

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202290697** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2022.10.25**

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

(22) Дата подачи заявки  
**2020.09.25**

---

(54) **АНТИТЕЛА ПРОТИВ ИЛ-27 И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

---

(31) **62/906,008; 63/081,705**

(32) **2019.09.25; 2020.09.22**

(33) **US**

(86) **PCT/US2020/052849**

(87) **WO 2021/062244 2021.04.01**

(71) Заявитель:  
**СЕФЕЙС ОНКОЛОДЖИ, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Странд Джейми, Хилл Джонатан,  
Мудли Деван (US)**

(74) Представитель:

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

---

(57) Данное изобретение относится к антителам против ИЛ-27 и их антигенсвязывающим частям. Данное изобретение также относится к способам лечения или облегчения одного или большего числа симптомов заболевания, такого как онкологическое заболевание, путем введения указанных антител или их антигенсвязывающих частей. Данное изобретение также относится к способам обнаружения ИЛ-27, например, у субъекта или в образце.

**202290697**  
**A1**

**202290697**

**A1**

## **АНТИТЕЛА ПРОТИВ ИЛ-27 И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

### **ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ ПОСРЕДСТВОМ EFS-WEB**

[0001] Содержимое представленного в электронном виде перечня последовательностей в текстовом файле ASCII (с названием «4416\_009PC02\_Seqlisting\_ST25.txt»; размер: 156863 байта; дата создания: 25 сентября 2020 года), поданном вместе с данной заявкой, включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

### **ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

[0002] Данная заявка испрашивает приоритет относительно предварительной заявки на патент США №62/906008, поданной 25 сентября 2019 года, и предварительной заявки на патент США №63/081705, поданной 22 сентября 2020 года, содержимое которых включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0003] Данное изобретение в целом относится к композициям и способам модулирования передачи сигналов, связанных с ИЛ-27. Более конкретно, данное изобретение относится к иммуногенным композициям (например, антителам, фрагментам антител и т. п.), которые связываются с ИЛ-27 и модулируют передачу сигналов по каскаду от ИЛ-27.

### **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0004] В последние годы появляется все больше доказательств того, что иммунная система действует как значимый барьер, предотвращающий образование и прогрессирование опухолей. Принцип, согласно которому в организме пациентов с онкологическими заболеваниями существуют природные Т-клетки с противоопухолевым потенциалом или активностью, положил начало разработке иммунотерапевтических подходов в онкологии. Иммунные клетки, такие как Т-клетки, макрофаги и естественные клетки-киллеры, могут проявлять противоопухолевую активность и эффективно контролировать возникновение и рост злокачественных опухолей. Опухолеспецифические или ассоциированные с опухолью антигены могут индуцировать иммунные клетки к распознаванию и уничтожению злокачественных новообразований (Chen & Mellman, (2013) *Immunity* 39 (1): 1 - 10). Несмотря на наличие опухолеспецифического иммунного ответа, злокачественные опухоли часто избегают или ускользают от иммунной атаки с помощью различных иммуномодулирующих механизмов, что приводит к неспособности контролировать возникновение и прогрессирование опухоли (Motz & Coukos, (2013) *Immunity* 39 (1): 61 - 730). Действительно, новым отличительным признаком рака является использование таких иммуномодулирующих механизмов и выведение из строя противоопухолевого иммунного ответа, что приводит к уклонению опухоли от иммунологического уничтожения (Hanahan and Weinberg (2011) *Cell* 144 (5): 646 - 674).

[0005] ИЛ-27 представляет собой гетеродимерный цитокин, состоящий из двух субъединиц (ЕВ13 и ИЛ-27р28). ИЛ-27 структурно связан как с семействами цитокинов ИЛ-12, так и с ИЛ-6. ИЛ-27 связывается и опосредует передачу сигналов через гетеродимерный рецептор, состоящий из цепей ИЛ-27Ра (WSX1) и gp130, которые опосредуют передачу сигналов преимущественно через STAT1 и STAT3. В первых публикациях ИЛ-27 характеризовался как иммуностимулирующий цитокин, который поддерживает пролиферацию CD4+ Т-клеток, дифференцировку Т-хелперов (Th)1 и выработку ИФН- $\gamma$ , часто действуя совместно с ИЛ-12. Последующие исследования показали, что ИЛ-27 проявляет сложные

иммуномодулирующие функции, что приводит либо к провоспалительным, либо к противовоспалительным эффектам в зависимости от биологического контекста и используемых экспериментальных моделей. ИЛ-27 может управлять экспрессией различных иммунорегуляторных молекул в раковых клетках человека, что может способствовать локальному нарушению иммунного ответа *in vivo* (Fabbi et al., (2017) Mediators Inflamm 3958069; опубликовано в сети Интернет 1 февраля 2017 г., doi:10.1155/2017/3958069; и содержащийся в указанной публикации список литературы).

[0006] Несмотря на значительные успехи, достигнутые в лечении и поддерживающей терапии для пациентов с онкологическими заболеваниями, по-прежнему существует постоянная потребность в новых и эффективных способах лечения и поддерживающей терапии при онкологических заболеваниях.

#### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0007] В данном документе представлены антитела или их антигенсвязывающие части, которые являются антагонистами ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из следующих аминокислот: (i) аминокислот с 37 по 56 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28); (ii) аминокислот с 142 по 164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28); или (iii) как (i), так и (ii). В некоторых аспектах данного изобретения антитело или его антигенсвязывающая часть специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 или Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

[0008] В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Asp146, Arg149 и (или) Phe153 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения эпитоп дополнительно содержит His150 и (или) Leu156 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения эпитоп дополнительно содержит Gln37, Leu38, Glu42, Leu142 и (или) Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения эпитоп дополнительно содержит Glu46, Val49, Ser50 и (или) Leu162 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения эпитоп дополнительно содержит одну или большее число аминокислот Leu53, Lys56, Asp143, Arg145, Leu147, Arg152, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161 или Pro163 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

[0009] В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, состоящим или по существу состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

[0010] В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, состоящим или по существу состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

[0011] В других аспектах данного изобретения антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из: (i)

последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 9, 10 и 11, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: , 18 и 19, соответственно; (ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 31, 32 и 33, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 39, 40 и 41, соответственно; (iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 53, 54 и 55, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 61, 62 и 63, соответственно; (iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 75, 76 и 77, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 83, 84 и 85, соответственно; (v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 97, 98 и 99, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 105, 106 и 107, соответственно; или (vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 119, 120 и 121, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно.

**[0012]** В других аспектах данного изобретения антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из: (i) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 12, 13 и 14, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 20, 21 и 22, соответственно; (ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 34, 35 и 36, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 42, 43 и 44, соответственно; (iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 56, 57 и 58, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 64, 65 и 66, соответственно; (iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 78, 79 и 80, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 86, 87 и 88, соответственно; (v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 100, 101 и 102, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 108, 109 и 110, соответственно; или (vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 122, 123 и 124, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

**[0013]** В некоторых аспектах данного изобретения CDR1 тяжелой цепи антитела или его антигенсвязывающая часть не состоит из N-GFTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]-C (SEQ ID NO: 144) и (или) CDR2 тяжелой цепи не состоит из N-ISSS[S/G][S/A]YI-C (SEQ ID NO: 146). В некоторых аспектах данного изобретения CDR1 тяжелой цепи антитела или его антигенсвязывающая часть не состоит из N-FTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]MN-C (SEQ ID NO: 148) и (или) CDR2 тяжелой цепи не состоит из N-[G/S]ISSS[S/G][S/A]YI[L/Y]YADSVKGG-C (SEQ ID NO: 149).

**[0014]** В других аспектах данного изобретения антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152,

Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28) не содержат: (i) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-ISSSXXYI-C (SEQ ID NO: 147), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 121; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно; или (ii) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-FTFXXXXMN-C (SEQ ID NO: 150), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-XISSSXXYIXYADSVKG-C (SEQ ID NO: 151), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 124; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

**[0015]** В других аспектах данного изобретения антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28) не содержат: CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-IXXXXXXX-C (SEQ ID NO: 152), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, состоящую из N-AR[X]<sub>n=6-15</sub>DX-C (SEQ ID NO: 153); и CDR1 легкой цепи, состоящую из N-QS[X]<sub>n=1-3</sub>SS[X]<sub>n=0-4</sub>Y-C (SEQ ID NO: 154), CDR2 легкой цепи, состоящую из N-XXS-C (SEQ ID NO: 155), и последовательность CDR3 легкой цепи, состоящую из N-QQXXXXP[X]<sub>n=0-1</sub>T-C (SEQ ID NO: 156), соответственно.

**[0016]** В данном документе представлены антитела или их антигенсвязывающие части, которые проявляют по меньшей мере одно или большее число из следующих свойств: (i) связываются с ИЛ-27 человека с равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ), равной 15 нМ или меньше; (ii) блокируют связывание ИЛ-27 с рецептором ИЛ-27; (iii) ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке; (iv) ингибируют или снижают опосредованное ИЛ-27 ингибирование экспрессии CD161 в клетке; (v) ингибируют или снижают опосредованную ИЛ-27 экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке; и (vi) индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки.

**[0017]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть связываются с ИЛ-27 человека с равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ), равной 15 нМ или меньше.

**[0018]** В других аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке. В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке иммунной системы или в раковой клетке.

**[0019]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке. В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке иммунной системы.

**[0020]** В других аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке. В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке иммунной системы или в раковой клетке. В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 в раковой клетке.

[0021] В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть индуцируют или усиливают опосредованную PD1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число цитокинов представляют собой ИФН-гамма (ИФН- $\gamma$ ), ИЛ-17, ФНО-альфа (ФНО- $\alpha$ ) или ИЛ-6. В некоторых аспектах данного изобретения антитело или его антигенсвязывающая часть выбраны из группы, состоящей из антител IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE. В других аспектах данного изобретения антитело или его антигенсвязывающая часть представляют собой антитело IgG1 или антитело IgG4. В некоторых аспектах данного изобретения антитело или его антигенсвязывающая часть содержат домен Fc, содержащий по меньшей мере одну мутацию. Также в данном документе представлены фармацевтические композиции, содержащие любое из описанных выделенных антител или их антигенсвязывающих частей и фармацевтически приемлемый носитель. Также представлены нуклеиновые кислоты, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь, тяжелую цепь или как легкую, так и тяжелую цепи указанного выделенного антитела, или его антигенсвязывающую часть. В данном документе представлен вектор экспрессии, содержащий указанную нуклеиновую кислоту. Также представлена клетка, трансформированная указанным вектором экспрессии.

[0022] В данном изобретении также представлены способы получения антитела, которое специфически связывает ИЛ-27 человека, или его антигенсвязывающей части, включающие в себя культивирование клетки, трансформированной указанным вектором экспрессии, в условиях, обеспечивающих экспрессию указанного антитела или его антигенсвязывающей части. В некоторых аспектах данного изобретения указанный способ дополнительно включает в себя получение антитела или его антигенсвязывающей части.

[0023] В данном документе представлен способ ингибирования или снижения фосфорилирования STAT1 и (или) STAT3 в клетке, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с указанным антителом или его антигенсвязывающей частью, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке.

[0024] Также представлен способ ингибирования или снижения ингибирования экспрессии CD161 в клетке, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с указанным антителом или его антигенсвязывающей частью, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке.

[0025] Также представлен способ ингибирования или снижения экспрессии PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с указанным антителом или его антигенсвязывающей частью, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке.

[0026] Также представлен способ индукции или усиления секреции одного или большего числа цитокинов из клетки, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с указанным антителом или его антигенсвязывающей частью, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки.

[0027] Также представлен способ стимуляции иммунного ответа у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела, представленного в данном документе, или антигенсвязывающего фрагмента указанного антитела, или фармацевтической композиции, представленной в данном документе.

[0028] Также представлен способ лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела, представленного в данном

документе, или антигенсвязывающего фрагмента указанного антитела, или фармацевтической композиции, представленной в данном документе.

**[0029]** В данном документе представлен способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта. Указанный способ включает в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела, представленного в данном документе, или антигенсвязывающей части указанного антитела, или фармацевтической композиции, представленной в данном документе, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке, тем самым стимулируя иммунный ответ или осуществляя лечение онкологического заболевания.

**[0030]** Также представлен способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта. Указанный способ включает в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела, представленного в данном документе, или антигенсвязывающей части указанного антитела, или фармацевтической композиции, представленной в данном документе, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке, тем самым стимулируя иммунный ответ или осуществляя лечение онкологического заболевания.

