соответствии с инструкциями изготовителя. Анализ данных проводили с применением программного обеспечения GraphPad Prism™. Уровни МРО нормализовывали по отношению к общему содержанию белка.

[00161] *Измерение уровня цитокинов в гомогенатах толстой кишки.* Концентрации цитокинов в гомогенатах толстой кишки измеряли с применением провоспалительной панели 1 (мышь) из набора для мультиплексного иммуноанализа (MesoScale Discovery, № по каталогу K15048D) в соответствии с

инструкциями изготовителя. Вкратце, 50 μ л/лунка калибраторов и образцов (разбавленных в разбавителе Diluent 41) добавляли в планшеты, предварительно покрытые антителами для захвата, и инкубировали при комнатной температуре при встряхивании при 700 об./мин в течение 2 часов. Затем планшеты промывали 3 раза с помощью 1х PBS, содержащего 0,05 % (вес/объем) Tween-20, с последующим добавлением 25 мкл раствора антител для выявления, разбавленного в разбавителе Diluent 45. После 2-часовой инкубации при комнатной температуре при встряхивании планшеты промывали 3 раза и в каждую лунку добавляли 150 мкл 2х буфера для считывания. Электрохемилюминесценцию немедленно считывали с помощью прибора MSD Spector[®]. Анализ данных проводили с применением программного обеспечения GraphPad Prism[™]. Уровни цитокинов нормализовывали по отношению к общему содержанию белка.

[00162] *Статистический анализ.* Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Anova с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки (#, * $p < 0,01$; ##, ** $p < 0,001$; ###, *** $p < 0,001$; ####, **** $p < 0,0001$).

Краткое описание результатов и заключения

[00163] *Моноклональные антитела к человеческому IL-36R подавляют острое воспаление кожи у DITRA-подобных мышей при профилактическом введении дозы.* Чтобы изучить роль IL-36R в воспалении кожи, два моноклональных антитела к человеческому IL-36R, H4H14706P2 и H4H14708P2, тестировали на модели IMQ-индуцированного псориазиформного дерматита, который очень похож на очаги псориаза человека с точки зрения фенотипических и гистологических характеристик (van der Fits *et al.*, Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis, J Immunol 2009, 182:5836–5845; Swindell *et al.*, Genome-wide expression profiling of five mouse models identifies similarities and differences with human psoriasis, PLoS One 2011, 6: e18266; Okayasu *et al.*, A novel model in the induction of reliable experimental and chronic ulcerative colitis in mice, Gastroenterology 1990, 98:694-702). IMQ наносили

ежедневно на выбритую кожу спины DITRA-подобных мышей в течение четырех последовательных дней. Антитела H4N14706P2 и H4N14708P2 вводили при 10 мг/кг и 1 мг/кг в день -3 и день 1. Контрольные группы получали инъекции PBS и изотипического контроля, представляющего собой hIgG4, при 10 мг/кг. В день 4 измеряли толщину кожи и собирали ткань для последующей гистопатологической оценки и выделения белка. Оба антитела H4N14706P2 и H4N14708P2 значительно уменьшали IMQ-индуцированное утолщение кожи зависимым от дозы образом по сравнению с изотипическим контролем (таблица 5-1). Гистопатологическая оценка поражений кожи позволила выявить значительное снижение общего показателя патологии, включая паракератоз и микроабсцесс Мунро, при обработке антителом к человеческому IL-36R (таблица 5-2).

Таблица 5-1. Антитела к человеческому IL-36R уменьшали толщину кожи при остром IMQ-индуцированном воспалении кожи. Толщина указана в μm . Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Анова с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM \pm): #значимо отличается от группы, обработанной вазелином; *значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. N = 9/группа.

Вазелин	IMQ					
	PBS	PBS	H4N14706P2		H4N14708P2	
1 мг/кг			10 мг/кг	1 мг/кг	10 мг/кг	10 мг/кг
496,7 \pm 8,8	825 \pm 30 [#] ###	674,4 \pm 56* **	546,7 \pm 30,3* ***	624,4 \pm 67* **	586,7 \pm 53** **	822 \pm 29,6 [#] ###

p-значение: #, *p<0,01; ##, **p<0,001; ###, ***p<0,001; ####, ****p<0,0001

Таблица 5-2. Антитела к человеческому IL-36R снижали общий показатель патологии при остром IMQ-индуцированном воспалении кожи. Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Anova с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM±): #значимо отличается от группы, обработанной вазелином; * значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. N = 9/группа.

Вазелин	IMQ					
PBS	PBS	H4H14706P2		H4H14708P2		Изотип
		1 мг/кг	10 мг/кг	1 мг/кг	10 мг/кг	hIgG4
0	20,3±3####	17,1±2,4	7±3,6****	14,2±2*	8,9±2,4****	20,6±1,7####

р-значение: #. *p<0,01; ##. **p<0,001; ###. ***p<0,001; ####. ****p<0,0001

[00164] Кроме того, блокада hIL-36R антителами H4H14706P2 и H4H14708P2 приводила к 66-93% снижению образования KC-GRO, IL-6, IL-1β и TNFα в гомогенатах кожи (таблица 5-3).

Таблица 5-3. Антагонизм hIL-36R существенно снижал уровень провоспалительных цитокинов в IMQ-обработанной коже DITRA-подобных мышей (модель острого воспаления кожи). Уровни цитокинов в обработанных с помощью PBS/вазелина контрольных группах вычитали из уровней во всех обрабатываемых группах. Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Анова с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM±):
*значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. N = 9/группа.

Цитокин ы (пг на мг общего белка)	IMQ					
	PBS	H4H14706P2		H4H14708P2		Изотип hlgG4
		1 мг/кг	10 мг/кг	1 мг/кг	10 мг/кг	10 мг/кг
КС- GRO	122,5±31, 5	41,5±12,4** **	13,7±4,3** **	35,2±16,7** **	32,3±23,58** **	80,4±12, 9
IL-6	134,8±13	31,9±12,4** **	18,8±8,4** **	42,6±17,7** **	37,8±26,9*** *	143,5±57, 5
IL-1β	84,4±15, 2	18,5±10,1** **	4,9±3,7**** *	17,5±13,8** **	7,4±5,6*****	68,1±15, 1
TNF-α	87,8±6,5	23,6±7,4*** *	8,2±3,7*** *	18,9±8*****	9,5±4,4*****	80,3±15, 8

р-значение: #, *p<0,01; ##, **p<0,001; ###, ***p<0,001; ####, ****p<0,0001

[00165] *Моноклональные антитела к человеческому IL-36R подавляют хроническое воспаление кожи при терапевтическом введении дозы.* Для дополнительного изучения терапевтической эффективности антагонизма hIL-36R

in vivo антитела к человеческому IL-36R тестировали на модели хронического IMQ-индуцированного воспаления кожи. На протяжении двух недель IMQ наносили на выбритую кожу спины DITRA-подобных мышей в течение девяти дней, разделенных двумя днями без нанесения. Антитела H4H14706P2 и H4H14708P2 вводили подкожно в день 4 и день 8 в дозе, составляющей 10 мг/кг. Контрольные группы получали инъекции PBS и изотипического контроля, представляющего собой hIgG4, при 10 мг/кг. В день 11 измеряли толщину кожи и собирали ткань для последующей гистопатологической оценки и выделения белка. Как показано в таблицах 5-4 и 5-5, антитела H4H14706P2 и H4H14708P2 демонстрировали значительную и сопоставимую эффективность в отношении снижения IMQ-индуцированного утолщения кожи и показателей патологического поражения у DITRA-подобных мышей. Терапевтическое введение H4H14706P2 и H4H14708P2 приводило к значительному подавлению IMQ-индуцированного образования провоспалительных цитокинов в коже DITRA-подобных мышей (таблица 5-6).

Таблица 5-4. Терапевтическое введение антител к человеческому IL-36R уменьшало толщину кожи при хроническом IMQ-индуцированном воспалении кожи. Толщина указана в μm . Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного ANOVA с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM \pm): #значимо отличается от группы, обработанной вазелином; * значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. N = 9/группа.

Вазелин	IMQ			
PBS	PBS	H4H14706P2	H4H14708P2	Изотип hlgG4
505 \pm 70	953 \pm 74####	667 \pm 50****	674 \pm 38****	951 \pm 567####

p-значение: #, *p<0,01; ##, **p<0,001; ###, ***p<0,001; ####, ****p<0,0001

Таблица 5-5. Терапевтическое введение антител к человеческому IL-36R снижало общий показатель патологии при хроническом IMQ-индуцированном воспалении кожи. Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Анова с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM±): #значимо отличается от группы, обработанной вазелином; * значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. N = 9/группа.

Вазелин	IMQ			
	PBS	H4H14706P2	H4H14708P2	Изотип hlgG4
0	17,2±2,9####	12,5±2,2*	9,6±1,9***	18±2,7####

р-значение: #, *p<0,01; ##, **p<0,001; ###, ***p<0,001; ####, ****p<0,0001

Таблица 5-6. Антагонизм hIL-36R существенно подавлял провоспалительные цитокины при хроническом IMQ-индуцированном воспалении кожи. Уровни цитокинов в обработанных с помощью PBS/вазелина контрольных группах вычитали из уровней во всех обрабатываемых группах. Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Анова с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM±): *значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. N = 9/группа.

	IMQ			
	PBS	H4H14706P2	H4H14708P2	Изотип hlgG4
KC-GRO	4,5±1,7	0,6±0,3****	0,8±0,4****	4,4±2,9
IL-6	21,1±6,7	5,1±1****	6,8±1,4****	22,9±13,9
IL-1β	29,4±11,6	1,9±0,9****	1,9±0,7****	23,6±19,4
TNF-α	12±2,7	2,1±0,8****	1,8±0,4****	14,4±9,3

р-значение: #, * $p < 0,01$; ##, ** $p < 0,001$; ###, *** $p < 0,001$; ####, **** $p < 0,0001$

[00166] В целом, эти данные продемонстрировали профилактическую и терапевтическую эффективность антител к человеческому IL-36R при облегчении IMQ-индуцированного воспаления кожи *in vivo*. Антитела H4H14706P2 и H4H14708P2 демонстрировали сопоставимую способность к значительному снижению интенсивности как острой, так и хронической IMQ-индуцированной патологии кожи у DITRA-подобных мышей.

[00167] *Моноклональные антитела к человеческому IL-36R облегчают DSS-индуцированный хронический колит у DITRA-подобных мышей при терапевтическом введении дозы.* Для изучения роли антагонизма IL-36R в воспалении кишечника использовали химическую модель повреждения кишечника. В этой модели использовали пероральное введение DSS, которая повреждала эпителий толстой кишки (Okayasu *et al.*, A novel model in the induction of reliable experimental and chronic ulcerative colitis in mice, *Gastroenterology* 1990, 98:694-702) и вызывала мощные воспалительные реакции (Rakoff-Nahoum *et al.*, Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 2004, 118: 229-241), демонстрирующие основные признаки IBD, в частности, язвенный колит. DITRA-подобных мышей подвергали хроническому DSS-индуцированному колиту посредством введения 2-3% DSS в течение 7 дней с последующим 10-дневным введением воды в течение двух циклов. Антитела H4H14706P2 и H4H14708P2 вводили при 10 мг/кг и 5 мг/кг два раза в неделю, начиная в день 7. Контрольные группы получали интраперитонеальные инъекции PBS и изотипического контроля, представляющего собой hIgG4, при 10 мг/кг. Для мониторинга воспаления кишечника на разных стадиях заболевания фекалии отдельных мышей собирали еженедельно для измерения уровня белка фекального липокалина-2 (Lcn2), неинвазивного биомаркера воспаления при повреждении кишечника (Thorsvik *et al.*, Fecal neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2017, 32:128-135). Как показано в таблице 5-7, обработанные с помощью PBS и hIgG4 группы

демонстрировали значительное повышение уровней фекального Lcn2 в день 12, 19 (не показано) и 28 по сравнению с только водой. Напротив, два терапевтических введения H4N14706P2 и H4N14708P2 приводили к значительному снижению уровней Lcn2 зависимым от дозы образом в день 12 по сравнению с группами, обработанными с помощью PBS и изотипа. Устойчивое снижение уровней фекального Lcn2 наблюдали в обработанных антителом к человеческому IL-36 группах в день 19 (не показано) и день 28, что подтверждает роль антител к IL-36R в снижении интенсивности воспаления кишечника у DITRA-подобных мышей (таблица 5-7). Антитело H4N14706P2 демонстрировало лучшую способность к снижению уровней Lcn2 и, таким образом, воспаления кишечника по сравнению с H4N14708P2 (таблица 5-7).

Таблица 5-7. Антагонизм hIL-36R существенно снижал уровни фекального Lcn2 у DITRA-подобных мышей при хроническом DSS-индуцированном колите. Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Анова с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM±): #значимо отличается от группы, обработанной водой; * значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. N = 6-8/группа.

Вода			DSS													
д е н ь 0 2 8 0 0 0	д е н ь 0 2 8 0 0 0	д е н ь 0 2 8 0 0 0	день 12						день 28							
			PBS		H4N14706P2		H4N14708P2		Изо тип hlg4	PBS		H4N14706P2		H4N14708P2		Изо тип hlg4
			10	5	10	5	10	5	10	10	5	10	5	10	5	10
мг/к		мг/к		мг/к		мг/к		мг/к		мг/к		мг/к		мг/к		
г		г		кг		/кг		г		г		кг		кг		
0	0	0	150	332±	544±	698	79	1879	1379	325	373	63	60	1448		

			±52	107*	153*	±27	1±	±138	±39	±13	±21	5±	0±	±38
			5####	***	***	2*	5,7	####	0###	4**	7*	14	23	6###
												1	*	

р-значение: #, *p<0,01; ##, **p<0,001; ###, ***p<0,001; ####, ****p<0,0001

[00168] Блокада hIL-36R антителами H4H14706P2 и H4H14708P2 приводила к снижению активности МРО (таблица 5-8) и 61-95% снижению уровня провоспалительных цитокинов (таблица 5-9) в толстой кишке DSS-обработанных DITRA-подобных мышей.

Таблица 5-8. Терапевтическое введение антител к человеческому IL-36R снижало активность МРО в толстой кишке DSS-обработанных DITRA-подобных мышей. Уровни МРО представлены в нг на мг общего белка. Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Anova с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM±): # значимо отличается от группы, обработанной водой; * значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. N = 6-8/группа.

Вода	DSS						
	PBS	PB S	H4H14706P2		H4H14708P2		Изотип hlgG4
			10 мг/кг	5 мг/кг	10 мг/кг	5 мг/кг	
0		69±19####	6,1±2,3***	20,5±6,1***	29,6±7,5**	23,5±12,7**	64,7±5,6###

р-значение: #, *p<0,01; ##, **p<0,001; ###, ***p<0,001; ####, ****p<0,0001

Таблица 5-9. Терапевтическое введение антител к человеческому IL-36R снижало уровень провоспалительных цитокинов в толстой кишке DSS-обработанных DITRA-подобных мышей. Уровни МРО представлены в нг на мг общего белка. Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Анова с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM±): #значимо отличается от группы, обработанной водой; * значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. N = 6-8/группа.

Цитокины (нг на мг общего белка)	Вода	IMQ					Изотип hlgG4
	PBS	PBS	H4H14706P2		H4H14708P2		
			10 мг/кг	5 мг/кг	10 мг/кг	5 мг/кг	
КС-GRO	0,54±0,3	98±30 ^{###} #	14,7±3 ^{**} *	22,9±8 ^{**}	38,2±26 *	26,4±0,7*	110±13 ^{##} #
IL-6	0,69±0,2	345±155 ^{###}	17,1±6 ^{**} **	93±75 ^{**}	69±11 ^{**} *	50±3,4 ^{**} *	627±250 ^{###}
IL-1β	1,2±0,3	128±14 ^{##} #	13,4±6 ^{**} *	27±11 ^{**}	42±46* *	34±11* *	125±22 ^{##} #
TNF -α	0,98±0,3	74±14 ^{###}	9,2±4,7 ^{**} **	16±8,8 ^{**} **	7,7±4 ^{**} **	4,3±2,1 ^{**} **	28±15 ^{###}

р-значение: #,*p<0,01; ##, **p<0,001; ###, ***p<0,001; ####, ****p<0,0001

[00169] В соответствии с наблюдениями более низких уровней Lcn2 антитело H4H14706P2 демонстрировало превосходную эффективность в отношении снижения активности МРО и провоспалительных цитокинов в толстой кишке по сравнению с H4H14708P2.

[00170] **Пример 6.** Эпитопное картирование связывания H4N14706P2, H4N14708P2 и H4N14731P с IL-36R с помощью водород-дейтериевого обмена.

[00171] Эпитопное картирование с помощью водород-дейтериевого обмена с масс-спектрометрией (HDX-MS) выполняли для определения аминокислотных остатков IL-36R (рекомбинантного человеческого IL-36R, обозначенного как hIL-36R.mmH и характеризующегося аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 227) взаимодействующих с H4N14706P2, H4N14708P2 и H4N14731P (моноклональными антителами к hIL-36R). Общее описание способа H/D-обмена представлено *например*, в Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267(2):252-259; и Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73:256A-265A.

[00172] Эксперименты HDX-MS проводили на интегрированной платформе HDX/MS, состоящей из системы Leaptec HDX PAL для мечения дейтерием и тушения, Waters Acquity M-Class (вспомогательной системы управления растворителями) для расщепления и загрузки образцов, Waters Acquity M-Class (системы управления растворителями μ Vinary) для аналитического градиента и масс-спектрометра Thermo Q Exactive HF для измерения массы пептидов.

[00173] Раствор для мечения получали как буфер PBS в D₂O при pH 7,0 (10 mM фосфатного буфера, 140 mM NaCl и 3 mM KCl, эквивалентно pH 7,4 при 25°C). Для мечения дейтерием 11 мкл IL-36R.mmH (REGN2105, 45,6 мкМ в экспериментах с H4N14706P2 и H4N14708P2 или 63,3 мкМ в эксперименте с H4N14731P) или IL-36R.mmH, предварительно смешанных с H4N14706P2, H4N14708P2 или H4N14731P в молярном соотношении 1:0,7 (комплекс Ag-Ab), инкубировали при 20°C с 44 мкл раствора для мечения на основе D₂O в различные моменты времени в двух повторностях (*например*, недейтерированный контроль = 0 секунд; мечение дейтерием в течение 5 минут и 10 минут). Реакцию дейтерирования гасили посредством добавления 55 мкл предварительно охлажденного буфера для гашения (0,5 M TCEP-HCl, 8 M мочевины и 1% муравьиной кислоты) к каждому образцу в течение 5-минутной инкубации при 20°C. Затем подвергнутый гашению образец вводили в Waters HDX Manager для расщепления пепсином/протеазой XIII в режиме реального времени. Расщепленные пептиды разделяли на колонке C8 (1,0 мм x 50 мм, NovaBioassays) с

13-минутным градиентом от 10% до 32% В (подвижная фаза А: 0,5% муравьиной кислоты в воде, подвижная фаза В: 0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле). Элюированные пептиды анализировали с помощью масс-спектрометрии Q Exactive HF в режиме LC-MS/MS или LC-MS.

[00174] Проводили поиск данных LC-MS/MS для образца нейдеитерированного IL-36R в базе данных, содержащей последовательность IL-36R и его рандомизированную последовательность, с применением средства поиска Byonic (Protein Metrics). Параметры поиска (в ELN) устанавливали по умолчанию с применением неспецифического ферментативного расщепления и человеческого гликозилирования в качестве общей вариабельной модификации. Перечень идентифицированных пептидов затем импортировали в программное обеспечение HDX Workbench (версия 3.3) для расчета поглощения дейтерия каждым пептидом, выявленным с помощью LC-MS, из всех дейтерированных образцов. Для данного пептида массу центроида (зависимую от интенсивности средневзвешенную массу) в каждый момент времени использовали для расчета поглощения дейтерия (D) и процента поглощения дейтерия (% D).