**[0031]** Также представлен способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта. Указанный способ включает в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела, представленного в данном документе, или антигенсвязывающей части указанного антитела, или фармацевтической композиции, представленной в данном документе, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 на клетке, тем самым стимулируя иммунный ответ или осуществляя лечение онкологического заболевания.

**[0032]** Также представлен способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта. Указанный способ включает в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела, представленного в данном документе, или антигенсвязывающей части указанного антитела, или фармацевтической композиции, представленной в данном документе, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки, тем самым стимулируя иммунный ответ или осуществляя лечение онкологического заболевания.

**[0033]** В некоторых аспектах данного изобретения онкологическое заболевание, которое лечат указанным способом, выбрано из рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого), саркомы, рака яичка, рака яичника, рака поджелудочной железы, рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы), меланомы, онкологического заболевания головы и шеи (например, плоскоклеточного рака головы и шеи), колоректального рака, рака мочевого пузыря, рака эндометрия, рака предстательной железы, рака щитовидной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака желудка, рака головного мозга, лимфомы (например, диффузной В-крупноклеточной лимфомы – ДВКЛ, англ. «DL-BCL»), лейкоза (например, острого миелобластного лейкоза – ОМЛ, англ. «AML») или рака почки (например, почечно-клеточной карциномы, например, светлоклеточной почечно-клеточной карциномы).

**[0034]** В данном документе представлен способ усиления одной или большего числа функций антитела против PD-1 (например, усиление опосредованной PD-1 секреции цитокинов; усиление опосредованной антителом против PD-1 секреции ФНО- $\alpha$ ; усиление опосредованной антителом против PD-1 секреции ИЛ-6

из клетки, подвергшейся воздействию антителами против PD-1). Указанный способ включает в себя воздействие на клетку представленным в данном документе антителом или его антигенсвязывающей частью одновременно с воздействием антителом против PD-1 или последовательно с ним, тем самым усиливая указанные одну или большее число функций антител против PD-1.

**[0035]** Также представлена фармацевтическая композиция, содержащая антитело против PD-1, представленное в данном документе антитело или его антигенсвязывающую часть и фармацевтически приемлемый носитель.

**[0036]** Также представлен набор, содержащий антитело против PD-1 и представленное в данном документе антитело или его антигенсвязывающую часть, для одновременного или последовательного введения, и инструкции по его применению.

**[0037]** В данном документе описаны все из представленных в данном документе способов стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания, при этом выделенное антитело, представленное в данном документе, или его антигенсвязывающую часть вводят в комбинации с одним или большим числом дополнительных терапевтических агентов или процедур. Указанные второй терапевтический агент или процедура выбраны из группы, состоящей из: химиотерапии, нацеленной противораковой терапии, онколитического препарата, цитотоксического агента, иммунной терапии, цитокина, хирургической процедуры, лучевой процедуры, активатора костимулирующей молекулы, ингибитора ингибиторной молекулы, вакцины или клеточной иммунотерапии, или их комбинации. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист PD-1, ингибитор PD-L1, ингибитор TIM-3, ингибитор LAG-3, ингибитор TIGIT, ингибитор CD112R, ингибитор TAM, агонист STING, агонист 4-1BB, ингибитор тирозинкиназы, агент, нацеленный на аденозиновую ось (например, антагонист CD39, антагонист CD73, антагонист A2AR или антагонист A2BR, или двойной антагонист A2AR/A2BR), антагонист CCR8, антагонист CTLA4, ингибитор VEG-F, или их комбинацию. В других аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист PD-1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 выбран из группы, состоящей из: PDR001, ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 и AMP-224. В некоторых аспектах данного изобретения указанный ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из: FAZ053, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба и BMS-936559. В других аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов выбраны из группы, состоящей из: сунитиниба (SUTENT®), кабозантиниба (CABOMETYX®), акситиниба (INLYTA®), ленватиниба (LENVIMA®), эверолимуса (AFINITOR®), бевацизумаба (AVASTIN®), эпакадостата, NKTR-214 (агонист смещенной активности к CD-122), тивозаниба (FOTIVDA®), абексिनостата, ипилимумаба (YERVOY®), тремелиумаба, пазопаниба (VOTRIENT®), сорафениба (NEXAVAR®), темсиролимуса (TORISEL®), рамуцирумаба (CYRAMZA®), нирапариба, саволитиниба, вороланиба (X-82), регорафениба (STIVARGO®), донафениба (мультикиназный ингибитор), камрелизумаба (SHR-1210), пексастимогена девацирепвека (JX-594), рамуцирумаба (Cytamza®), апатиниба (YN968D1), инкапсулированного доксорубина (THERMODOX®), тивантиниба (ARQ197), ADI-PEG 20, биниметиниба, апатиниба мезилата, нинтеданиба, лирилумаба, ниволумаба (OPDIVO®), пембролизумаба (KEYTRUDA®), атезолизумаба (TECENTRIQ®), авелумаба (BAVENCIO®), дурвалумаба (IMFIMZI®), цемиплимаба-gwlc (LIBTAYO®), тислелизумаба и спартализумаба. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор TIM-3, необязательно при этом указанный ингибитор TIM-3 представляет

собой MGB453 или TSR-022. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор LAG-3, необязательно при этом указанный ингибитор LAG-3 выбран из группы, состоящей из LAG525, BMS-986016 и TSR-033. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор TIGIT. В других аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор CD112R. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор TAM (Axl, Mer, Tugo). В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой агонист 4-1BB. В других аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор тирозинкиназы (ИТК, англ. «TKI»). В некоторых аспектах данного изобретения ИТК выбран из иматиниба, дазатиниба, нилотиниба, бозутиниба или понатиниба. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных агентов представляют собой агент, нацеленный на аденозиновую ось. В некоторых аспектах данного изобретения указанный агент, нацеленный на аденозиновую ось, выбран из антагониста CD39, антагониста CD73, антагониста A2AR, антагониста A2BR или двойного антагониста A2AR/A2BR. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист CD39. Примеры антагонистов CD39 включают в себя те, которые описаны в патенте США № US2019/0284295 (Surface Oncology, Inc.), который включен в данный документ посредством ссылки. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист CD73. Примеры антагонистов CD73 включают в себя низкомолекулярные ингибиторы CD73, такие как AB421 (Arcus), антитело против CD73 или его антигенсвязывающая часть, которые связываются с CD73, например, MEDI9447 (Medimmune), BMS-986179 (Bristol Meyers Squibb), или такие, как описано в патенте США № US2018/0009899 (Corvus), который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист A2AR, антагонист A2BR или двойной антагонист A2AR/A2BR. Примеры антагонистов A2AR, A2BR и двойных антагонистов A2AR/A2BR включают в себя преладенант/SCH 420814 (Merck/Schering, регистрационный номер CAS: 377727-87-2), который описан в работе Hodgson et al., (2009) J Pharmacol Exp Ther 330 (1): 294 - 303, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; ST-4206 (Leadiant Biosciences), который описан в патенте США № 9133197, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; KW-6356 (Kyowa Hakko Kogyo), тозаданант/SYN-115 (Acorda), истрадефиллин/KW-6002 (Kyowa Hakko Kogyo, регистрационный номер CAS: 155270-99-8), который описан в работе LeWitt et al., (2008) Ann Neurol 63 (3): 295 - 302, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; теofilлин (регистрационный номер CAS: 58-55-9), NIR178 (Novartis); AB928 (Arcus Biosciences), GBV-2034 (Globavir), випаденант (Redox/Juno), AZD4635/HTL-1071 (AstraZeneca/Heptares), который описан в патентном документе WO2011/095625 и включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; CPI-444/V81444 (Corvus/Genentech), который описан в патентном документе WO 2009/156737 и включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; PBF509 (Palobiofarma/Novartis), который описан в патенте США № US 8796284 и в патентном документе WO 2017/025918, которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; антагонисты A2AR, описанные в патентах США № US8114845, № US9029393, № US20170015758 или № US20160129108, которые включены в данный

документ посредством ссылки во всей своей полноте; и ATL-444, MSX-3, SCH-58261, SCH-412,348, SCH-442,416, VER-6623, VER-6947, VER-7835, CGS-15943 или ZM-241,385. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист CCR8. В некоторых аспектах данного изобретения антагонист CCR8 выбран из малой молекулы и антитела. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист CTLA4. В некоторых аспектах данного изобретения антагонист CTLA4 выбран из группы, состоящей из следующего: Yervoy® (ипилимумаб или антитело 10D1, описанные в патентной публикации PCT WO 01/14424), тремелимумаб (ранее – тицилимумаб, CP-675,206), моноклональное антитело или антитело против CTLA-4, описанное в любой из следующих публикаций: WO 98/42752; WO 00/37504; патент США № 6207156; Hurwitz et al. (1998) Pro. Natl. Acad. Sci. USA 95 (17): 10067 - 10071; Camacho et al. (2004) J. Clin. Oncology 22 (145): антитело № 2505 (антитело CP-675206); и Mokyr et al. (1998) Cancer Res. 58: 5301 - 5304. Также можно применять любое из антител против CTLA-4, описанных в патентном документе WO2013/173223. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор VEG-F. В некоторых аспектах данного изобретения ингибитор VEG-F выбран из кабозантиниба, паопаниба, бевацизумаба, сунитиниба, акситиниба, ленвантиниба, сорафениба, регорафениба, понатиниба, кабозантиниба, вандетаниба, рамуцирумаба или бевацизумаба.

**[0038]** В данном документе представлено применение антитела, представленного в данном документе, или антигенсвязывающей части указанного антитела, или фармацевтической композиции, представленной в данном документе, для стимуляции иммунного ответа у субъекта или для лечения онкологического заболевания у субъекта, необязательно – для применения в комбинации с одним или большим числом дополнительных терапевтических агентов или процедур.

**[0039]** Также представлен набор, содержащий антитело, представленное в данном документе, или антигенсвязывающую часть указанного антитела, или фармацевтическую композицию, представленную в данном документе, и инструкции по применению для стимуляции иммунного ответа у субъекта или для лечения онкологического заболевания у субъекта, необязательно – с инструкциями по применению в комбинации с одним или большим числом дополнительных терапевтических агентов или процедур.

**[0040]** Также представлен набор, содержащий антитело, представленное в данном документе, или антигенсвязывающую часть указанного антитела, и инструкции по применению для выявления ИЛ-27 в образце, взятом у субъекта, необязательно – с инструкциями по применению для выявления ИЛ-27-ассоциированного онкологического заболевания у субъекта.

#### **Определения**

**[0041]** Термины, употребляемые в формуле данного изобретения и в описании данного изобретения, определяются так, как изложено ниже, если не указано иное.

**[0042]** Следует отметить, что при употреблении в контексте описания данного изобретения и в приложенной формуле данного изобретения единственное число включает в себя ссылку на множественное число, если из контекста явным образом не следует иное.

**[0043]** При употреблении в контексте данного документа термин «около» будет понятен рядовым специалистам в данной области техники и будет варьировать в некоторой степени в зависимости от контекста, в котором он употребляется. В случаях употребления указанного термина, не понятных для рядовых специалистов в данной области техники в контексте, в котором он употребляется, термин «около» будет означать до плюс-минус 10% от конкретного значения.

**[0044]** При употреблении в контексте данного документа термин «агонист» относится к любой молекуле, которая частично или полностью способствует, индуцирует, увеличивает и (или) активирует биологическую активность нативного полипептида, описанного в данном документе. Подходящие молекулы-агонисты, в частности, включают в себя антитела-агонисты или фрагменты таких антител, фрагменты или варианты аминокислотной последовательности нативных полипептидов, пептидов или белков. В некоторых аспектах данного изобретения активация в присутствии агониста имеет дозозависимый характер. В некоторых аспектах данного изобретения измеряемый сигнал (например, показатель биологической активности) по меньшей мере на около 5%, по меньшей мере на около 10%, по меньшей мере на около 15%, по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 25%, по меньшей мере на около 30%, по меньшей мере на около 35%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 45%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 55%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 65%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95% или по меньшей мере на около 100% превышает сигнал, измеренный в образце отрицательного контроля при сопоставимых условиях. Также в данном документе представлены способы идентификации агонистов, пригодных для применения в способах согласно данному изобретению. Например, такие способы включают в себя, но не ограничиваются ими, анализы связывания, такие как твердофазный иммуноферментный анализ (ТИФА, англ. «ELISA»), системы FORTE BIO® и радиоиммуноанализ (РИА, англ. «RIA»). Такие анализы определяют способность агониста связывать полипептид, представляющий интерес (например, рецептор или лиганд), и, следовательно, указывают на способность такого агониста стимулировать, повышать или активировать активность указанного полипептида. Эффективность агониста также можно определить с помощью функциональных анализов, таких как анализы на предмет способности агониста активировать или стимулировать функцию данного полипептида. Например, функциональный анализ может включать в себя приведение полипептида в контакт с молекулой – потенциальным агонистом и измерение обнаруживаемого изменения одной или большего числа биологических активностей, обычно ассоциированных с указанным полипептидом. Активность агониста обычно определяют по его значению  $EC_{50}$  (концентрация, необходимая для активации 50% ответа агониста). Чем ниже значение  $EC_{50}$ , тем выше активность агониста и тем ниже концентрация, необходимая для активации максимального биологического ответа.