Поглощение дейтерия (поглощение D)	=	Средняя масса (дейтерированный образец) - Средняя масса (нейдеитерированный образец)
Процент поглощения дейтерия (% D)	=	$\frac{\text{Поглощение D для пептида в каждый момент времени} \times 100\%}{\text{Максимальное поглощение D для пептида (определено в ELN)}}$

[00175] Всего 163 пептида из REGN2105 (hIL-36R.mmH) идентифицировали как из hIL-36R.mmH отдельно, так и из hIL-36R.mmH в комплексе с образцами H4N14706P2, что составляет 81,5% охвата последовательности hIL-36R. Любой пептид, который демонстрировал дифференциальное процентное значение

поглощения D выше 5%, определяли как в значительной степени защищенный.

Пептиды, соответствующие аминокислотам 113-122 (YKQILHLGKD) (SEQ ID NO: 229) (аминокислотам 113-122 из SEQ ID NO: 227) в REGN2105, были в значительной степени защищены с помощью H4H14706P2.

[00176] Всего 148 пептидов из REGN2105 (hIL-36R.mmH) идентифицировали как из hIL-36R.mmH отдельно, так и из hIL-36R.mmH в комплексе с образцами H4H14708P2, что составляет 80,1% охвата последовательности hIL-36R. Любой пептид, который демонстрировал дифференциальное процентное значение поглощения D выше 5%, определяли как в значительной степени защищенный. Пептиды, соответствующие аминокислотам 113-122 (YKQILHLGKD) (SEQ ID NO: 229) (аминокислотам 113-122 из SEQ ID NO: 227) в REGN2105, были в значительной степени защищены с помощью H4H14708P2.

[00177] Всего 237 пептидов из REGN2105 (hIL-36R.mmH) идентифицировали как из hIL-36R.mmH отдельно, так и из hIL-36R.mmH в комплексе с образцами H4H14731P, что составляет 88,2% охвата последовательности hIL-36R. Любой пептид, который демонстрировал дифференциальное процентное значение поглощения D выше 5%, определяли как в значительной степени защищенный. Пептиды, соответствующие аминокислотам 264-277 (GVETHVSFRENHLY) (SEQ ID NO: 230) (аминокислотам 264-277 из SEQ ID NO: 227) в REGN2105, были в значительной степени защищены с помощью H4H14731P.

Таблица 6-1: Пептиды IL-36R.mmH со значительной защитой при связывании с H4H14706P2

		5 мин	10 мин	
		REGN2105	REGN2105 + H4H14706P2	

Остатк и	Заряд (+)	Центроид д МН ⁺	Центроид д МН ⁺	ΔD	Центроид МН ⁺	Центроид д МН ⁺	ΔD	$\Delta\%$ D
113- 119	2	918,84	918,60	-0,24	918,97	918,71	- 0,26	-6,2
113- 122	1	1218,76	1218,29	-0,47	1218,91	1218,45	- 0,46	-7,2
113- 122	2	1219,97	1219,52	-0,45	1220,10	1219,66	- 0,44	-6,9
116- 119	1	497,13	497,01	-0,12	497,19	497,03	- 0,17	-8,9
116- 122	1	798,29	797,98	-0,31	798,35	797,99	- 0,35	-8,3

Таблица 6-2: Пептиды IL-36R.mmH со значительной защитой при связывании с H4H14708P2

Остатк и	Заряд (+)	5 мин			10 мин			$\Delta\%$ D
		Центр оид МН ⁺	Центроид д МН ⁺	ΔD	Центро ид МН ⁺	Центроид д МН ⁺	ΔD	
IL-36R			REGN21 05			REGN21 05		
			REGN + 2105			REGN2 + 105		
			H4H1470 8P2			H4H1470 8P2		
113-119	2	918,84	918,59	-0,25	918,97	918,69	- 0,28	-6,6
113-122	1	1218,7 3	1218,13	-0,61	1218,90	1218,31	- 0,58	-9,3
113-122	2	1219,9 7	1219,51	-0,46	1220,10	1219,58	- 0,51	-7,6

116-119	1	497,13	497,01	-0,12	497,19	497,03	- 0,17	-9,0
116-122	1	798,29	797,90	-0,39	798,35	797,93	- 0,42	-10,1

Таблица 6-3: Пептиды IL-36R.mмН со значительной защитой при связывании с H4H14731P

IL-36R	Заряд (+)	5 мин			10 мин			$\Delta\%$ D
		Центр оид мН ⁺	Центроид мН ⁺	ΔD	Центроид мН ⁺	Центроид мН ⁺	ΔD	
Остатки		REGN 2105	REGN21 05 + H4H1473 1P		REGN2 105	REGN21 05 + H4H1473 1P		
264-271	2	880,18	879,93	-0,24	880,24	879,91	- 0,32	-5,9
267-271	1	592,76	592,58	-0,18	592,78	592,56	- 0,23	-8,5
268-271	1	491,44	491,23	-0,21	491,47	491,22	- 0,25	-14,4
268-276	3	1144,59	1144,25	-0,34	1144,60	1144,21	- 0,39	-6,6
268-277	3	1307,97	1307,56	-0,41	1308,01	1307,48	- 0,53	-7,3
271-276	2	818,86	818,67	-0,19	818,86	818,63	- 0,23	-6,5

[00178] Аминокислотная последовательность рекомбинантного человеческого IL-36R (IL1RL2; подобный рецептору интерлейкина-1 белок 2; REGN2105) (hIL36R.mmH): мономерный человеческий IL-36R (аминокислоты D20-Y337, № доступа Q9HB29) с С-концевой тус-тус-гексагистидиновой (mmH) меткой (подчеркнуто):

DGCKDIFMKNEILSASQPFAFNCTFPPITSGEVSVTWYKNSSKIPVSKIIQSR
IHQDETWILFLPMEWGD SGVYQCVIKGRD SCHRIHVNLTVFEKHWCDTSIGGLP
NLSDEYKQILHLGKDDSLTCHLHFPKSCVLGPIKWKDCNEIKGERFTVLETRLL
VSNVSAEDRGNYACQAILTHSGKQYEVLNGITVSITERAGYGGSVPKIYPKNHSI
EVQLGTTLIVDCNVTDTKDNTNLRWVNNLTVDDYYDESKRIREGVETHVSF
REHNL YTVNITFLEV KMEDYGLPFMCHAGVSTAYIILQLPAPDFRAYEQKLISEE
DLGGEQKLISEEDLHHHHHH (SEQ ID NO: 227).

[00179] **Пример 7: Оценка антител к IL36R *in vivo* на мышинных моделях ИМQ-индуцированного и оксазолон-индуцированного воспаления кожи и хронического колита**

[00180] Моноклональные антитела к человеческому IL-36R по настоящему изобретению тестировали в анализах первичных человеческих клеток *in vitro* и сравнивали с другими моноклональными антителами к человеческому IL-36R в анализах имиквимод (ИМQ)-индуцированного воспаления кожи *in vivo* у мышей с гуманизированными IL-36R/hIL-36 α , β , γ . Также моноклональные антитела к человеческому IL-36R по настоящему изобретению тестировали *in vivo* на модели оксазолон-индуцированного колита у мышей с гуманизированными IL-36R/hIL-36 α , β , γ .

[00181] IL-8 выявляли в культуральных супернатантах с применением набора DuoSet ELISA для человеческого CXCL8/IL-8 (R&D Systems) и цитокин выявляли в гомогенатах кожи и толстой кишки с применением провоспалительной панели 1 (мышь и человек) из набора для мультиплексного иммуноанализа (MSD). Тестируемые моноклональные антитела представляли собой H4H14706P2, H4H14708P2, APE6155 (IgG4) и человеческий IgG4 изотипического контроля (REGN1002).

[00182] Тяжелая цепь APE6155 (содержащая константный домен IgG4) содержит аминокислотную последовательность:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMNWVRQAPRQGLEW
MGMFHPTGDVTRLNQKFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARTT
SMIIGGFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS
NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV
MHEALHNHYTQKSLSLGLK

(SEQ ID NO: 239).

[00183] Легкая цепь APE6155 (содержащая константный домен каппа) содержит аминокислотную последовательность:

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSKSLHRNAITYFYWYLHKPGQPPQLL
IYQMSNLAGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPLTFGGG
TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

(SEQ ID NO: 240).

[00184] См. WO2016/168542.

[00185] *Тестирование антител к человеческому IL-36R in vitro в анализах первичных человеческих клеток in vitro.* Нормальные человеческие эпидермальные кератиноциты (NHLF; Lonza, № по каталогу 00192627, партия № 254498) и миофибробласт кишечника (InMyoFib; Lonza, № по каталогу CC-2902, партия № 0000254498) культивировали *in vitro* с 4-5 пассажами в KGM-Gold™, дополненной с помощью BulletKit™ (Lonza, № по каталогу CC-00192060, партия № 0000484385), и SmGm™-2, дополненной с помощью BulletKit™ (Lonza, № по каталогу CC-3182, партия № 00004736694) соответственно. Человеческие CD14+ моноциты выделяли из периферической крови 3 разных доноров с применением набора для выделения человеческих моноцитов EasySep (StemCell, № по каталогу

19359) в соответствии с инструкциями изготовителя. За день до анализа первичные человеческие клетки высевали в соответствующую среду по 10000 на лунку в 96-луночный планшет с плоским дном и инкубировали в течение ночи при 37°C. Клетки стимулировали в присутствии постоянной концентрации (10 нМ) или серийно разбавленных (начиная с 1500 нМ) rhIL-36 α /IL-1F6 [aa6-158] (R&D Systems, № по каталогу 6995-IL-010/CF, партия № DAFZ0313051), rhIL-36 β /IL-1F8 [aa5-157] (R&D Systems, № по каталогу 6834-IL-010/CF, партия № DAKU0514062 и rhIL-36 γ /IL-1F9 [aa18-169] (R&D Systems, № по каталогу 6835-IL-010/CF, партия № DAPK0215011) отдельно или в комбинации. Серийные разбавления, начиная с 2400 нМ антител к человеческому IL-36R, добавляли в лунки. Планшеты инкубировали в течение 24 часов при 37°C и супернатанты собирали для измерения уровня IL-8 с применением DuoSet ELISA Development System для человеческого CXCL8/IL-8 (R&D Systems, № по каталогу DY208-05, партия № 325963). Для получения значений EC₅₀ и IC₅₀ результаты анализировали с применением нелинейной регрессии (логистической с 4 параметрами) с помощью программного обеспечения GraphPad Prism™.