**[0045]** При употреблении в контексте данного документа термин «аланиновое сканирование» относится к методике, используемой для определения вклада конкретного остатка дикого типа в стабильность или функцию (функции) (например, аффинность связывания) данного белка или полипептида. Указанная методика включает в себя замену в полипептиде остатка дикого типа на остаток аланина с последующей оценкой стабильности или функции (функций) (например, аффинности связывания) аланин-замещенного производного или мутантного полипептида и сравнением с полипептидом дикого типа. Методики замены остатка дикого типа в полипептиде на аланин известны в данной области техники.

**[0046]** Термин «облегчение» относится к любому терапевтически благоприятному результату лечения болезненного состояния, например, онкологического заболевания, включая профилактику, уменьшение тяжести или замедление прогрессирования, ремиссию или излечение указанного болезненного состояния.

**[0047]** При употреблении в контексте данного документа термин «аминокислота» относится к встречающимся в природе и синтетическим аминокислотам, а также аналогам аминокислот и миметиков аминокислот, которые функционируют подобно встречающимся в природе аминокислотам. Встречающиеся в природе аминокислоты представляют собой те аминокислоты, которые кодируются генетическим кодом, а

также аминокислоты, которые в последствии модифицированы, например, гидроксипролин,  $\gamma$ -карбоксиглутамат и О-фосфосерин. Термин «аналоги аминокислот» относится к соединениям, которые имеют базовую химическую структуру, идентичную таковой у встречающейся в природе аминокислоты, т. е. углерод, который связан с водородом, карбоксильную группу, аминную группу и R-группу, например, гомосерин, норлейцин, метионинсульфоксид, метионинметилсульфоний. Такие аналоги имеют модифицированные R-группы (например, норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохраняют такую же базовую химическую структуру, что и встречающаяся в природе аминокислота. Термин «миметики аминокислот» обозначает химические соединения, которые имеют структуру, отличающуюся от общей химической структуры аминокислоты, но функционируют подобно встречающейся в природе аминокислоте.

**[0048]** Аминокислоты могут обозначаться в данном документе либо с помощью общепринятых трехбуквенных кодов, либо с помощью однобуквенных кодов, рекомендованных Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB. Аналогичным образом, нуклеотиды могут обозначаться с помощью общепринятых однобуквенных кодов.

**[0049]** При употреблении в контексте данного документа термин «аминокислотная замена» относится к замене по меньшей мере одного существующего аминокислотного остатка в заданной аминокислотной последовательности (аминокислотной последовательности исходного полипептида) другим, отличным от него «замещающим» аминокислотным остатком. Термин «аминокислотная вставка» относится к включению по меньшей мере одной дополнительной аминокислоты в заданную аминокислотную последовательность. Хотя вставка обычно будет состоять из вставки одного или двух аминокислотных остатков, также могут быть сделаны более крупные «пептидные вставки», например, вставка от около трех до около пяти или даже до около десяти, пятнадцати или двадцати аминокислотных остатков. Встроенный остаток может быть встречающимся в природе или не встречающимся в природе, как описано выше. Термин «аминокислотная делеция» относится к удалению по меньшей мере одного аминокислотного остатка из заданной аминокислотной последовательности.

**[0050]** При употреблении в контексте данного документа термин «количество» или «уровень» используется в самом широком смысле и относится к количеству, концентрации или содержанию соединения (например, метаболита, малой молекулы, белка, мРНК, маркера). Когда речь идет о метаболите или малой молекуле (например, лекарственном средстве), термины «количество», «уровень» и «концентрация» обычно используются взаимозаменяемо и обычно относятся к поддающемуся обнаружению количеству в биологическом образце. Термины «повышенные уровни» или «увеличенные уровни» относятся к увеличению количества, концентрации или содержания соединения в образце по сравнению с контрольным образцом, например, у индивидуума или индивидуумов, не страдающих данным заболеванием или нарушением (например, онкологическим заболеванием), или по сравнению с внутренним контролем. В некоторых аспектах данного изобретения повышенный уровень соединения (например, лекарственного средства) в образце относится к увеличению количества указанного соединения на около 5%, на около 10%, на около 15%, на около 20%, на около 25%, на около 30%, на около 35%, на около 40%, на около 45%, на около 50%, на около 55%, на около 60%, на около 65%, на около 70%, на около 75%, на около 80%, на около 85%, на около 90%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98%, на около 99% или на около 100% по сравнению с количеством указанного соединения в контрольном образце, как определено с помощью методик, известных в данной области техники (например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии – ВЭЖХ). Термин «сниженный уровень» относится к уменьшению количества, концентрации

или содержания соединения (например, лекарственного средства) у индивидуума по сравнению с контролем, например, у индивидуума или индивидуумов, не страдающих данным заболеванием или нарушением (например, онкологическим заболеванием), или по сравнению с внутренним контролем. В некоторых аспектах данного изобретения сниженный уровень представляет собой малое или не поддающееся обнаружению количество, концентрацию или содержание. В некоторых аспектах данного изобретения сниженный уровень соединения (например, лекарственного средства) в образце относится к снижению количества указанного соединения на около 5%, на около 10%, на около 15%, на около 20%, на около 25%, на около 30%, на около 35%, на около 40%, на около 45%, на около 50%, на около 55%, на около 60%, на около 65%, на около 70%, на около 75%, на около 80%, на около 85%, на около 90%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98%, на около 99% или на около 100% по сравнению с количеством указанного соединения в контрольном образце, как определено с помощью методик, известных в данной области техники (например, с помощью ВЭЖХ).

**[0051]** Когда речь идет о белке, мРНК или маркере, таких как описанные в данном документе, термины «уровень экспрессии» или «экспрессионный уровень» в целом употребляются взаимозаменяемо и обычно относятся к поддающемуся выявлению количеству белка, мРНК или маркера в биологическом образце. В некоторых аспектах данного изобретения поддающееся выявлению количество или поддающийся выявлению уровень белка, мРНК или маркера связаны с вероятностью реакции на агент, такой как описанные в данном документе. Термин «экспрессия» обычно относится к процессу, посредством которого информация, содержащаяся в гене, преобразуется в структуры (например, белковый маркер, такой как PD-L1), присутствующие и действующие в указанной клетке. Следовательно, при употреблении в контексте данного документа термин «экспрессия» может относиться к транскрипции в полинуклеотид, трансляции в полипептид или даже к модификациям полинуклеотида и (или) полипептида (например, посттрансляционная модификация полипептида). Фрагменты транскрибируемого полинуклеотида, транслируемого полипептида или модификации полинуклеотида и (или) полипептида (например, посттрансляционная модификация полипептида) также должны рассматриваться как экспрессированные, независимо от того, происходят ли они из транскрипта, полученного путем альтернативного сплайсинга, или из деградированного транскрипта, или вследствие посттрансляционного процессинга полипептида, например, путем протеолиза. Термин «экспрессированные гены» включает в себя те гены, которые транскрибируются в полинуклеотид в виде мРНК и затем транслируются в полипептид, а также те гены, которые транскрибируются в РНК, но не транслируются в полипептид (например, транспортные и рибосомные РНК). Термины «повышенная экспрессия», «повышенные уровни экспрессии» или «повышенные уровни» относятся к повышенной экспрессии или повышенным уровням соединения в образце по сравнению с контрольным образцом, например, у индивидуума или индивидуумов, не страдающих данным заболеванием или нарушением (например, онкологическим заболеванием), или по сравнению с внутренним контролем. В некоторых аспектах данного изобретения повышенная экспрессия соединения (например, белкового маркера, такого как PD-L1) в образце относится к увеличению количества указанного соединения на около 5%, на около 10%, на около 15%, на около 20%, на около 25%, на около 30%, на около 35%, на около 40%, на около 45%, на около 50%, на около 55%, на около 60%, на около 65%, на около 70%, на около 75%, на около 80%, на около 85%, на около 90%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98%, на около 99% или на около 100% по сравнению с количеством указанного соединения в контрольном образце, как определено с помощью методик, известных в данной области техники (например, с помощью клеточной сортировки с активацией флуоресценции – FACS). Термины «сниженная экспрессия», «сниженные уровни экспрессии» или

«сниженные уровни» относятся к сниженной экспрессии или сниженным уровням соединения (например, белкового маркера) у индивидуума по сравнению с контролем, например, у индивидуума или индивидуумов, не страдающих данным заболеванием или нарушением (например, онкологическим заболеванием), или по сравнению с внутренним контролем. В некоторых аспектах данного изобретения сниженная экспрессия представляет собой небольшую экспрессию или ее отсутствие. В некоторых аспектах данного изобретения сниженная экспрессия соединения (например, белкового маркера) в образце относится к снижению количества указанного соединения на около 5%, на около 10%, на около 15%, на около 20%, на около 25%, на около 30%, на около 35%, на около 40%, на около 45%, на около 50%, на около 55%, на около 60%, на около 65%, на около 70%, на около 75%, на около 80%, на около 85%, на около 90%, на около 95%, на около 96%, на около 97%, на около 98%, на около 99% или на около 100% по сравнению с количеством указанного соединения в контрольном образце, как определено с помощью методик, известных в данной области техники (например, с помощью FACS).

[0052] При употреблении в контексте данного документа термин «ангиогенез» или «неоваскуляризация» относится к процессу, посредством которого новые кровеносные сосуды развиваются из ранее существовавших сосудов (Varner et al., (1999) *Angiogen.* 3: 53 - 60; Mousa et al., (2000) *Angiogen. Stim. Inhib.* 35: 42 - 44; Kim et al., (2000) *Amer. J. Path.* 156: 1345 - 1362; Kim et al., (2000) *J. Biol. Chem.* 275: 33920 - 33928; Kumar et al. (2000) *Angiogenesis: From Molecular to Integrative Pharm.* 169 - 180). Эндотелиальные клетки из ранее существовавших кровеносных сосудов или из циркулирующих эндотелиальных стволовых клеток (Takahashi et al., (1995) *Nat. Med.* 5: 434 - 438; Isner et al., (1999) *J. Clin. Invest.* 103: 1231 - 1236) активируются, чтобы мигрировать, пролиферировать и дифференцироваться в структуры с просветами, формируя новые кровеносные сосуды, в ответ на фактор роста или гормональные сигналы, или в условиях гипоксии или ишемии. Во время ишемии, например, возникающей при онкологическом заболевании, потребность в увеличении оксигенации и доставки питательных веществ, по всей видимости, вызывает секрецию ангиогенных факторов пораженной ткани; эти факторы стимулируют образование новых кровеносных сосудов. Несколько дополнительных терминов связаны с ангиогенезом.

[0053] При употреблении в контексте данного документа термин «антагонист» относится к ингибитору целевой молекулы и может употребляться в данном документе как синоним термина «ингибитор». При употреблении в контексте данного документа термин «антагонист» относится к любой молекуле, которая частично или полностью блокирует, ингибирует или нейтрализует биологическую активность нативного полипептида, описанного в данном документе. Подходящие молекулы-антагонисты, в частности, включают в себя антитела-антагонисты или фрагменты таких антител, фрагменты или варианты аминокислотной последовательности нативных полипептидов, пептидов или белков. В некоторых аспектах данного изобретения ингибирование в присутствии антагониста имеет дозозависимый характер. В некоторых аспектах данного изобретения измеряемый сигнал (например, показатель биологической активности) по меньшей мере на около 5%, по меньшей мере на около 10%, по меньшей мере на около 15%, по меньшей мере на около 20%, по меньшей мере на около 25%, по меньшей мере на около 30%, по меньшей мере на около 35%, по меньшей мере на около 40%, по меньшей мере на около 45%, по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 55%, по меньшей мере на около 60%, по меньшей мере на около 65%, по меньшей мере на около 70%, по меньшей мере на около 75%, по меньшей мере на около 80%, по меньшей мере на около 85%, по меньшей мере на около 90%, по меньшей мере на около 95% или по меньшей мере на около 100% ниже сигнала, измеренного в образце отрицательного контроля при сопоставимых условиях. Также в данном документе представлены способы идентификации антагонистов, пригодных для применения в способах согласно

данному изобретению. Например, указанные способы включают в себя, но не ограничиваются ими, анализы связывания, такие как твердофазный иммуоферментный анализ (ТИФА), системы ForteBio®, радиоиммуноанализ (РИА), анализ Meso Scale Discovery (например, электрохемилуминесцентный анализ Meso Scale Discovery (MSD-ECL) и анализ Luminex® на основе микрогранул. Такие анализы определяют способность антагониста связывать полипептид, представляющий интерес (например, рецептор или лиганд), и, следовательно, указывают на способность такого антагониста ингибировать, нейтрализовать или блокировать активность указанного полипептида. Эффективность антагониста также можно определить с помощью функциональных анализов, таких как способность антагониста ингибировать функцию данного полипептида или агониста. Например, функциональный анализ может включать в себя приведение полипептида в контакт с молекулой – потенциальным антагонистом и измерение обнаруживаемого изменения одной или большего числа биологических активностей, обычно ассоциированных с указанным полипептидом. Активность антагониста обычно определяют по его значению  $IC_{50}$  (концентрация, необходимая для ингибирования 50% ответа агониста). Чем ниже значение  $IC_{50}$ , тем выше активность антагониста и тем ниже концентрация, необходимая для ингибирования максимального биологического ответа.