[00186] *Тестирование и сравнение антител к человеческому IL-36R при IMQ-индуцированном воспалении кожи.* Для индукции воспаления кожи самкам гуманизированных DITRA-подобных мышей в возрасте 8-10 недель выбривали волосы на спине с применением триммера для мышиных волос (Oster, MiniMax, № по каталогу 78049-100) и депилировали кожу с применением 0,5 г геля для удаления волос Veet за три дня до нанесения крема на основе IMQ. Местную ежедневную дозу, составляющую 62,5 мг коммерчески доступного крема на основе IMQ (5%) (Aldara, GM Health Care Limited, NDC 99207-206-12, лот № QJ044A) или вазелина (CVS Pharmacy, NDC 59779-902-88), наносили на выбритую кожу спины мышей в течение четырех последовательных дней. Ежедневную местную дозу, составляющую 62,5 мг Aldara, переводили в суточную дозу, составляющую 3,125 мг активного соединения. Антитела к человеческому IL-36R – H4H14706P2, H4H14708P2 и APE6155 (IgG4) – вводили подкожно в кожу спины при 10 мг/кг в день -3 и день 1. Контрольная группа получала инъекции PBS и 10

мг/кг изотипического контроля, представляющего собой hIgG4 (REGN1002). Через два или три дня после начала применения IMQ кожа спины мышей начала демонстрировать признаки эритемы, шелушения и утолщения. Тяжесть воспаления измеряли ежедневно с применением адаптированной версии клинического индекса распространенности и тяжести псориаза. Эритему, шелушение и утолщение оценивали независимо по шкале 0-4: 0 – отсутствует; 1 – слабое; 2 – умеренное; 3 – выраженное; и 4 – сильно выраженное (van der Fits *et al.* Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *J Immunol* 2009, 182:5836–5845). Толщину кожи измеряли с применением штангенциркуля в день 5 (Kaefer).

[00187] *Гистопатология*. Образцы ткани кожи диаметром 6 мм с мышинной спины фиксировали в 10% буферном формалине и залитые парафином срезы размером 4-5 μm окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы кожи оценивали вслепую на наличие паракератоза, ортокератоза, микроабсцесса Мунро, акантоза, эпидермального изъязвления, воспаления в дерме и гиподерме, закупорки кровеносных сосудов в дерме и гиподерме, фолликулярного гиперкератоза и эпителиальной гиперплазии. Применяли шкалу для оценивания 0-4: 0 – в пределах нормы, 1 – минимальная, 2 – легкая, 3 – умеренная и 4 – тяжелая степень. Общий показатель патологии рассчитывали для каждой мыши посредством сложения отдельных показателей гистопатологических признаков. Анализ данных проводили с применением программного обеспечения GraphPad Prism™.

[00188] *Измерение уровня цитокинов в гомогенатах кожи*. Полнослойные образцы ткани кожи диаметром 6 мм с мышинной спины отбирали и помещали в пробирку объемом 15 мл, содержащую буфер T-peg (Thermo Scientific, № по каталогу 378510, партия № RF236217), 1x смесь ингибиторов протеаз Halt (Thermo Scientific, № по каталогу 87786, партия № QG221763) и 5 М раствор EDTA (Thermo Scientific, № по каталогу 378429). Образцы ткани кожи разрушали при 28000 об./мин в течение 1 минуты с применением Polytron (PT10-35 GT-D, № по каталогу 9158158) и помещали на лед. Полученные гомогенаты кожи центрифугировали при 1500 об./мин в течение 8 минут при 4°C и супернатанты

собирали в 96-луночные планшеты. Гомогенаты кожи подвергали анализу белка по Брэдфорду с использованием красителя для анализа белка (BioRad, № по каталогу 500-0006, лот № 210008149) для количественного определения общего содержания белка. Концентрации цитокинов в гомогенатах кожи измеряли с применением провоспалительной панели 1 (мышь) набора для мультиплексного иммуноанализа (MesoScale Discovery, № по каталогу K15048D) в соответствии с инструкциями изготовителя. Вкратце, 50 μ л/лунка калибраторов и образцов (разбавленных в разбавителе Diluent 41) добавляли в планшеты, предварительно покрытые антителами для захвата, и инкубировали при комнатной температуре при встряхивании при 700 об./мин в течение 2 часов. Затем планшеты промывали 3 раза с помощью 1x PBS, содержащего 0,05 % (вес/объем) Tween-20, с последующим добавлением 25 мкл раствора антител для выявления, разбавленного в разбавителе Diluent 45. После 2-часовой инкубации при комнатной температуре при встряхивании планшеты промывали 3 раза и в каждую лунку добавляли 150 мкл 2x буфера для считывания. Электрохемилюминесценцию немедленно считывали с помощью прибора MSD Spector[®]. Анализ данных проводили с применением программного обеспечения GraphPad Prism[™]. Уровни цитокинов нормализовывали по отношению к общему содержанию белка.

[00189] *Тестирование моноклональных антител к человеческому IL-36R при оксазолон-индуцированном воспалении кишечника – индукция на оксазолон-индуцированной модели хронического колита и обработка антителом DITRA-подобных мышей.* Оксазолоном индуцировали колит, как описано ранее (Heller *et al.*, Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells. *Immunity* 2002, 17: 629-638). Вкратце, чтобы предварительно сенсibilизировать DITRA-подобных мышей выбривали участок кожи брюшка размером 2 x 2 см² и наносили 100 μ л 3% раствора оксазолон ((4-этоксиметил-2-фенил-2-оксазолин-5-он; Sigma Aldrich), разбавленного в 100% этаноле. В дни 5 и 7 после предварительной сенсibilизации мышам интратректально вводили 50 μ л 1,5% оксазолон, разбавленного в 50% этаноле, под общей анестезией. Контрольных мышей предварительно

сенсibilизировали 100% этанолом и им путем интpаректальной инъекции вводили 50% этанол. Антитела к человеческому IL-36R – H4H14706P2 и H4H14708P2 – вводили интpапeритонеально при 10 мг/кг в дни 2, 5 и 7. Контрольная группа получала инъекции PBS и 10 мг/кг изотипического контроля, представляющего собой hIgG4 (REGN1002). Мышей взвешивали и наблюдали клинические признаки колита (например, консистенцию стула и кровь в фекалиях) ежедневно. В день 8 мышей умерщвляли и собирали образцы толстой кишки.

[00190] *Измерение уровня цитокинов в гомогенатах толстой кишки.* Кусочки дистальной части толстой кишки помещали в микроцентрифужные пробирки объемом 2 мл, содержащие 2 шарика из карбида вольфрама размером 3 мм (Qiagen), содержащие буфер T-per (Thermo Scientific), 1x смесь ингибиторов протеаз Halt (Thermo Scientific) и 5M раствор EDTA (Thermo Scientific). Ткани толстой кишки разрушали с применением Qiagen Tissue Lyser II с частотой 27,5 с⁻¹ в течение 10 минут. Пробирки центрифугировали при 1500 об./мин в течение 8 минут при 4°C и супернатанты собирали в 96-луночные планшеты. Гомогенаты тканей подвергали анализу белка по Брэдфорду с применением красителя для анализа белка (BioRad) для количественного определения общего содержания белка.

[00191] Концентрации цитокинов в гомогенатах толстой кишки измеряли с применением провоспалительной панели 1 (мышь) из набора для мультиплексного иммуноанализа (MesoScale Discovery, № по каталогу K15048D) в соответствии с инструкциями изготовителя. Вкратце, 50 мкл/луночка калибраторов и образцов (разбавленных в разбавителе Diluent 41) добавляли в планшеты, предварительно покрытые антителами для захвата, и инкубировали при комнатной температуре при встряхивании при 700 об./мин в течение 2 часов. Затем планшеты промывали 3 раза с помощью 1x PBS, содержащего 0,05% (вес/объем) Tween-20, с последующим добавлением 25 мкл раствора антител для выявления, разбавленного в разбавителе Diluent 45. После 2-часовой инкубации при комнатной температуре при встряхивании планшеты промывали 3 раза и в каждую лунку добавляли 150 мкл 2x буфера для считывания. Электрохемилюминесценцию

немедленно считывали с помощью прибора MSD Spector[®]. Анализ данных проводили с применением программного обеспечения GraphPad Prism[™]. Уровни цитокинов нормализовывали по отношению к общему содержанию белка.

[00192] *Статистический анализ.* Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Anova с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки (* $p < 0,05$, ** $p < 0,005$, *** $p < 0,0005$, **** $p < 0,00001$).

[00193] *Краткое описание результатов и заключения – моноклональные антитела к человеческому IL-36R эффективно подавляют передачу сигнала с участием человеческого IL-36R в первичных человеческих клетках in vitro.* Человеческие эпидермальные кератиноциты (NHEK), человеческие миофибробласты кишечника (InMyoFib) и полученные из периферической крови (PB) CD14⁺ моноциты стимулировали *in vitro* с помощью 10 нМ IL-36 α , β и γ . Серийно разбавленные моноклональные антитела к человеческому IL-36R (H4N14706P2 и H4N14708P2) добавляли к культурам, собирали супернатанты после 24-часовой инкубации и измеряли образование человеческого IL-8 в ответ на стимуляцию с помощью IL-36. Моноклональные антитела к человеческому IL-36R эффективно подавляют все три цитокина IL-36 в человеческих эпидермальных кератиноцитах, человеческих миофибробластах кишечника и полученных из периферической крови (PB) CD14⁺ моноцитах *in vitro* с IC₅₀, составляющей 1-6 нМ (таблица 7-1).