**[0054]** При употреблении в контексте данного документа фраза «антитело, которое проявляет антагонизм в отношении ИЛ-27 человека, или его антигенсвязывающая часть» относится к антителу, которое проявляет антагонизм в отношении по меньшей мере одной известной в данной области техники активности ИЛ-27 человека (например, в отношении биологической активности ИЛ-27 и (или) пути (путей) ниже по каскаду, опосредованного (-ых) передачей сигнала от ИЛ-27 или другой функцией, опосредованной ИЛ-27), например, в связи со снижением (или уменьшением) активности ИЛ-27 человека, составляющей по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или больше. Дополнительные примеры биологической активности ИЛ-27 и (или) пути (путей) ниже по каскаду, опосредованного (-ых) передачей сигнала от ИЛ-27 или другой функцией, опосредованной ИЛ-27, описаны более подробно ниже и в других частях данного документа.

**[0055]** При употреблении в контексте данного документа термин «антагонистическое антитело против ИЛ-27» (взаимозаменяемо обозначаемый как «антитело против ИЛ-27») относится к антителу, которое специфически связывается с ИЛ-27 и ингибирует биологическую активность ИЛ-27 и (или) путь (пути) ниже по каскаду, опосредованный (-е) передачей сигнала от ИЛ-27 или другой функцией, опосредованной ИЛ-27. Антагонистическое антитело против ИЛ-27 включает в себя антитела, которые блокируют, проявляют антагонизм, подавляют, ингибируют или снижают биологическую активность ИЛ-27 (например, связывание лиганда, ферментативную активность), включая пути ниже по каскаду, опосредованные передачей сигналов или функцией ИЛ-27, например, связывание рецептора и (или) инициацию клеточного ответа на ИЛ-27 или его метаболиты. В некоторых аспектах данного изобретения антагонистическое антитело против ИЛ-27, представленное в данном документе, связывается с ИЛ-27 человека и предотвращает, блокирует или ингибирует связывание ИЛ-27 человека со свойственным ему или нормальным рецептором (например, рецептором ИЛ-27), или с одной или большим числом субъединиц рецептора (например, gp130 и (или) ИЛ-27 $\alpha$  (также известным как WSX1/TCCR)). В некоторых аспектах данного изобретения указанное антагонистическое антитело против ИЛ-27 предотвращает, блокирует или ингибирует связывание ИЛ-27 человека с gp130. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антагонистическое антитело против ИЛ-27 предотвращает, блокирует или ингибирует связывание ИЛ-27 человека с ИЛ-27 $\alpha$ . В некоторых аспектах данного изобретения указанное антагонистическое антитело против ИЛ-27 предотвращает,

блокирует или ингибирует димеризацию мономеров ИЛ-27. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело против ИЛ-27 не связывается специфически с мономером ЕВ13. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело против ИЛ-27 специфически связывается с мономером ИЛ-27р28. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанное антитело против ИЛ-27 специфически связывается с несмежным эпитопом, содержащим Р28, но не связывается с мономером ЕВ13. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело против ИЛ-27 ингибирует или снижает фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело против ИЛ-27 ингибирует или снижает ингибирование экспрессии CD161 в клетке (например, ослабляет или устраняет опосредованное ИЛ-27 ингибирование экспрессии CD161 в клетке). В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело против ИЛ-27 ингибирует или снижает экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело против ИЛ-27 индуцирует или усиливает опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки. В некоторых аспектах данного изобретения антагонистическое антитело против ИЛ-27 связывается с ИЛ-27 человека и стимулирует или усиливает противоопухолевый ответ. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антагонистическое антитело против ИЛ-27 связывается с ИЛ-27 человека с аффинностью, равной 15 нМ или меньше. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антагонистическое антитело против ИЛ-27 связывается с ИЛ-27 человека и содержит константную область тяжелой цепи IgG1 дикого типа или мутанта, или константную область тяжелой цепи IgG4 дикого типа или мутанта. Примеры антагонистических антител против ИЛ-27 приведены в данном документе.

**[0056]** При употреблении в контексте данного документа термин «антитело» относится к целому антителу, содержащему два полипептида легкой цепи и два полипептида тяжелой цепи. Целые антитела включают в себя различные изоформы антител, включительно с антителами IgM, IgG, IgA, IgD и IgE. Термин «антитело» включает в себя поликлональное антитело, моноклональное антитело, химеризированное или химерное антитело, гуманизированное антитело, приматизированное антитело, деиммунизированное антитело и полностью человеческое антитело. Антитело может быть получено из или произведено от любого из множества видов, например, млекопитающих, таких как человек, высшие приматы, отличные от человека (например, орангутанги, бабуины или шимпанзе), лошади, крупный рогатый скот, свиньи, овцы, козы, собаки, кошки, кролики, морские свинки, песчанки, хомяки, крысы и мыши. Антитело может представлять собой рекомбинантное антитело. При употреблении в контексте данного документа термины «фрагмент антитела», «антигенсвязывающий фрагмент» или аналогичные термины относятся к фрагменту антитела, который сохраняет способность связываться с целевым антигеном (например, ИЛ-27) и ингибировать активность указанного целевого антигена. Такие фрагменты включают в себя, например, одноцепочечное антитело, одноцепочечный фрагмент Fv (оцFv), фрагмент Fd, фрагмент Fab, фрагмент Fab' или фрагмент F(ab')<sub>2</sub>. Фрагмент оцFv представляет собой единую полипептидную цепь, которая включает в себя переменные области как тяжелой, так и легкой цепей антитела, из которого получен указанный оцFv. Кроме того, интратела, миниантитела, триантела и диатела также включены в определение антитела и подходят для применения в способах, описанных в данном документе. См., например, работы Todorovska et al., (2001) *J. Immunol. Methods* 248 (1): 47 - 66; Hudson and Kortt, (1999) *J. Immunol. Methods* 231 (1): 177 - 189; Poljak, (1994) *Structure* 2 (12): 1121 - 1123; Rondon and Marasco, (1997) *Annu. Rev. Microbiol.* 51: 257 - 283, содержание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

**[0057]** При употреблении в контексте данного документа термин «фрагмент антитела» также включает в себя, например, однодоменные антитела, такие как верблюжьи однодоменные антитела. См., например,

работы Muyldermans et al., (2001) *Trends Biochem. Sci.* 26: 230 - 235; Nuttall et al., (2000) *Curr. Pharm. Biotech.* 1: 253 - 263; Reichmann et al., (1999) *J. Immunol. Meth.* 231: 25 - 38; патентные публикации PCT № WO 94/04678 и WO 94/25591; и патент США № 6005079, которые включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых аспектах данного изобретения представлены однодоменные антитела, содержащие два домена VH, с модификациями, в результате которых образуются однодоменные антитела.

[0058] В некоторых аспектах данного изобретения антигенсвязывающий фрагмент включает в себя переменную область полипептида тяжелой цепи и переменную область полипептида легкой цепи. В некоторых аспектах данного изобретения антигенсвязывающий фрагмент, описанный в данном документе, содержит CDR полипептида легкой цепи и полипептида тяжелой цепи антитела.

[0059] Термин «антигенпрезентирующая клетка» или «АПК» означает клетку, которая выставляет на своей поверхности чужеродный антиген в комплексе с ГКГ. Т-клетки распознают этот комплекс с помощью Т-клеточного рецептора (ТКР). Примеры АПК включают в себя, но не ограничиваются ими, В-клетки, дендритные клетки (ДК), мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), моноциты (такие как ТНР-1), В-лимфобластоидные клетки (такие как С1R.A2, 1518 В-LCL) и дендритные клетки (ДК), происходящие из моноцитов. Некоторые АПК интернализуют антигены либо посредством фагоцитоза, либо путем рецепторопосредованного эндоцитоза.

[0060] Термин «презентация антигена» относится к процессу, посредством которого АПК захватывают антигены и делают возможным их распознавание Т-клетками, например, в качестве компонента конъюгата ГКГ-I и (или) ГКГ-II.

[0061] При употреблении в контексте данного документа термин «апоптоз» относится к процессу запрограммированной гибели клеток, происходящему в многоклеточных организмах (например, в организме человека). Строго регулируемые биохимические и молекулярные события, которые приводят к апоптозу, могут приводить к наблюдаемым и характерным морфологическим изменениям клетки, включая вздутие мембраны, уменьшение объема клетки, конденсацию и фрагментацию хромосомной ДНК и распад мРНК. Распространенный способ идентификации клеток, включая Т-клетки, подвергающихся апоптозу, представляет собой воздействие на клетки конъюгированного с флуорофором белка (аннексин V). Аннексин V широко применяется для обнаружения апоптотических клеток по его способности связываться с фосфатидилсеринном на внешнем слое плазматической мембраны, что является ранним индикатором того, что клетка подвергается процессу апоптоза.

[0062] При употреблении в контексте данного документа термин «В-клетка» (альтернативно – «В-лимфоцит») относится к типу лейкоцитов подтипа лимфоцитов. В-клетки функционируют в компоненте гуморального иммунитета адаптивной иммунной системы, секретируя антитела. В-клетки также презентуют антиген и секретируют цитокины. В-клетки, в отличие от двух других классов лимфоцитов, Т-клеток и естественных клеток-киллеров, экспрессируют рецепторы В-клеток (ВКР) на своей клеточной мембране. ВКР позволяют В-клетке связываться со специфическим антигеном, против которого она инициирует образование антител.

[0063] При употреблении в контексте данного документа термин «связывается с иммобилизованным ИЛ-27» относится к способности антитела согласно данному изобретению связываться с ИЛ-27, например, экспрессированным на поверхности клетки или прикрепленным к твердой подложке.

[0064] При употреблении в контексте данного документа термин «биспецифическое антитело» или «бифункциональное антитело» означает искусственное гибридное антитело, содержащее две различные пары тяжелой/легкой цепей и два различных сайта связывания. Биспецифические антитела можно получить с

помощью различных способов, включая слияние гибридом или соединение фрагментов Fab'. См., например, работы Songsivilai & Lachmann, (1990) *Clin. Exp. Immunol.* 79: 315 - 321; Kostelny et al., (1992) *J. Immunol.* 148: 1547 - 1553.

**[0065]** Традиционно рекомбинантное продуцирование биспецифических антител основано на коэкспрессии двух пар легкая цепь/тяжелая цепь иммуноглобулина, при этом указанные две пары легкая цепь/тяжелая цепь имеют разную специфичность (Milstein and Cuello, (1983) *Nature* 305: 537 - 539). Вариабельные домены антител с желаемой специфичностью связывания (участки антитела, соединяющиеся с антигеном) могут быть слиты с последовательностями константного домена иммуноглобулина. Слияние вариабельной области тяжелой цепи предпочтительно осуществляют с константным доменом тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащим по меньшей мере часть шарнирной области, областей CH2 и CH3. Для получения дополнительной информации об иллюстративных известных в данное время способов получения биспецифических антител см., например, работу Suresh et al., (1986) *Methods Enzymol.* 121: 210; патентную публикацию № WO 96/27011; работы Brennan et al., (1985) *Science* 229: 81; Shalaby et al., *J. Exp. Med.* (1992) 175: 217 - 225; Kostelny et al., (1992) *J. Immunol.* 148 (5): 1547 - 1553; Hollinger et al., (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444 - 6448; Gruber et al., (1994) *J. Immunol.* 152: 5368; и Tutt et al., (1991) *J. Immunol.* 147: 60. Биспецифические антитела включают в себя перекрестно-сшитые или гетероконъюгатные антитела. Гетероконъюгатные антитела могут быть получены с применением любых подходящих способов перекрестного сшивания. Подходящие перекрестно-сшивающие агенты хорошо известны в данной области техники и представлены в патенте США № 4676980 вместе с рядом методик перекрестного сшивания.

**[0066]** В литературе описаны также различные методики получения и выделения фрагментов биспецифических антител непосредственно из рекомбинантной клеточной культуры. Например, биспецифические антитела были получены с использованием лейциновых застежек. См., например, Kostelny et al. (1992) *J Immunol* 148 (5): 1547 - 1553. Пептиды лейциновой застежки из белков Fos и Jun могут быть связаны с частями Fab' двух разных антител путем слияния генов. Гомодимеры антител могут быть восстановлены в шарнирной области с образованием мономеров, а затем повторно окислены с образованием гетеродимеров антител. Данный способ можно также применять для получения гомодимеров антител. Технология «диатела», описанная в работе Hollinger et al. (1993) *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 6444 - 6448, обеспечивает альтернативный механизм для получения биспецифических фрагментов антител. Фрагменты содержат вариабельный домен тяжелой цепи (VH), соединенный с вариабельным доменом легкой цепи (VL) посредством линкера, который является слишком коротким, чтобы позволить соединение между двумя доменами на одной цепи. Соответственно, домены VH и VL одного фрагмента вынуждены соединяться с комплементарными доменами VL и VH другого фрагмента, тем самым образуя два антигенсвязывающих участка. Также сообщалось о другой стратегии получения фрагментов биспецифических антител с использованием одноцепочечных димеров Fv (оцFv). См., например, работу Gruber et al. (1994) *J Immunol* 152: 5368. В качестве альтернативы, антитела могут представлять собой «линейные антитела», как описано, например, в работе Zapata et al. (1995) *Protein Eng.* 8 (10): 1057 - 1062. Кратко, эти антитела составляют пару тандемных сегментов Fd (VH - CH1 - VH - CH1), которые образуют пару антигенсвязывающих участков. Линейные антитела могут быть биспецифическими или моноспецифическими.

**[0067]** Антитела с более чем двумя валентностями (например, триспецифические антитела) рассматриваются и описаны, например, в работе Tutt et al. (1991) *J Immunol* 147: 60.

**[0068]** Данное изобретение также охватывает варианты формы мультиспецифических антител, такие как молекулы иммуноглобулина с двойным вариабельным доменом (ДВД-Ig, англ. «DVD-Ig»), описанные в

работе Wu et al. (2007) Nat Biotechnol 25 (11): 1290 - 1297. Молекулы ДВД-Ig сконструированы таким образом, что два разных переменных домена легкой цепи (VL) из двух разных родительских антител связаны в тандеме напрямую или через короткий линкер с помощью методик рекомбинантной ДНК, за которыми следует константный домен легкой цепи. Аналогичным образом, тяжелая цепь содержит два различных переменных домена тяжелой цепи (VH), соединенных в тандем, за которыми следуют константный домен СН1 и область Fc. Способы получения молекул ДВД-Ig из двух родительских антител дополнительно описаны, например, в публикациях РСТ № WO 08/024188 и WO 07/024715. В некоторых аспектах данного изобретения биспецифическое антитело представляет собой иммуноглобулин Fab-в-тандеме, в котором переменная область легкой цепи со второй специфичностью слита с переменной областью тяжелой цепи целого антитела. Такие антитела описаны, например, в публикации международной патентной заявки № WO 2015/103072.

**[0069]** При употреблении в контексте данного документа термин «раковый антиген» относится к: (i) опухолеспецифическим антигенам; (ii) ассоциированным с опухолью антигенам; (iii) клеткам, которые экспрессируют опухолеспецифические антигены; (iv) клеткам, которые экспрессируют ассоциированные с опухолью антигены; (v) эмбриональные антигены на опухолях; (vi) аутологичные опухолевые клетки; (vii) опухолеспецифические мембранные антигены; (viii) ассоциированные с опухолью мембранные антигены; (ix) рецепторы факторов роста; (x) лиганды факторов роста; и (xi) любой другой тип антигена, антигенпрезентирующей клетки или материала, ассоциированного с онкологическим заболеванием.

**[0070]** При употреблении в контексте данного документа термин «иммунный ответ в отношении рака» относится к иммунному ответу, индуцированному присутствием опухолей, раковых клеток или раковых антигенов. В некоторых аспектах данного изобретения указанный ответ включает в себя пролиферацию лимфоцитов, специфичных в отношении ракового антигена. В определенных аспектах данного изобретения указанный ответ включает в себя экспрессию и активацию антител и рецепторов Т-клеток, а также образование и высвобождение лимфокинов, хемокинов и цитокинов. И врожденная, и приобретенная иммунные системы взаимодействуют, чтобы инициировать антигенные ответы против опухолей, раковых клеток или раковых антигенов. В некоторых аспектах данного изобретения иммунный ответ в отношении рака представляет собой Т-клеточный ответ.

**[0071]** Термин «карцинома» признан в данной области техники и относится к злокачественным новообразованиям эпителиальных или эндокринных тканей, включая карциномы дыхательной системы, карциномы желудочно-кишечного тракта, карциномы мочеполовой системы, карциномы яичка, карциномы молочной железы, карциномы предстательной железы, карциномы эндокринной системы и меланомы. Антитела против ИЛ-27, описанные в данном документе, могут быть использованы для лечения пациентов, которые имеют, у которых подозревается наличие или которые могут иметь высокий риск развития любого типа онкологического заболевания, включая карциному почки или меланому, или любого вирусного заболевания. Типичные карциномы включают в себя карциномы, образующиеся из ткани шейки матки, легкого, предстательной железы, молочной железы, головы и шеи, толстой кишки и яичника. Данный термин также включает в себя карциносаркомы, которые включают в себя злокачественные опухоли, состоящие из карциноматозных и саркоматозных тканей. Термин «аденокарцинома» относится к карциноме, происходящей из железистой ткани или в которой опухолевые клетки образуют узнаваемые железистые структуры.

**[0072]** При употреблении в контексте данного документа термин «CD112R» относится к одному из белков, подобных рецептору полиовируса, и представляет собой коингибирующий рецептор для Т-клеток человека. CD112R представляет собой ингибиторный рецептор, преимущественно экспрессируемый Т-клетками и NK-

клетками, и конкурирует с активирующим рецептором CD226 за связывание с CD112. Взаимодействие CD112 с CD112R имеет более высокую аффинность, чем с CD226, и, таким образом, эффективно регулирует опосредованную CD226 активацию клеток. Антагонисты, направленные против CD112R, которые блокируют взаимодействие с CD112, ограничивают ингибиторную передачу сигналов непосредственно ниже по каскаду от CD112R, одновременно способствуя большей активации иммунных клеток за счет увеличения взаимодействия CD226 с CD112. При употреблении в контексте данного документа термин «ингибитор CD112R» относится к агенту, который разрушает, блокирует или ингибирует биологическую функцию или активность CD112R.

**[0073]** При употреблении в контексте данного документа термин «CD137» (альтернативно – «4-1BB») относится к члену суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (ФНО). 4-1BB представляет собой костимулирующую молекулу иммунной контрольной точки, прежде всего для активированных Т-клеток. Перекрестное сшивание CD137 усиливает пролиферацию Т-клеток, секрецию ИЛ-2, выживаемость и цитолитическую активность. При употреблении в контексте данного документа термин «агонист 4-1BB» относится к агенту, который стимулирует, индуцирует или усиливает одну или большее число функций 4-1BB. Иллюстративный агонист 4-1BB представляет собой утомилумаб (PF-05082566) – полностью человеческое моноклональное антитело IgG2, которое нацелено на указанный 4-1BB для стимуляции Т-клеток.

**[0074]** При употреблении в контексте данного документа термин «CD161» (альтернативно известный как член 1 подсемейства В-рецепторов, подобных лектину клеток-киллеров (KLRB1); NK1.1 или NKR-P1A) относится к члену суперсемейства лектинов С-типа. CD161 представляет собой маркер Т-клеток, и экспрессия CD161 связана с инфильтрацией Т-клеток в микроокружение опухоли при ряде различных типов онкологических заболеваний. CD161 дополнительно описан в работе Fergusson et al., (2014) *Cell Reports* 9 (3): 1075 - 1088, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

**[0075]** При употреблении в контексте данного документа термин «ИЛ-27» или «интерлейкин 27» относится к цитокину ИЛ-27. ИЛ-27 является цитокином, родственным семейству цитокинов ИЛ-6/ИЛ-12, и представляет собой гетеродимерный цитокин, который содержит первую субъединицу, известную как ген 3, индуцированный вирусом Эпштейна-Барр (EBV3; также известный как субъединица β ИЛ-27 и ИЛ-27В), и вторую субъединицу, известную как ИЛ-27p28 (также известную как ИЛ-30, субъединица α ИЛ-27 и ИЛ-27А). ИЛ-27 преимущественно синтезируется активированными антигенпрезентирующими клетками, включая моноциты, эндотелиальные клетки и дендритные клетки (Jankowski et al. (2010) *Arch Immunol. Ther. Exp.* 58: 417 - 425, Diakowski et al. (2013) *Adv. Clin. Exp. Med.* (2013) 22 (5): 683 - 691). Несмотря на то, что ИЛ-27 может оказывать провоспалительное действие, многие исследования предполагают важную роль ИЛ-27 в качестве иммунодепрессанта (работы Shimizu et al. (2006) *J. Immunol.* 176: 7317 - 7324, Hisada et al. (2004) *Cancer Res.* 64: 1152 - 1156, Diakowski (2013), см. выше). Хотя первоначально он был описан как фактор, способствующий инициации ответов Th1, позже было обнаружено, что ИЛ-27 опосредует главную супрессивную функцию Т-клеток, ограничивая ответы Th1, ингибируя дифференцировку клеток Th2 и Th17 и регулируя развитие Tr1 и других регуляторных популяций Т-клеток (Dietrich et al. (2014) *J. Immunol.* 192: 5382 - 5389). В дополнение к своей роли иммунорегулятора ИЛ-27 также регулирует ангиогенез, гемопоэз и остеокальцитогенез (см. указанную выше публикацию).

**[0076]** ИЛ-27 передает сигналы через гетеродимерный рецептор цитокинов I типа (рецептор ИЛ-27 или ИЛ-27Р), который содержит первую субъединицу, известную как WSX1 (также известную как субъединица α рецептора ИЛ-27, ИЛ-27РА, Т-клеточный цитокиновый рецептор типа 1 (ТCCR) и рецептор-подобный

цитокин 1 (CRL1)) и вторую субъединицу, известную как gp130 (также известную как трансдуктор сигнала интерлейкина-6 (IL6ST), субъединица  $\beta$  рецептора интерлейкина-6 (ИЛ-6РБ) и рецептор онкостатина М). gp130 также представляет собой субъединицу рецептора цитокинов семейства ИЛ-6 (Liu et al. (2008) *Scan. J. Immunol.* 68:22-299, Diakowski (2013), см. выше). Передача сигналов от ИЛ-27 через ИЛ-27Р активирует несколько сигнальных каскадов, включая пути JAK-STAT и p38 MAPK.

[0077] Также считается, что субъединица EB13 обладает биологическими функциями, независимыми от p28 или гетеродимера ИЛ-27. Например, субъединица EB13 также взаимодействует с p35 с образованием гетеродимерного цитокина ИЛ-35 (Yoshida et al. (2015) *Annu. Rev Immunol.* 33: 417 - 443) и было показано, что она селективно сверхэкспрессируется в определенных типах клеток без соответствующего повышения p28 или ИЛ-27 (Larousserie et al. (2005) *Am. J. Pathol.* 166 (4): 1217 - 1228).