Таблица 7-1. Антитела к человеческому IL-36R, H4N14706P2 и H4N14708P2, подавляли человеческий IL-36 α , β и γ в человеческих первичных клетках *in vitro*.

Клетки	Нормальные эпидермальные кератиноциты (NHEK)	Миофибробласты кишечника (InMyoFib)	Полученные из PB CD14⁺ моноциты
---------------	---	--	---

Лиганды hIL-36	α	β	γ	α	β	γ	α	β	γ
EC50[M]	1,43E-09	1,18E-09	4,00E-09	1,41E-09	1,18E-09	1,46E-09	2,75E-09	2,63E-09	2,75E-09
Константа для подавления	10 нМ	10 нМ	10 нМ	10 нМ	10 нМ	10 нМ	10 нМ	10 нМ	10 нМ
Белок/а к hIL-36R	IC50 [M]	IC50 [M]	IC50 [M]	IC50 [M]	IC50 [M]	IC50 [M]	IC50 [M]	IC50 [M]	IC50 [M]
H4H14706P2	4,42E-09	3,62E-09	2,11E-09	4,89E-09	3,62E-09	4,59E-09	1,15E-09	1,74E-09	1,58E-09
H4H14708P2	5,06E-09	5,79E-09	3,63E-09	5,72E-09	5,3E-09	6,40E-09	2,38E-09	2,24E-09	1,95E-09
Контрольное антитело hIgG (REGN1002)	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует	Отсутствует

[00194] Моноклональные антитела к человеческому IL-36R, H4H14706P2 и H4H14708P2, являются более эффективными, чем антитело APE6155, при ингибировании IMQ-индуцированного воспаления кожи у DITRA-подобных мышей. Моноклональные антитела к человеческому IL-36R, H4H14706P2 и H4H14708P2 и APE6155, тестировали совместно на модели IMQ-индуцированного псориазиформного дерматита. IMQ наносили ежедневно на выбритую кожу спины DITRA-подобных мышей в течение четырех последовательных дней. Антитела H4H14706P2 и H4H14708P2 и APE6155 вводили

при 10 мг/кг в день -3 и день 1. Контрольные группы получали инъекции PBS и изотипического контроля, представляющего собой hIgG4, при 10 мг/кг. В день 5 измеряли толщину кожи и собирали ткань для последующей гистопатологической оценки и выделения белка. Оба антитела H4N14706P2 и H4N14708P2 демонстрировали более высокую эффективность при значительном уменьшении IMQ-индуцированного утолщения кожи по сравнению с APE6155 (таблица 7-2). Гистопатологическая оценка поражений кожи позволила выявить более значительное снижение общего показателя патологии, включая паракератоз и микроабсцесс Мунро, при обработках антителами к человеческому IL-36R (таблица 7-3).

Таблица 7-2. Антитела к человеческому IL-36R, H4N14706P2 и H4N14708P2, являются более эффективными, чем антитело к человеческому IL-36R APE6155, в отношении уменьшения толщины кожи при IMQ-индуцированном воспалении кожи ~

Вазелин	IMQ				
PBS	PBS	H4N14706P2	H4N14708P2	APE6155	Изотип hlgG4
607±18	748±45	586±34**	585±24**	689±81	740±42,5

~Толщина указана в μm . Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Анова с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM \pm):

*значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа.

n=9/группа.

Таблица 7-3. Антитела к человеческому IL-36R, H4N14706P2 и H4N14708P2, демонстрировали более высокую эффективность, чем APE6155,

в отношении снижения общего показателя патологии при IMQ-индуцированном воспалении кожи[§]

Вазелин	IMQ				
	PBS	H4H14706P2	H4H14708P2	APЕ6155	Изотип hlgG4
2±0,6	17±2,5	11±1,4***	11,6±1,9**	13,4±3	16±1,5

[§]Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного ANOVA с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM±): * значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. n=9/группа.

[00195] Кроме того, блокада человеческого IL-36R антителами H4H14706P2 и H4H14708P2 приводила к более высокому снижению образования KC-GRO, IL-6, IL-1 β и TNF α в гомогенатах кожи по сравнению с COMP5382 (таблица 7-4).

Таблица 7-4. Антитела к человеческому IL-36R, H4H14706P2 и H4H14708P2, демонстрировали более высокую эффективность, чем APЕ6155, в отношении снижения уровня провоспалительных цитокинов в коже[∞]

Цитокины (пг на мг общей ткани)	IMQ				
	PBS	H4H14706P2	H4H14708P2	APЕ6155	Изотип hlgG4
KC-GRO	64±10	19±5,5**	23±7**	40±16	65±22
IL-6	160±47	41±14****	51±16****	128±59	165±87
IL-1β	128±438,6	8,6±1,9****	10±1,3****	28±17****	117±49

TNF-α	72 \pm 22	11 \pm 4,2*	12 \pm 2,9*	20,5 \pm 9,8	65 \pm 22
--------------------------------	-------------	---------------	---------------	----------------	-------------

[∞] Значения представлены в «нг на мг общей ткани». Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Anova с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM \pm): * значимо отличается от групп, обработанных с помощью PBS и изотипа. n=9/группа.

[00196] *Моноклональные антитела к человеческому IL-36R облегчают оксазолон-индуцированный колит у DITRA-подобных мышей.* Для дальнейшего изучения биологической функции IL-36 в кишечнике авторы настоящего изобретения тестировали эффективность блокады IL-36R при оксазолон-индуцированном колите, другой доклинической модели IBD, гистологически подобной язвенному колиту человека (Heller *et al.*). Профилактическое введение антител к человеческому IL-36R, H4H14706P2 и H4H14708P2, в значительной степени снижало тяжесть оксазолон-индуцированного заболевания у DITRA-подобных мышей по сравнению с группами, обработанными с помощью PBS и изотипического контроля, что отражалось в уровнях IL-4, IL-6 и TNF- α в толстой кишке оксазолон-обработанных DITRA-подобных мышей (таблица 7-5).

Таблица 7-5. Антагонизм человеческого IL-36R облегчает оксазолон-индуцированный колит у DITRA-подобных мышей *in vivo*.[†]

Цитокины (пг на мг общей ткани)	Оксазолон				
	Среда- носитель	PBS	H4H14706P2	H4H14708P2	Изотип hlgG4
IL-4	2 \pm 0,4	509 \pm 148	51,5 \pm 28****	111 \pm 35****	296 \pm 106
IL-6	34 \pm 29	212 \pm 1255	198 \pm 131**	214 \pm 116**	2276 \pm 1338

TNF-α	95 \pm 36	822 \pm 149	387 \pm 126**	589 \pm 136	859 \pm 148
--------------------------------	-------------	---------------	-----------------	---------------	---------------

♦DITRA-подобных мышей предварительно сенсibilizировали 3% раствором оксазолон, растворенного в 100% этаноле, и через 5 дней интаректально вводили 1,5% оксазолон и среду-носитель (50% этанол). Мышам интраперитонеально вводили путем инъекции PBS, mAb к человеческому IL-36R и изотипический контроль hIgG4 в дни 2, 5 и 7 после предварительной сенсibilизации. Уровни провоспалительных цитокинов в гомогенатах толстой кишки у оксазолон-обработанных и обработанных средой-носителем DITRA-подобных мышей, которым путем инъекции вводили PBS, mAb к человеческому IL-36R и изотипический контроль hIgG4. Значения представлены в «пг на мг общей ткани». Статистическую значимость в группах определяли с помощью однофакторного Anova с апостериорным критерием множественного сравнения Тьюки и рассчитывали стандартную ошибку среднего (SEM \pm): *значимо отличается от группы, обработанной с помощью PBS. N=5/группа.

[00197] **Пример 8: Биоанализ с применением линии человеческих клеток HEK293/NF κ B-luc/hIL36R для анализа Шилда**

[00198] Для характеристики подавляющих свойств антител к IL36R, H4N14706P2 и H4N14708P2, выполняли анализ Шилда. С помощью этого способа оценивают природу антагонизма ингибиторами и измеряют аффинность конкурентного антагониста при выполнении ряда условий (Colquhoun, Why the Schild method is better than Schild realized, Trends Pharmacol Sci. 2007 Dec;28(12):608-14).

[00199] Для биоанализа клетки HEK293/NF κ B-luc/hIL-36R высевали в 96-луночные планшеты для анализа из расчета 10000 клеток/луночка в среду с низким содержанием сыворотки крови, 0,1% FBS и OPTIMEM, и инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение ночи. На следующий день к клеткам добавляли антитело в разных фиксированных концентрациях (9 нМ, 3 нМ, 1 нМ, 0,3 нМ или 0,1 нМ) и

предварительно инкубировали с клетками в течение 15 минут при комнатной температуре. Также включали условие без антитела. Затем IL-36 α , IL-36 β или IL-36 γ серийно разбавляли от 100 нМ до 2 пМ или от 100 нМ до 0,1 пМ и добавляли в клетки вместе с образцом без какого-либо лиганда. Выявляли активность люциферазы после 5,5-часовой инкубации при 37°C и 5% CO₂ с помощью устройства для считывания планшетов Victor X5 или EnVision™ Multilabel (Perkin Elmer) и результаты анализировали с применением сдвига EC₅₀ Gaddum/Schild с помощью Prism 7 (GraphPad).

[00200] Анализ Шилда для H4N14706P2 и H4N14708P2 продемонстрировал, что увеличение количества антител вызывало параллельный сдвиг вправо кривых доза-ответ для лиганда IL36, и что подавляющий эффект H4N14706P2 и H4N14708P2 можно преодолеть посредством повышения количеств лиганда IL36, что предполагает конкурентное ингибирование с помощью H4N14706P2 и H4N14708P2 (фигура 3 (A-F)).