[0078] Аминокислотная последовательность иллюстративного белка EB13 человека представлена в SEQ ID NO: 1 (референсная последовательность NCBI: NP\_005746.2; N-mtpqlllalvlwascppcgrkppaaltlprvqcrasrypiavdcswtlppapnstpsvfiatyrlgmaarghswpqlqptststctitdvlqfsmapyvlnvtavhpwgsstsvfptfitehiikpdppegvrlsplaerqlqvqweppgswpfpeifslkywirykrqgaarfhrvgpicatsfilravrparyyvqvaadltdygelsdwsllpatatmslgk-C). Аминокислотная последовательность иллюстративного белка p28 человека представлена в SEQ ID NO: 2 (референсная последовательность NCBI: NP\_663634.2; N-mgqtagdglgwrlsllllpllllvqagvvgfprppgrqslqelrrefvshlarkllsevrgqahrfaeslpgvnyllplgeqlpdvsltfqawrrlsdperlcfisttlqpfallggltqgrwtmmermqwamrldrldlqrhlrfqvlaagfnlpeeeeeeeeeerkgllpgalgsalqgpaqvswpqlstlyrllhslelvlsravrellllskaghsvwplgftlspqp-C). Аминокислотная последовательность иллюстративного белка WSX1 человека представлена в SEQ ID NO: 3 (референсная последовательность NCBI: NP\_004834.1; N-mrgrgapfwlwpplkallplwvlfqrtrpqsagplqcyvgplgdlnswepldlgapselhlqsqkyrsnktqtvaagrswwaipreqltmsdkllvwtgkagqplwppvfvnletqmkpnaprlgpdvdfseddpleatvhwapptwshkvlrcqfhyrrcqaawtllepelktipltvpeiqldeletatgykyvgrcmekeedlwgewspilspqpsapkdvwvsgnlcgtpggeeplllwkagpvcvqsykvwfwvggrelspegitccclipsgaewarvsavnatswepltnslvcldsasaprsvavssiagstellvtwqppgeplehvvwardgpleklnwvrlppnglsallpgnftvgvpyritvtavsasglasassvvgfreelaplvgptlwrldqappgtpaiawgevprhqlrghlthylcaqsgtspvcmmvsgntqsvtlpdlpwgpcelwvtastiaqgppgpilrhlhpdntlrwklpgilfwglflgclslatsgryhlrhkvlprvwwekvpdpanssgqphmeqvpeaqlgdlpileemepppvmessqpaqataplsgyekhflptpeelgllgpprpqvla-C). Аминокислотная последовательность иллюстративного белка gp130 человека представлена в SEQ ID NO: 4 (референсная последовательность NCBI: NP\_002175.2; N-mtlqtvlwvqalfifttestgelldpcgyispspvvqlhsnftavcvlkekcmdyfhvnanyivwktnhftipkeqytiintassvftdiasniqltncniltfgqleqnvvgititiglppekpknlscivnegkkmrcewdggrethletnflksewathkfadckakrdtptsctvdystvyfvnievwaeanalgkvtstdhinfdpvykvkpnpphnlsvinseelssilkltwtwnpsiksviilkyniqyrtkdastwsqippedtastrsftvqdlkpfteyvfrircmkedgkgywsdwseeasgityedrpskapsfwykidpshtqgyrtvqlvkwltppfeangkildyevltrwkslqnlytvnatklvnlndrylatltvnlvgksdaavltipacdfqathpmdlkafpkdnmlwvewtppresvkkylewcvlsdkapcldwqgedgtvhrtylrgnlaeskylylitvpyvadgpgspesikaylkqappskgptvrtkkvgkneavlewdqlpvdvqngfirnytifyrtyignetaavnvdsshteytlssltsdlymvrmaaytdegkgdgpftfttpkfaqgeiaivvpvelaflltllglvlfcnkrdlikkhiwvnpdpkskhiaqwsphpprhfnfskdqmysdgnftdvsveicandkkpfpedlksldlflkkekinteghssgiggsscmsssrpsissdenessqntsstvystvvhsgyrhqvpsvqvsrsestqplldseerpedlqlvdhvdggdgilprqqyfkqncsqhesspdishferskqvsvvneedfvlrkqisdhisqscgsgqmkmfqevsaadafgpgetgqverfetvgmeaatdegmpksylpqtvrqggympq-C).

[0079] При употреблении в контексте данного документа термин «конкурировать», когда он используется в контексте антигенсвязывающих белков (например, иммуноглобулинов, антител или их антигенсвязывающих фрагментов), которые конкурируют за связывание с одним и тем же эпитопом, относится к взаимодействию между антигенсвязывающими белками, как определено с помощью анализа (например, анализ конкурентного связывания; анализ перекрестного блокирования), при этом тестируемый антигенсвязывающий белок

(например, тестируемое антитело) ингибирует (например, снижает или блокирует) специфическое связывание референсного антигенсвязывающего белка (например, референсного антитела) с общим антигеном (например, ИЛ-27 или его фрагментом).

**[0080]** Полипептид, или аминокислотная последовательность, «полученный (-ая) из» обозначенного белка или полипептида относится к происхождению полипептида. Предпочтительно полипептидная или аминокислотная последовательность, полученная из конкретной последовательности, имеет аминокислотную последовательность, которая по существу идентична этой последовательности или ее части, при этом указанная часть состоит по меньшей мере из 10-20 аминокислот, предпочтительно – меньшей мере из 20-30 аминокислот, более предпочтительно – по меньшей мере из 30-50 аминокислот, или которая иным образом идентифицируется специалистом в данной области техники как происходящая из указанной последовательности. Полипептиды, полученные из другого пептида, могут иметь одну или большее число мутаций по отношению к исходному полипептиду, например, один или большее число аминокислотных остатков, которые были заменены другим аминокислотным остатком, или которые имеют одну или большее число вставок или делеций аминокислотных остатков.

**[0081]** Полипептид может содержать аминокислотную последовательность, не встречающуюся в природе. Такие варианты обязательно меньше чем на 100% идентичны или сходны с последовательностью исходной молекулы. В некоторых аспектах данного изобретения указанный вариант будет иметь аминокислотную последовательность, которая на от около 75% до меньше чем 100% идентична или сходна с аминокислотной последовательностью исходного полипептида, более предпочтительно – на от около 80% до меньше чем 100%, более предпочтительно – на от около 85% до меньше чем 100%, более предпочтительно – на от около 90% до меньше чем 100% (например, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%) и наиболее предпочтительно – на от около 95% до меньше чем 100%, идентична или сходна с аминокислотной последовательностью исходного полипептида, например, по всей протяженности указанной вариантной молекулы.

**[0082]** В некоторых аспектах данного изобретения антитела согласно данному изобретению кодируются нуклеотидной последовательностью. Нуклеотидные последовательности согласно данному изобретению могут быть использованы для ряда применений, включая: клонирование, генную терапию, экспрессию и очистку белков, введение мутаций, ДНК-вакцинацию хозяина, нуждающегося в этом, создание антител, например, для пассивной иммунизации, ПЦР, генерация праймеров и зондов, и т. п.

**[0083]** Специалисту в данной области техники также будет понятно, что антитела, подходящие для применения в представленных в данном документе способах, могут быть изменены таким образом, что их последовательность будет отличаться от встречающихся в природе или нативных последовательностей, из которых они были получены, с сохранением при этом желательной активности, свойственной указанным нативным последовательностям. Например, могут быть сделаны нуклеотидные или аминокислотные замены, приводящие к консервативным заменам или изменениям в «заменяемых» аминокислотных остатках. Мутации можно ввести с помощью стандартных методик, известных в данной области техники, например, сайт-специфического мутагенеза и опосредованного полимеразной цепной реакцией (ПЦР) мутагенеза.

**[0084]** Антитела, подходящие для применения в представленных в данном документе способах, могут содержать консервативные аминокислотные замены в одном или большем числе аминокислотных остатков, например, в незаменимых или заменимых аминокислотных остатках. «Консервативная аминокислотная замена» представляет собой замену, при которой один аминокислотный остаток заменен другим аминокислотным остатком, имеющим аналогичную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков,

имеющих аналогичные боковые цепи, были определены в данной области техники, включая основные боковые цепи (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотные боковые цепи (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженные полярные боковые цепи (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярные боковые цепи (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленные боковые цепи (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Таким образом, заменимый аминокислотный остаток в связывающем полипептиде предпочтительно заменяют другим аминокислотным остатком из того же семейства боковых цепей. В другом аспекте последовательность аминокислот может быть консервативно заменена структурно подобной последовательностью, которая отличается по порядку и (или) составу аминокислот – членов семейства боковых цепей. В качестве альтернативы, в некоторых аспектах данного изобретения мутации могут быть введены случайным образом по всей продолжительности или части кодирующей последовательности, например, путем насыщающего мутагенеза, и полученные мутанты могут быть включены в связывающие полипептиды согласно данному изобретению и подвергнуты скринингу на их способность связываться с желаемой целевой молекулой.

**[0085]** При употреблении в контексте данного документа термин «перекрестная презентация» антигена относится к презентации экзогенных белковых антигенов Т-клеткам через молекулы ГКГ класса I и класса II на АПК.

**[0086]** При употреблении в контексте данного документа термин «перекрестно реагирует» относится к способности антитела согласно данному изобретению связываться с ИЛ-27 другого вида. Например, антитело согласно данному изобретению, которое связывает ИЛ-27 человека, может также связывать ИЛ-27 других видов. При употреблении в контексте данного документа перекрестную реактивность измеряют путем обнаружения специфической реактивности с очищенным антигеном в анализах связывания (например, поверхностный плазмонный резонанс – ППР, англ. «SPR»; ТИФА) или по связыванию или иному функциональному взаимодействию с клетками, физиологически экспрессирующими ИЛ-27. Способы определения перекрестной реактивности включают в себя стандартные анализы связывания, как описано в данном документе, например, с помощью анализа поверхностного плазмонного резонанса (ППР) Biacore™ с использованием анализатор Biacore™ 2000 SPR (Biacore AB, г. Уппсала, Швеция), или с помощью методик проточной цитометрии.

**[0087]** При употреблении в контексте данного документа термин «ответ цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ)» относится к иммунному ответу, индуцированному цитотоксическими Т-клетками. Ответы ЦТЛ опосредованы главным образом CD8<sup>+</sup> Т-клетками.

**[0088]** При употреблении в контексте данного документа термин «дендритная клетка» или «ДК» относится к типу антигенпрезентирующих клеток, которые представляют собой лейкоциты, происходящие из костного мозга (КМ), и представляют собой наиболее активный тип антигенпрезентирующих клеток. ДК захватывают и процессируют антигены, превращая белки в пептиды, которые затем презентуются на молекулах главного комплекса гистосовместимости (ГКГ, англ. «МНС»), распознаваемых Т-клетками. ДК являются гетерогенной популяцией, например, миелоидные и плазматоидные ДК; хотя все ДК способны поглощать антиген, процессировать и презентовать его наивным Т-клеткам, подтипы ДК имеют разные маркеры и различаются по местонахождению, путям миграции, подробной иммунологической функции и зависимости от инфекций или воспалительных стимулов при их образовании. Во время развития адаптивного иммунного ответа

фенотип и функция ДК играют роль в инициации толерантности, памяти и дифференцировки поляризованных Т-хелперов 1 (Th1), Th2 и Th17.

**[0089]** При употреблении в контексте данного документа термин «активация дендритных клеток» относится к переходу дендритных клеток от незрелых к зрелым; активированные дендритные клетки включают в себя зрелые дендритные клетки и дендритные клетки в процессе перехода, при этом экспрессия CD80 и CD86, которые индуцируют костимулирующие сигналы, повышается активизирующими стимулами. Зрелые дендритные клетки человека представляют собой клетки, положительные в отношении экспрессии CD40, CD80, CD86 и HLA-класса II (например, HLA-DR). Незрелую дендритную клетку можно отличить от зрелой дендритной клетки, например, на основании маркеров, выбранных из группы, состоящей из CD80 и CD86. Незрелая дендритная клетка является слабо положительной, а предпочтительно – отрицательной в отношении указанных маркеров, в то время как зрелая дендритная клетка является положительной. Специалисты в данной области техники рутинно проводят разделение зрелых дендритных клеток, и соответствующие маркеры, описанные выше, и способы измерения их экспрессии также хорошо известны специалистам в данной области техники.

**[0090]** При употреблении в контексте данного документа термин « $EC_{50}$ » относится к такой концентрации антитела или его антигенсвязывающей части, которая индуцирует ответ либо в анализе *in vitro*, либо в анализе *in vivo*, составляющий 50% от максимального ответа, т. е. находящийся посередине между максимальным ответом и базовым уровнем.

**[0091]** При употреблении в контексте данного документа термин «эффективная доза» или «эффективная дозировка» определяется как количество, достаточное для достижения или по меньшей мере частичного достижения желаемого эффекта. Термин «терапевтически эффективная доза» определяется как количество, достаточное для излечения или по меньшей мере частичного прерывания заболевания и его осложнений у пациента, который уже страдает от данного заболевания. Количества, эффективные для такого применения, зависят от тяжести заболевания, подлежащего лечению, и общего состояния собственной иммунной системы пациента.

**[0092]** При употреблении в контексте данного документа термин «эпитоп» или «антигенная детерминанта» относится к участку на антигене, с которым специфически связываются иммуноглобулин или антитело. Термин «картирование эпитопов» относится к процессу или способу идентификации сайта связывания, или эпитопа, антитела или его антигенсвязывающего фрагмента на его целевом белковом антигене. В данном документе представлены способы и методики картирования эпитопов. «Эпитопы» могут быть образованы как смежными аминокислотами, так и не смежными аминокислотами, расположенными рядом в результате сворачивания белка в третичную структуру. Эпитопы, образованные из смежных аминокислот, как правило, сохраняются при воздействии денатурирующих растворителей, тогда как эпитопы, образованные в результате сворачивания в третичную структуру, обычно утрачиваются при обработке денатурирующими растворителями. Как правило, эпитоп включает в себя по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Способы определения того, с какими эпитопами связывается данное антитело (т. е. картирование эпитопов), хорошо известны в данной области техники и включают в себя, например, иммуноблоттинг и анализы иммунопреципитации, в которых перекрывающиеся или смежные пептиды из ИЛ-27 тестируют на предмет их реактивности с данным антителом против ИЛ-27. Способы определения пространственной конформации эпитопов включают в себя способы, известные в данной области техники, и способы, описанные в данном документе, например,

рентгеновскую кристаллографию и двумерный ядерно-магнитный резонанс (см., например, *Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)).

**[0093]** Данное изобретение также охватывает антитела, которые связываются с эпитопом на ИЛ-27, который содержит весь или часть эпитопа, распознаваемого конкретными антителами, описанными в данном документе (например, тот же самый или перекрывающийся участок, или участок, находящийся в пределах такого участка или охватывающий его).

**[0094]** Данное изобретение также охватывает антитела, которые связывают один и тот же эпитоп, и (или) антитела, которые конкурируют с описанными в данном документе антителами за связывание с ИЛ-27 человека. Антитела, которые распознают один и тот же эпитоп или конкурируют за связывание, могут быть идентифицированы с использованием рутинных методик. Такие методики включают в себя, например, иммуноанализ, который показывает способность одного антитела блокировать связывание другого антитела с целевым антигеном, т. е. анализ конкурентного связывания. Конкурентное связывание определяют в анализе, в котором тестируемый иммуноглобулин ингибирует специфическое связывание референсного антитела с общим антигеном, таким как ИЛ-27. Известны многочисленные типы анализов конкурентного связывания, например: твердофазный прямой или непрямой радиоиммуноанализ (РИА), твердофазный прямой или непрямой иммуноферментный анализ (ИФА), сэндвич-конкурентный анализ (см. работу *Stahli et al., Methods in Enzymology* 9: 242 (1983)); твердофазный прямой биотин-авидиновый ИФА (см. работу *Kirkland et al., J. Immunol.* 137: 3614 (1986)); твердофазный анализ с прямым мечением, твердофазный сэндвич-анализ с прямым мечением (см. работу *Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)); твердофазный РИА прямым мечением с использованием метки I-125 (см. работу *Morel et al., Mol. Immunol.* 25 (1): 7 (1988)); твердофазный прямой биотин-авидиновый ИФА (см. работу *Cheung et al., Virology* 176: 546 (1990)); и РИА с прямым мечением. (*Moldenhauer et al., Scand. J. Immunol.* 32: 77 (1990)). Как правило, такие способы анализа включают в себя применение очищенного антигена, связанного с твердой поверхностью, или клеток, несущих любой из них, немеченого исследуемого иммуноглобулина и меченого референсного иммуноглобулина. Конкурентное ингибирование оценивают путем определения количества метки, связанной с твердой поверхностью или клетками, в присутствии исследуемого иммуноглобулина. Как правило, исследуемый иммуноглобулин присутствует в избытке. Как правило, если конкурирующее антитело присутствует в избытке, оно будет ингибировать специфическое референсного антитела с общим антигеном по меньшей мере на 50-55%, на 55-60%, на 60-65%, на 65-70%, на 70-75% или больше.

**[0095]** Другие методики включают в себя, например, способы картирования эпитопов, такие как рентгеноструктурный анализ кристаллов комплексов антиген – антитело, обеспечивающие атомарное разрешение эпитопа, и масс-спектрометрию в сочетании с водородно-дейтериевым (H/D) обменом, которая изучает конформацию и динамику взаимодействия антиген – антитело. Другие способы исследуют связывание антитела с фрагментами антигена или мутантными вариациями антигена, при этом потеря связывания из-за модификации аминокислотного остатка в последовательности данного антигена часто считается признаком наличия эпитопного компонента. Кроме того, можно применять вычислительные комбинаторные способы для картирования эпитопов. Эти способы основаны на способности представляющего интерес антитела аффинно изолировать специфические короткие пептиды из комбинаторных библиотек фаговых дисплеев. Затем такие пептиды рассматриваются как основа для определения эпитопа, соответствующего антителу, использованному для скрининга указанной библиотеки пептидов. Для картирования эпитопов также были разработаны вычислительные алгоритмы, которые, как было показано, картируют конформационные прерывистые эпитопы.

[0096] При употреблении в контексте данного документа термин «Fc-опосредованные эффекторные функции» или «эффекторные функции Fc» относится к биологическим активностям антитела, отличной от основной функции и назначения данного антитела. Например, эффекторные функции терапевтического агонистического антитела представляют собой биологические активности, отличные от активации целевого белка или пути. Примеры эффекторных функций антитела включают в себя связывание C1q и комплементзависимую цитотоксичность; связывание с рецептором Fc; антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (АЗКЦ); фагоцитоз; снижение уровня экспрессии рецепторов клеточной поверхности (например, В-клеточного рецептора); отсутствие активации тромбоцитов, экспрессирующих рецептор Fc; и активацию В-клеток. Многие эффекторные функции начинаются со связывания Fc с рецептором Fc $\gamma$ . В некоторых аспектах данного изобретения антитело, нацеленное на опухолевый антиген, обладает эффекторной функцией, например, активностью АЗКЦ. В некоторых аспектах данного изобретения нацеленное на опухолевый антиген антитело, представленное в данном документе, содержит вариантную константную область, обладающую повышенной эффекторной функцией (например, повышенной способностью опосредовать АЗКЦ) по сравнению с немодифицированной формой константной области.

[0097] При употреблении в контексте данного документа термин «рецептор Fc» относится к полипептиду, обнаруживаемому на поверхности эффекторных клеток иммунной системы, который связывается с областью Fc антитела. В некоторых аспектах данного изобретения рецептор Fc представляет собой рецептор Fc $\gamma$ . Существуют три подкласса рецепторов Fc $\gamma$ : Fc $\gamma$ RI (CD64), Fc $\gamma$ RII (CD32) и Fc $\gamma$ RIII (CD16). Все четыре изоформа IgG (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) связывают и активируют рецепторы Fc – Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RIIA и Fc $\gamma$ RIIA. Fc $\gamma$ RIIB представляет собой ингибиторный рецептор, поэтому связывание антител с этим рецептором не активирует комплемент и клеточные ответы. Fc $\gamma$ RI представляет собой высокоаффинный рецептор, который связывается с IgG в мономерной форме, тогда как Fc $\gamma$ RIIA и Fc $\gamma$ RIIA представляет собой низкоаффинные рецепторы, которые связывают IgG только в мультимерной форме и имеют несколько более низкую аффинность. Связывание антитела с рецептором Fc и (или) с C1q регулируется специфическими остатками или доменами в областях Fc. Связывание также зависит от остатков, расположенных в шарнирной области и в части CH2 антитела. В некоторых аспектах данного изобретения агонистическая и (или) терапевтическая активности представленных в данном документе антител зависят от связывания области Fc с рецептором Fc (например, с Fc $\gamma$ R). В некоторых аспектах данного изобретения агонистическая и (или) терапевтическая активности представленных в данном документе антител усиливаются от связывания области Fc с рецептором Fc (например, с Fc $\gamma$ R).

[0098] Список определенных последовательностей рецептора Fc, применяемых в данном изобретении, представлен в таблице 13 ниже.

[0099] При употреблении в контексте данного документа термин «профиль гликозилирования» определяется как характер расположения и состава углеводных единиц, которые ковалентно присоединены к белку, более конкретно – к белку иммуноглобулина. Профиль гликозилирования гетерологичного антитела может быть охарактеризован как по существу сходный с профилем гликозилирования, который встречается в природе у антител, продуцируемых видами трансгенных животных, отличных от человека, когда рядовой специалист в данной области техники распознает профиль гликозилирования гетерологичного антитела как являющийся более сходным с указанным профилем гликозилирования у видов трансгенных животных, отличных от человека, чем у видов, от которых получены гены СН указанного трансгена.

**[0100]** При употреблении в контексте данного документа термин «антитело человека» включает в себя антитела, имеющие переменные и константные области (при их наличии), происходящие из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Антитела человека согласно данному изобретению могут включать в себя аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (например, мутации, введенные с помощью случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro*, или с помощью соматической мутации *in vivo*) (см., например, работы Lonberg et al., (1994) *Nature* 368 (6474): 856 - 859); Lonberg, (1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113: 49 - 101; Lonberg & Huszar, (1995) *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65 - 93, and Harding & Lonberg, (1995) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 764: 536 - 546). Тем не менее, при употреблении в контексте данного документа термин «антитело человека» не включает в себя антитела, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевых линий других видов млекопитающих, таких как мыши, были вставлены в каркасные последовательности человека (т. е. гуманизированные антитела).

**[0101]** При употреблении в контексте данного документа термин «гетерологичное антитело» определяется в отношении трансгенного, отличного от человека организма, продуцирующего такое антитело. Данный термин относится к антителу, имеющему аминокислотную последовательность или кодирующую последовательность нуклеиновой кислоты, соответствующие тем, которые обнаруживаются в организме, не являющемся трансгенным животным, отличным от человека, и, как правило, из вида, отличного от вида трансгенного животного, отличного от человека.

**[0102]** Термины «индуцирование иммунного ответа» и «усиление иммунного ответа» употребляются взаимозаменяемо и относятся к стимуляции иммунного ответа (т. е. либо пассивного, либо адаптивного) на конкретный антиген. Термин «индуцировать», употребляемый в отношении индуцирования КЗЦ или АЗКЦ, относится к стимуляции конкретных механизмов прямого уничтожения клеток.

**[0103]** При употреблении в контексте данного документа термин «иммуногенная гибель клеток» (также известный как «иммуногенный апоптоз») относится к способу гибели клеток, связанному с активацией одного или большего числа сигнальных путей, которые индуцируют предсмертную экспрессию и испускание молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждением (МФАП, англ. «DAMP») (например, аденозинтрифосфат, АТФ) из опухолевой клетки, что приводит к повышению иммуногенности указанной опухолевой клетки и гибели указанной опухолевой клетки иммуногенным образом (например, путем фагоцитоза). При употреблении в контексте данного документа термин «агент, индуцирующий иммуногенную гибель клеток» относится к химическому, биологическому или фармакологическому агенту, который индуцирует процесс, путь или способ иммуногенной гибели клеток.

**[0104]** При употреблении в контексте данного документа термины «ингибирует», «снижает» или «блокирует» (например, в отношении ингибирования или снижения фосфорилирования STAT1 и (или) STAT3 в клетке, опосредованного ИЛ-27 человека) употребляются взаимозаменяемо и охватывают как частичное, так и полное ингибирование/блокирование. Ингибирование/блокирование ИЛ-27 снижает или изменяет нормальный уровень или тип активности, которая осуществлялась бы при отсутствии ингибирования или блокирования. Ингибирование и блокирование также включают в себя любое измеримое снижение аффинности связывания ИЛ-27 при его контакте с антителом против ИЛ-27 по сравнению с ИЛ-27, не находящимся в контакте с антителом против ИЛ-27, например, связывание ИЛ-27 ингибируется по меньшей мере на около 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%.

[0105] При употреблении в контексте данного документа термины «ингибирует ангиогенез», «уменьшает ангиогенез» и «снижает ангиогенез» относятся к снижению уровня ангиогенеза в ткани до величины, которая составляет по меньшей мере 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% или меньше, чем количество в соответствующей контрольной ткани, и наиболее предпочтительно находится на том же уровне, который наблюдается в контрольной ткани.

[0106] При употреблении в контексте данного документа термин «ингибирует рост» (например, в отношении клеток) предназначен для включения в себя любого измеримого снижения роста клетки, например, ингибирование роста клетки по меньшей мере на около 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99% или 100%.

[0107] При употреблении в контексте данного документа термин «нуждающийся в профилактике», «нуждающийся в лечении» или «нуждающийся в этом» относится к тому, кто по мнению соответствующего медицинского сотрудника (например, врача, медсестры или практикующей медсестры – в случае людей; ветеринара – в случае млекопитающих, отличных от человека), получит надлежащую пользу от данного лечения (например, лечения композицией, содержащей антитело против ИЛ-27).

[0108] Термин «*in vivo*» относится к процессам, происходящим в живом организме.