[00201] **Пример 9: Фармакокинетические (PK) исследования**

[00202] Самок яванских макаков распределяли по получавшим дозу группам для характеристики PK; животные (3 животных/группа) получали однократную SC инъекцию 5 или 0,5 мг/кг H4N14708P2 или APE6155. Образцы крови собирали от всех животных перед введением дозы и через 4, 24, 48, 72, 120, 168, 240, 336, 504, 576, 672, 840, 912, 1008, 1080, 1176, 1248, 1344, 1512 и 1680 часов после введения дозы. Определяли концентрации всех H4N14708P2 или APE6155 в сыворотке крови с применением невалидированных твердофазных иммуноферментных анализов (ELISA). Способ разрабатывали для измерения общих концентраций человеческого IgG в сыворотке крови яванских макаков. Фармакокинетические параметры оценивали с применением некомпартментного анализа. Наблюдали, что H4N14708P2 оказывает воздействие, в приблизительно 1,3 раза превышающее воздействие APE6155 при дозировке 5 мг/кг, и воздействие, в приблизительно 1,2 раза превышающее воздействие APE6155 при дозировке 0,5 мг/кг. См. фигуру 4.

[00203] Все цитируемые в данном документе литературные источники включены посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, запись в базе данных (*например*, последовательности в Genbank или записи в GeneID), патентная заявка или патент были специально и индивидуально указаны как включенные посредством ссылки. Это заявление о включении посредством ссылки предусматривается заявителями для связи с каждой отдельной публикацией, записью в базе данных (*например*, последовательностями в Genbank или записями в GeneID), заявкой на патент или патентом, даже если такая ссылка непосредственно не упоминается рядом со специальным заявлением о включении посредством ссылки. Включение в настоящее описание специальных заявлений о включении посредством ссылки, если таковые имеются, никоим образом не ослабляет данное общее заявление о включении посредством ссылки. Цитирование ссылок в данном документе не является признанием того, что ссылка относится к предшествующему уровню техники, а также не означает признание содержания или даты этих публикаций или документов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенный антигенсвязывающий белок, который представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который

связывается с полипептидом, содержащим аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 227, по остаткам 113-119, 113-122, 116-119, 116-122, 264-271, 267-271, 268-271, 268-276, 268-277 и/или 271-276;

или

(i) специфически связывается с тем же эпитопом на IL36R, что и эталонное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент; или

(ii) конкурирует с эталонным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом за связывание с полипептидом IL36R,

где эталонное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат

(a) тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, которые содержат CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина или ее вариабельной области, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; или ее вариант; и/или

(b) легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, которые содержат CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина или ее вариабельной области, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226; или ее вариант.

2. Выделенный антигенсвязывающий белок, содержащий

(i) тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, которые содержат CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина или ее вариабельной области, которые содержат аминокислотную последовательность,

представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; или ее вариант; и/или

(ii) легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, которые содержат CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина или ее вариабельной области, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226; или ее вариант

3. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–2, содержащий

(a) тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и/или

(b) легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226.

4. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–3, содержащий

(a) тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина или ее вариабельной области, содержащих аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224 и характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с

аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224; и/или

(b) легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина или ее вариабельной области, содержащих аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226 и характеризующуюся по меньшей мере 90% идентичностью аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, представленной под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226.

5. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–4, содержащий тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, которые содержат

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 4, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 6, или ее вариант; и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 8, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 20, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22, или ее вариант; и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 24, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 36, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 38, или ее вариант; и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 40, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 52, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 54, или ее вариант; и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 56, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 68, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 70, или ее вариант; и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 72, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 84, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 86, или ее вариант; и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 88, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 100, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 102, или ее вариант; и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 104, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 116, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 118, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 120, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 132, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 134, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 136, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 140, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 142, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 144, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 156, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 158, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 160, или ее вариант,

и/или

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 172, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 174, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 176, или ее вариант,

и/или

легкую цепь иммуноглобулина или ее варибельную область, которые содержат

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность,
представленную под SEQ ID NO: 12, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под
SEQ ID NO: 14, или ее вариант; и
CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под
SEQ ID NO: 16, или ее вариант,

и/или

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность,
представленную под SEQ ID NO: 28, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под
SEQ ID NO: 30, или ее вариант; и
CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под
SEQ ID NO: 32, или ее вариант,

и/или

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность,
представленную под SEQ ID NO: 44, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под
SEQ ID NO: 46, или ее вариант; и
CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под
SEQ ID NO: 48, или ее вариант,

и/или

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность,
представленную под SEQ ID NO: 60, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под
SEQ ID NO: 62, или ее вариант; и
CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под
SEQ ID NO: 64, или ее вариант,

и/или

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 76, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 78, или ее вариант; и
CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 80, или ее вариант,

и/или

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 92, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 94, или ее вариант; и
CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 96, или ее вариант,

и/или

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 108, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 110, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 112, или ее вариант,

и/или

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 124, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 126, или ее вариант; и
CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 128, или ее вариант,

и/или

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 148, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 150, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 152, или ее вариант,

и/или

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 164, или ее вариант;
CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 166, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 168, или ее вариант.

6. Антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1–5, содержащие

(1)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 4, или ее вариант;
CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 6, или ее вариант; и
CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 8, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под

SEQ ID NO: 12, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 14, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 16, или ее вариант;

(2)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 20, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 22, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 24, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 28, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 30, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 32, или ее вариант;

(3)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 36, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 38, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 40, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 44, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 46, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 48, или ее вариант;

(4)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 52, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 54, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 56, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 60, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 62, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 64, или ее вариант;

(5)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 68, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 70, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 72, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 76, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 78, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 80, или ее вариант;

(6)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 84, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 86, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 88, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под

SEQ ID NO: 92, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 94, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 96, или ее вариант;

(7)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 100, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 102, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 104, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 108, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 110, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 112, или ее вариант;

(8)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 116, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 118, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 120, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 124, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 126, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 128, или ее вариант;

(9)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 132, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 134, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 136, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 124, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 126, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 128, или ее вариант;

(10)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 140, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 142, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 144, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 148, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 150, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 152, или ее вариант;

(11)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 156, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 158, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 160, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее переменную область, содержащие

CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под

SEQ ID NO: 164, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 166, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 168, или ее вариант;

или

(12)

тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 172, или ее вариант;

CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 174, или ее вариант;

и

CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 176, или ее вариант;

и

легкую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, содержащие CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 124, или ее вариант;

CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 126, или ее вариант;

и

CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 128, или ее вариант.

7. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–6, содержащий

(а) тяжелую цепь иммуноглобулина или ее вариабельную область, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO:

2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224, или ее вариант;

и/или

(b) легкую цепь иммуноглобулина или ее варируемую область, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226, или ее вариант.

8. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–7, содержащий

(a) варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, и варируемую область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 10;

(b) варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 18, и варируемую область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 26;

(c) варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 34, и варируемую область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 42;

(d) варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 50, и варируемую область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 58;

(e) варируемую область тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 66, и варируемую область легкой цепи иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 74;

9. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–8, где переменная область тяжелой цепи иммуноглобулина связана с константной областью тяжелой цепи IgG, IgG1 или IgG4, и переменная область легкой цепи иммуноглобулина связана с константной областью легкой цепи каппа или лямбда.

10. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–9, содержащий

(a) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 180, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 182;

(b) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 184, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 186;

(c) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 188, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 190;

(d) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 192, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 194;

(e) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 196, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 198;

(f) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 200, и легкую цепь

иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 202;

(g) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 204, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 206;

(h) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 208, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 210;

(i) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 212, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 214;

(j) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 216, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 218;

(k) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 220, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 222; и/или

(l) тяжелую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 224, и легкую цепь иммуноглобулина, которая содержит аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 226.

11. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–10, который представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

12. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–11, который является полиспецифическим.

13. Антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–12, который характеризуется одним или более из следующих свойств:

- связывается с человеческим IL36R (IL-1RL2) с K_D , составляющей от приблизительно 2,18 нМ до приблизительно 13,9 нМ при 25°C, или с K_D , составляющей от приблизительно 4,25 нМ до приблизительно 29,5 нМ при 37°C;
- связывается с IL36R *Macaca fascicularis* (IL-1RL2) с K_D , составляющей от приблизительно 7,87 нМ до приблизительно 34,4 нМ при 25°C, или с K_D , составляющей от приблизительно 14,4 нМ до приблизительно 58,2 нМ при 37°C;
- связывается с человеческим IL36R (IL-1RL2), слитым с мышинным IgG2a, с K_D , составляющей от приблизительно 173 пМ до приблизительно 5,79 нМ при 25°C, или с K_D , составляющей от приблизительно 205 пМ до приблизительно 28,7 нМ при 37°C;
- связывается с человеческим IL36R (IL-1RL2), слитым с внеклеточным доменом IL1RAcP, экспрессируемым с Fc-меткой мышинового IgG2a, с K_D , составляющей от приблизительно 212 пМ до приблизительно 14 нМ при 25°C, или с K_D , составляющей от приблизительно 264 пМ до приблизительно 40,9 нМ при 37°C;
- конкурирует с H4N14699P2; H4N14700P2; H4N14706P2; H4N14708P2; H4N14709P; H4N14728P; H4N14731P; H4N14732P2; H4N14734P2; H4N14757P; H4N14758P или H4N14760P2 за связывание с IL36R (IL-1RL2); необязательно при условии, что указанный антигенсвязывающий белок не представляет собой APE6155 или его антигенсвязывающий фрагмент;

- блокирует активацию одного или более элементов NFκB, которые слиты с репортерным геном, в клетке-хозяине, с помощью IL-36R (IL-1RL2) в присутствии IL-1RAcP и лиганда IL36R;
- обеспечивает предупреждение или облегчение воспаления кожи или уменьшение толщины кожи или общего показателя патологии, или снижение уровней провоспалительных цитокинов у субъекта, страдающего воспалением кожи;
- обеспечивает предупреждение или облегчение колита или воспаления толстой кишки или снижение фекальных уровней полипептида LCN2 у субъекта с таким колитом или воспалением
 - в случае связывания обеспечивает защиту остатков (a) 113-119, 113-122, 116-119 и/или 116-122; и/или (b) 264-271, 267-271, 268-271, 268-276, 268-277 и/или 271-276 человеческого IL36R (IL-1RL2), содержащего аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 227, от расщепления пепсином и/или протеазой XIII, и/или от дейтерирования в присутствии дейтерия;
 - связывается с IL36R (IL-1RL2), содержащим аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 227, по остаткам 113-119, 113-122, 116-119, 116-122, 264-271, 267-271, 268-271, 268-276, 268-277 и/или 271-276;
 - связывает домен II IL36R (IL-1RL2);
 - связывает полипептид, содержащий аминокислотную последовательность YKQILHLGKD (SEQ ID NO: 229) (аминокислоты 113-122 из SEQ ID NO: 227);
 - обеспечивает подавление IL36α, IL36β и/или IL36γ в эпидермальных кератиноцитах, миофибробластах кишечника и/или CD14+ моноцитах *in vitro* с IC₅₀, составляющей приблизительно 1-6 нМ; и/или
 - обеспечивает конкурентное подавление IL36α-, IL36β- и/или IL36γ-опосредованной активации NFκB с помощью IL36R.

14. Комплекс, содержащий антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–13, связанный с полипептидом IL36R.

15. Способ получения антигенсвязывающего белка по любому из пп. 1–14 или его цепи иммуноглобулина, включающий

(a) введение одного или более полинуклеотидов, кодирующих цепь иммуноглобулина указанного антигенсвязывающего белка, в клетку-хозяина;

(b) культивирование клетки-хозяина в среде в условиях, благоприятных для экспрессии полинуклеотида; и

(c) необязательно выделение антигенсвязывающего белка или цепи иммуноглобулина из клетки-хозяина и/или среды, в которой клетку-хозяина выращивают.

16. Способ по п. 15, где клетка-хозяин представляет собой клетку яичника китайского хомячка.

17. Антигенсвязывающий белок или цепь иммуноглобулина, которые представляют собой продукт способа по любому из пп. 15–16.

18. Полипептид, содержащий

(a) CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 тяжелой цепи иммуноглобулина или ее вариабельной области, которые содержат аминокислотную последовательность, представленную под SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 138, 154, 170, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208, 212, 216, 220 или 224, или ее вариант; и/или

(b) CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 легкой цепи иммуноглобулина или ее вариабельной области, которые содержат аминокислотную последовательность,

представленную под SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 146, 162, 182, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 214, 218, 222 или 226, или ее вариант;

или

(с) аминокислотную последовательность, представленную в представителе, выбранном из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-226, или ее вариант.

19. Полинуклеотид, кодирующий полипептид по п. 18.

20. Вектор, содержащий полинуклеотид по п. 19.

21. Клетка-хозяин, содержащая антигенсвязывающий белок, или цепь иммуноглобулина, или полипептид, или полинуклеотид, или вектор по любому из пп. 1–13, 17, 18, 19 или п. 20.

22. Композиция или набор, содержащие один или более антигенсвязывающих белков по любому из пп. 1–13 и п. 17, необязательно в сочетании с дополнительным терапевтическим средством.

23. Фармацевтическая композиция, содержащая антигенсвязывающий белок по любому из пп. 1–13 и п. 17 и фармацевтически приемлемый носитель, и необязательно дополнительное терапевтическое средство.

24. Композиция или набор по любому из пп. 22–23 в сочетании с дополнительным терапевтическим средством, которое представляет собой противовоспалительное средство.

25. Композиция или набор по любому из пп. 22–24, где дополнительное терапевтическое средство является представителем, выбранным из группы, состоящей из антитела к TNFальфа или его антигенсвязывающего фрагмента, одного или нескольких человеческих рецепторов TNF или их фрагментов, связанных с иммуноглобулином, ингибитора IL17, ингибитора IL23p19, ингибитора IL12p40, гуселкумаба, устекинумаба, бродалумаба, иксекизумаба, секукинумаба, инфликсимаба, адалимумаба, этанерцепта, дупилумаба, сарилумаба, тоцилизумаба, голимумаба, абатацепта, тофацитиниба, абатацепта, нестероидного противовоспалительного лекарственного средства (NSAID), ибупрофена, напроксена, ацетаминофена, аспирина, целекоксиба, циклофосамида, метотрексата, кортикостероида, кортизона и преднизона.

26. Емкость или устройство для инъекций, содержащие антигенсвязывающий белок или композицию по любому из пп. 1-13, 17 или пп. 22–25.

27. Способ лечения или предупреждения IL-36R-опосредованного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка по любому из пп. 1–13 или п. 17 необязательно в сочетании с дополнительным терапевтическим средством.

28. Способ лечения или предупреждения воспалительного нарушения, аутоиммунного нарушения, синдрома дефицита антагониста рецептора интерлейкина IL-36 (DITRA), герпетиформного импетиго, акродерматита, нейтрофильного пустулезного заболевания кожи, пустулезного заболевания, псориаза, генерализованного пустулезного псориаза, вульгарного псориаза, ладонно-подошвенного пустулезного псориаза, ладонно-подошвенного пустулеза, колита, воспаления дыхательных путей, воспаления сустава, воспаления почки,

очаговой алопеции, воспаления кожи, акантоза, гиперкератоза, синдрома Киндлер, системной красной волчанки (SLE), нефротического синдрома, видов ANCA (антитело к антигену цитоплазмы нейтрофилов)-ассоциированной васкулопатии, тубулоинтерстициальных поражений или гломерулонефрита, включающий введение терапевтически эффективного количества антигенсвязывающего белка по любому из пп. 1-13 или п. 17 необязательно в сочетании с дополнительным терапевтическим средством.

29. Способ по любому из пп. 27–28 для лечения или предупреждения псориаза или воспалительного заболевания кишечника.

30. Способ введения антигенсвязывающего белка по любому из пп. 1–13 или п. 17 в организм субъекта, включающий введение путем инъекции антигенсвязывающего белка в организм субъекта необязательно в сочетании с дополнительным терапевтическим средством.

31. Способ по п. 30, где антигенсвязывающий белок вводят путем инъекции в организм субъекта подкожно, внутривенно или внутримышечно.

32. Способ по любому из пп. 27–31, где субъект характеризуется генотипом с гомозиготной или гетерозиготной мутацией *IL36RN*.

H4H14706P2

REGN	VDJ	АМИНОКИСЛОТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНО ЗАРОДЫШЕВОГО ТИПА		
		FW	CDR	+/- 2 АМИНОКИСЛОТЫ ИЗ CDR
H4H14706P2	VH:IGHV3-9*01,D1-7*01,J4*02	2	5	2

IGHV3-9*01|D1-7*01|J4*02
H4H14706P2VH

10 20 30 40 50 60
 EVQLVESGGGLVQPGRSRLRSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIIGY
 EVQLVESGGGLVQPGRSRLRSCITASGFTFDDYAIHWVRQSPGKGLEWVSVISWNSDVIGY

70 80 90 100 110
 ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAKDYNNWNYFDYWGQGLVTVSS
 ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSRAEDTALYYCAKGYNNW-NFDYWGQGLVTVSS

REGN	VDJ	АМИНОКИСЛОТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНО ЗАРОДЫШЕВОГО ТИПА		
		FW	CDR	+/- 2 АМИНОКИСЛОТЫ ИЗ CDR
H4H14706P2	VL:IGKV3-11*01,IGKJ4*01	1	2	0

IGKV3-11*01|IGKJ4*01
H4H14706P2VK

10 20 30 40 50 60
 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPA
 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYNANRATDIPA

70 80 90 100
 RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK
 RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK

ФИГ. 1

H4H14708P2

REGN	VDJ	АМИНОКИСЛОТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНО ЗАРОДЫШЕВОГО ТИПА		
		FW	CDR	+/- 2 АМИНОКИСЛОТЫ ИЗ CDR
H4H14708P2	VH:IGHV3-9*01,D1-26*01,J4*02	3	11	2

IGHV3-9*01|D1-26*01|J4*02
 H4H14708P2VH

EVQLVESGGG	LVQPGRSLRLS	CAASGFTFDDYA	MHWVRQAPGK	GLEWVSG	ISWNSGS	I	GY
EVQLVESGGD	LVQPGRSLRLS	CAASGFTFDDYA	MHWVRQAPGK	GLEWVSV	ISWNSDV	L	AY

IGHV3-9*01|D1-26*01|J4*02
 H4H14708P2VH

DSVKGRFTISR	DNAKNSLYLQ	MNSLR	A	EDTALYYCA	K	DYSGSY	FDY	WGQGLVTV	SS
DSVKGRFTISR	DNAKNSLYLQ	MNSLR	T	EDTALYYC	T	GHK--	WSF	FDY	WGQGLVTV

REGN	VDJ	АМИНОКИСЛОТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНО ЗАРОДЫШЕВОГО ТИПА		
		FW	CDR	+/- 2 АМИНОКИСЛОТЫ ИЗ CDR
H4H14708P2	VL:IGKV3-11*01,IGKJ4*01	1	4	1

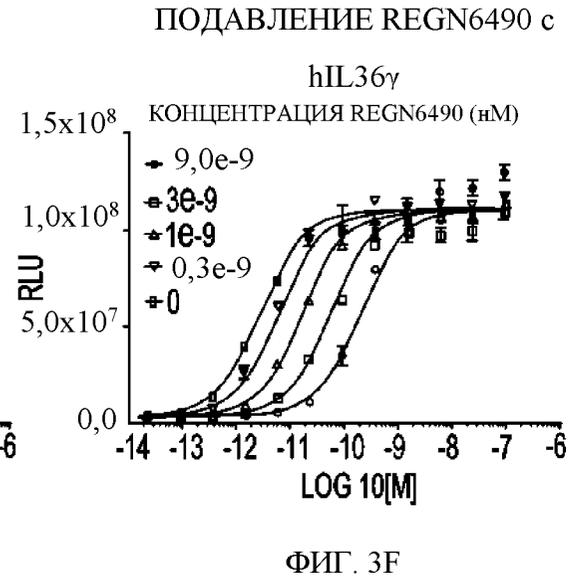
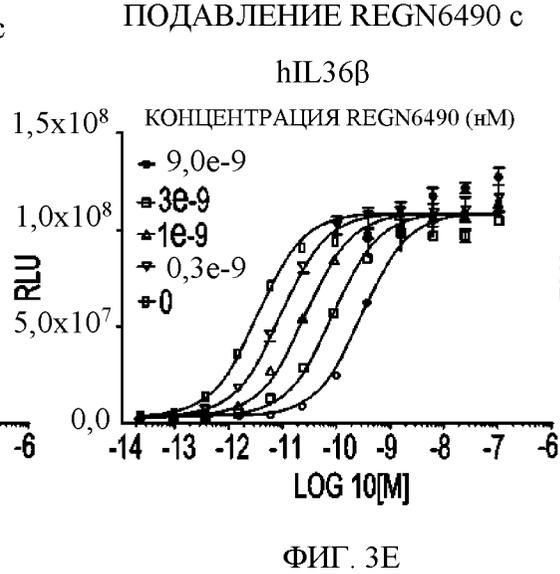
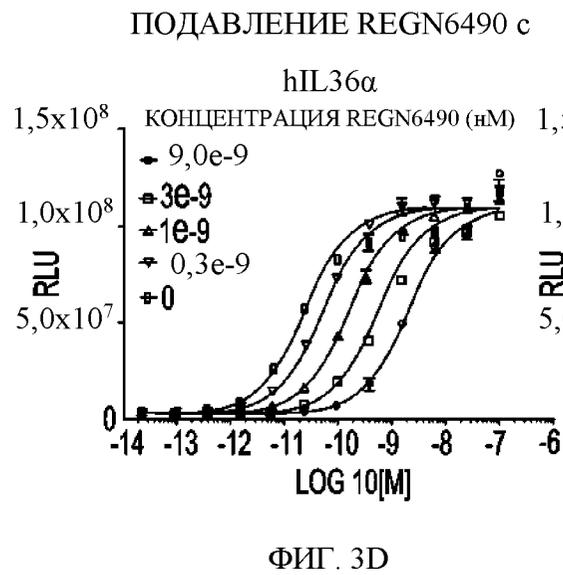
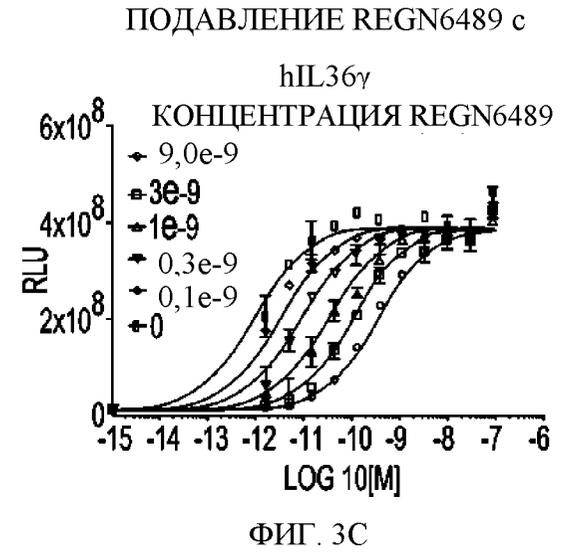
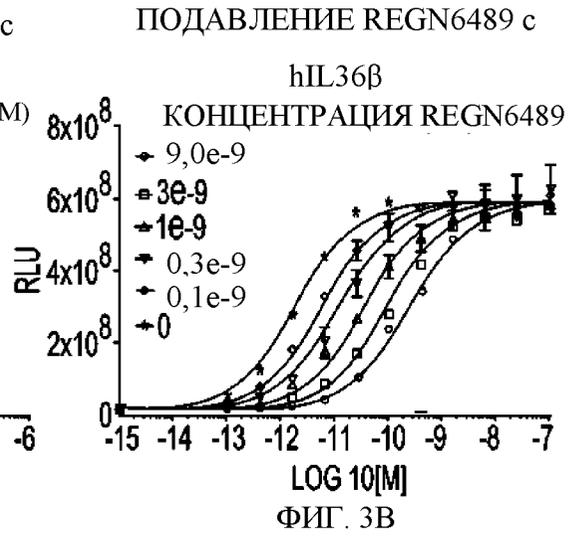
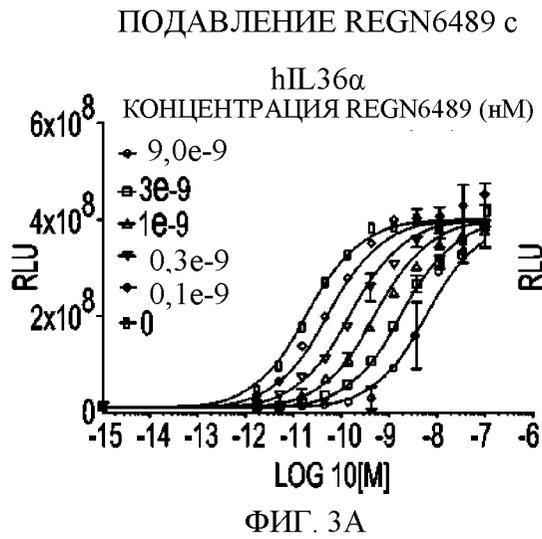
IGKV3-11*01|IGKJ4*01
 H4H14708P2VK

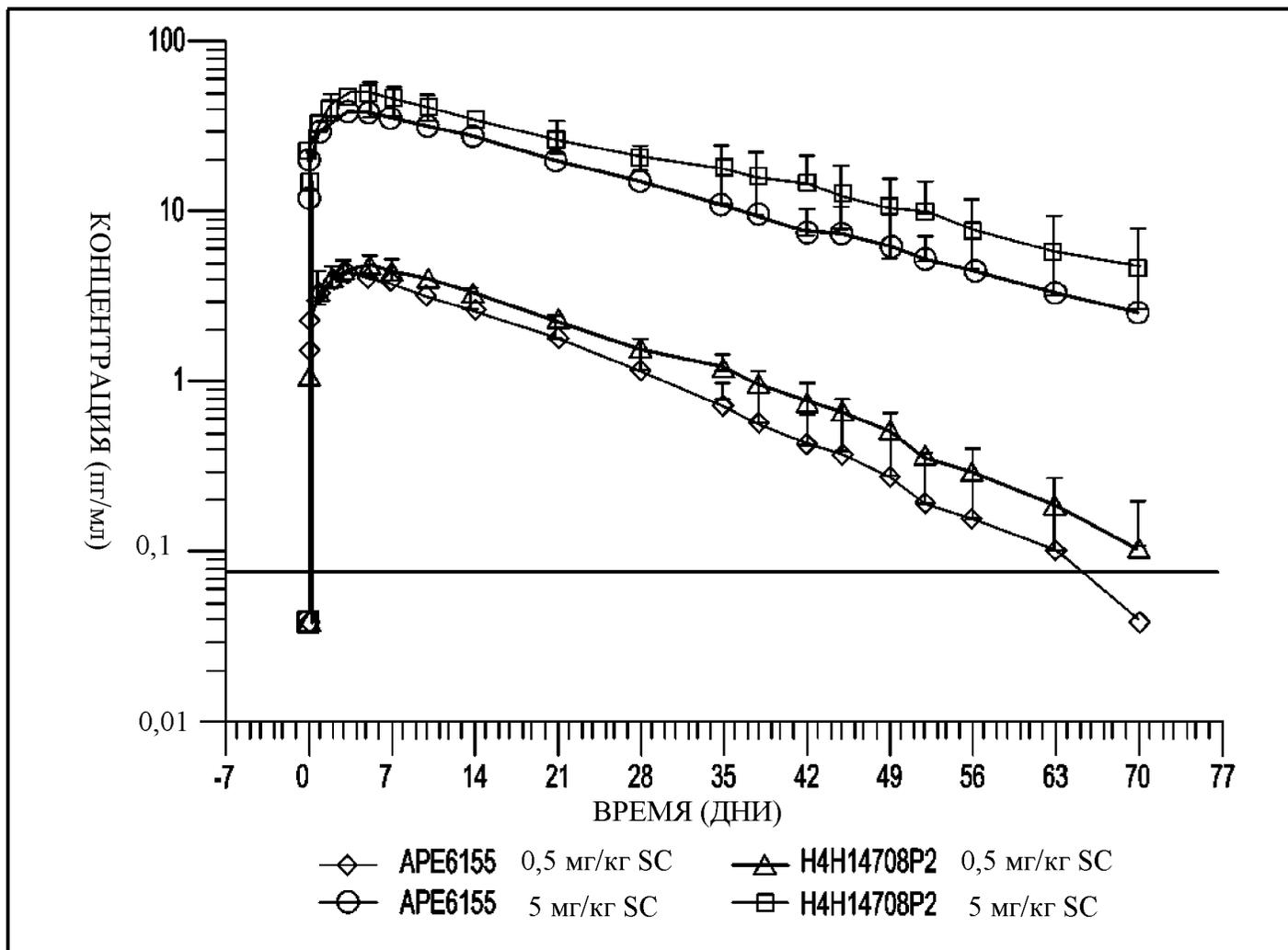
EIVLTQSPATLS	LSLSPGERATL	SCRASQSV	SSYLAWYQQK	PGQAPRLLIY	DAS	NRAT	G	I	P	A
EIVLTQSPATLS	LSLSPGERATL	SCRASQS	I	SSYLAWYQQK	PGQAPRLLI	F	NVA	NRAT	D	I

IGKV3-11*01|IGKJ4*01
 H4H14708P2VK

RFSGSGSGTDFTL	TISSLEPEDFA	VYYCQ	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K
RFSGSGSGTDFTL	TISSLEPEDFA	VYYCQ	Q	Q	R	S	N	W	P	L	T	F	G	G	G	T	K	V	E	I	K

ФИГ. 2





ФИГ. 4