[0109] При употреблении в контексте данного документа термин «выделенное антитело» предназначен для обозначения антитела, которое по существу не содержит другие антитела, имеющие другую антигенную специфичность (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с ИЛ-27 человека, по существу не содержит антител, которые специфически связывают антигены, отличные от ИЛ-27). Тем не менее, выделенное антитело, которое специфически связывается с эпитопом, может иметь перекрестную реактивность с другими белками ИЛ-27 из разных видов. Тем не менее, указанное антитело продолжает демонстрировать специфическое связывание с ИЛ-27 человека в анализе специфического связывания, как описано в данном документе. В дополнение к этому, выделенное антитело, как правило, по существу не содержит другого клеточного материала и (или) химических веществ. В некоторых аспектах данного изобретения комбинация «выделенных» антител, обладающих различной специфичностью в отношении ИЛ-27, объединена в четко определенную композицию.

[0110] При употреблении в контексте данного документа термин «молекула выделенной нуклеиновой кислоты» относится к нуклеиновым кислотам, кодирующим антитела или части антител (например,  $V_H$ ,  $V_L$ , CDR3), которые связываются с ИЛ-27, и предназначен для обозначения молекулы нуклеиновой кислоты, в которой нуклеотидные последовательности, кодирующие указанное антитело или его часть, не содержат других нуклеотидных последовательностей, кодирующих антитела или части антител, которые связывают антигены, отличные от ИЛ-27, при этом другие последовательности могут естественным образом фланкировать нуклеиновую кислоту в геномной ДНК человека. Например, последовательность, выбранная из набора последовательностей, представленного в таблице 12, соответствует нуклеотидным последовательностям, содержащим переменные области тяжелой цепи ( $V_H$ ) и легкой цепи ( $V_L$ ) моноклональных антител против ИЛ-27, описанных в данном документе.

[0111] При употреблении в контексте данного документа термин «изотип» относится к классу антител (например, IgM или IgG1), который кодируется генами константной области тяжелой цепи. В некоторых аспектах данного изобретения моноклональное антитело человека согласно данному изобретению относится к изотипу IgG1. В некоторых аспектах данного изобретения моноклональное антитело человека согласно данному изобретению относится к изотипу IgG2. В некоторых аспектах данного изобретения моноклональное антитело человека согласно данному изобретению относится к изотипу IgG3. В некоторых аспектах данного

изобретения моноклональное антитело человека согласно данному изобретению относится к изотипу IgG4. Как очевидно квалифицированному специалисту в данной области техники, идентификация изотипов антител (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE) является рутинной в данной области техники и, как правило, включает в себя комбинацию выравнивания последовательностей с известными антителами, опубликованными последовательностями вариантов по Fc и консервативными последовательностями.

**[0112]** При употреблении в контексте данного документа термин «переключение изотипа» относится к явлению, посредством которого класс или изотип антитела изменяется с одного класса Ig на один из других классов Ig.

**[0113]** При употреблении в контексте данного документа термин « $K_D$ » или « $K_D$ » относится к равновесной константе диссоциации в реакции связывания между антителом и антигеном. Значение  $K_D$  представляет собой числовое отображение отношения константы скорости диссоциации антитела ( $k_d$ ) к константе скорости ассоциации антитела ( $k_a$ ). Величина  $K_D$  обратно пропорциональна аффинности связывания антитела с антигеном. Чем меньше значение  $K_D$ , тем выше аффинность антитела к его антигену. Аффинность представляет собой силу связывания отдельной молекулы с ее лигандом и обычно измеряется и отображается с помощью равновесной константы диссоциации ( $K_D$ ), которая используется для оценки и ранжирования силы бимолекулярных взаимодействий.

**[0114]** При употреблении в контексте данного документа термин « $k_d$ » или « $k_d$ » (в качестве альтернативы – « $k_{off}$ » или « $k_{off}$ ») предназначен для обозначения константы скорости диссоциации антитела из комплекса антитело – антиген. Значение  $k_d$  представляет собой числовое отображение доли комплексов, которые распадаются или диссоциируют в секунду, и выражается в единицах  $\text{сек}^{-1}$ .

**[0115]** При употреблении в контексте данного документа термин « $k_a$ » или « $k_a$ » (в качестве альтернативы – « $k_{on}$ » или « $k_{on}$ ») предназначен для обозначения константы скорости ассоциации антитела с антигеном. Значение  $k_a$  представляет собой числовое отображение числа комплексов антитело – антиген, образующихся за секунду в 1-молярном (1M) растворе антитела и антигена, и выражается в единицах  $\text{M}^{-1}\text{c}^{-1}$ .

**[0116]** При употреблении в контексте данного документа термин «лейкоцит» относится к типу белых клеток крови, участвующих в защите организма от инфекционных организмов и чужеродных веществ. Лейкоциты образуются в костном мозге. Существует 5 основных типов лейкоцитов, подразделяющиеся на 2 основные группы: полиморфноядерные лейкоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) и мононуклеарные лейкоциты (моноциты и лимфоциты).

**[0117]** При употреблении в контексте данного документа термин «лимфоциты» относится к типу белых клеток крови, или лейкоцитов, которые участвуют в иммунной защите организма. Существует два основных типа лимфоцитов: В-клетки и Т-клетки.

**[0118]** При употреблении в контексте данного документа термины «связанный», «слитый» или «слияние» используются взаимозаменяемо. Эти термины относятся к соединению вместе двух или большего числа элементов, компонентов или доменов любыми способами, включая химическую конъюгацию или рекомбинантные способы. Способы химической конъюгации (например, с использованием гетеробифункциональных перекрестно-сшивающих агентов) известны в данной области техники.

**[0119]** При употреблении в контексте данного документа термин «местное введение» или «местная доставка» относится к доставке, не зависящей от транспортировки композиции или терапевтического агента к предназначенной целевой ткани или целевой области через сосудистую систему. Например, композицию можно доставлять с помощью инъекции или имплантации композиции или агента, либо путем инъекции или имплантации устройства, содержащего композицию или агент. После местного введения вблизи целевой

ткани или целевой области композиция, агент, или один или большее число их компонентов могут диффундировать к предназначенной целевой ткани или целевой области.

**[0120]** При употреблении в контексте данного документа термин «молекулы ГКГ» относится к двум типам молекул: ГКГ класса I и ГКГ класса II. Молекулы ГКГ класса I презентуют антиген определенным CD8+ Т-клеткам, а молекулы ГКГ класса II презентуют антиген определенным CD4+ Т-клеткам. Антигены, доставляемые к АПК экзогенно, проходят процессинг главным образом для ассоциации с ГКГ класса II. Напротив, антигены, доставляемые к АПК эндогенно, проходят процессинг главным образом для ассоциации с ГКГ класса I.

**[0121]** При употреблении в контексте данного документа термин «моноклональное антитело» относится к антителу, которое проявляет единственную специфичность связывания и аффинность к конкретному эпитопу. Соответственно, термин «моноклональное антитело человека» относится к антителу, которое проявляет единственную специфичность связывания и которое имеет переменные и постоянные константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. В некоторых аспектах данного изобретения моноклональные антитела человека продуцируются гибридомой, которая включает в себя В-клетку, полученную от трансгенного животного, отличного от человека, например, трансгенной мыши, имеющей геном, содержащий трансген тяжелой цепи человека и трансген легкой цепи человека, слитые с иммортализованной клеткой.

**[0122]** При употреблении в контексте данного документа термин «моноцит» относится к типу лейкоцитов и может дифференцироваться в макрофаги и дендритные клетки для осуществления иммунного ответа.

**[0123]** При употреблении в контексте данного документа термин «естественные клетки-киллеры (NK)» относится к типу цитотоксических лимфоцитов. Это крупные, как правило зернистые, не-Т-, не-В-лимфоциты, убивающие определенные опухолевые клетки и играющие важную роль во врожденном иммунитете к вирусам и другим внутриклеточным патогенам, а также в антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (АЗКЦ).

**[0124]** При употреблении в контексте данного документа термин «встречающийся в природе» применительно к объекту относится к тому факту, что данный объект можно найти в природе. Например, полипептидная или полинуклеотидная последовательности, присутствующие в организме (включая вирусы), которые могут быть выделены из источника в природе и которые не были преднамеренно изменены человеком в лаборатории, встречаются в природе.

**[0125]** При употреблении в контексте данного документа термин «непереключаемый изотип» относится к изотипическому классу тяжелой цепи, которая продуцируется, когда не происходит переключения изотипа; ген СH, кодирующий непереключаемый изотип, обычно представляет собой первый ген СH, расположенный непосредственно в направлении к 3' функционально реаранжированного гена VDJ. Переключение изотипа классифицируется как классическое или неклассическое переключение изотипа. Классическое переключение изотипа происходит в результате событий рекомбинации, в которых участвует по меньшей мере один участок последовательности переключения в данном трансгене. Неклассическое переключение изотипа может происходить, например, путем гомологичной рекомбинации между  $\sigma_{\mu}$  человека и  $\Sigma_{\mu}$  человека ( $\delta$ -ассоциированная делеция). Могут происходить альтернативные неклассические механизмы переключения, такие как межтрансгенная и (или) межхромосомная рекомбинация, среди прочего, и вызывать переключение изотипа.

**[0126]** При употреблении в контексте данного документа термин «нуклеиновая кислота» относится к дезоксирибонуклеотидам или рибонуклеотидам и их полимерам либо в одно-, либо в двухцепочечной форме.

Если не указаны специальные ограничения, данный термин включает в себя нуклеиновые кислоты, содержащие известные аналоги природных нуклеотидов, которые обладают связывающими свойствами, сходными со свойствами референсной нуклеиновой кислоты, и метаболизируются способом, сходным с таковым для встречающихся в природе нуклеотидов. Если не указано иное, подразумевается, что конкретная последовательность нуклеиновой кислоты также включает в себя ее консервативно модифицированные варианты (например, замены вырожденных кодонов) и комплементарные последовательности так же, как и явно указанную последовательность. В частности, замены вырожденных кодонов можно получить путем создания последовательностей, в которых третье положение одного или большего числа выбранных (или всех) кодонов замещено смешанным основанием и (или) остатками дезоксиинозина (Batzer et al., *Nucleic Acid Res.* 19: 5081, 1991; Ohtsuka et al., *Biol. Chem.* 260: 2605 - 2608, 1985; и Cassol et al, 1992; Rossolini et al, *Mol. Cell. Probes* 8: 91 - 98, 1994). Для аргинина и лейцина модификации второго основания также могут быть консервативными. Термин «нуклеиновая кислота» употребляется в данном документе взаимозаменяемо в отношении гена, кДНК и мРНК, кодируемых геном.

[0127] Используемые в данном изобретении полинуклеотиды могут состоять из любых полирибонуклеотидов или полидезоксирибонуклеотидов, которые могут представлять собой немодифицированные РНК или ДНК, или модифицированные РНК или ДНК. Например, полинуклеотиды могут состоять из одноцепочечной и двухцепочечной ДНК, ДНК, представляющей собой смесь одноцепочечных и двухцепочечных участков, одноцепочечной и двухцепочечной РНК, а также РНК, представляющей собой смесь одноцепочечных и двухцепочечных участков, гибридных молекул, содержащих ДНК и РНК, которые могут быть одноцепочечными или, что более типично, двухцепочечными, или смесью одноцепочечных и двухцепочечных областей. Кроме того, полинуклеотид может состоять из трехцепочечных участков, содержащих РНК или ДНК, или как РНК, так и ДНК. Полинуклеотид может также содержать одно или большее число модифицированных оснований, или каркасы ДНК или РНК, модифицированные для стабильности или по другим причинам. «Модифицированные» основания включают в себя, например, тритилированные основания и необычные основания, такие как инозин. В ДНК и РНК могут быть внесены различные модификации; таким образом, «полинуклеотид» включает в себя химически, ферментативно или метаболически модифицированные формы.

[0128] Нуклеиновая кислота является «функционально связанной», когда она находится в функциональной взаимосвязи с другой последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, промотор или энхансер функционально связаны с кодирующей последовательностью, если они влияют на транскрипцию указанной последовательности. Что касается последовательностей, регулирующих транскрипцию, термин «функционально связанные» означает, что связываемые последовательности ДНК являются смежными и, если необходимо для соединения двух областей, кодирующих белок, являются смежными и находятся в рамке считывания. Для последовательностей переключателей термин «функционально связанные» указывает на то, что указанные последовательности способны осуществлять рекомбинацию переключателей.

[0129] При употреблении в контексте данного документа «парентеральное введение», «вводят парентерально» и другие грамматически эквивалентные фразы относятся к способам введения, не являющимися энтеральным и местным введением, обычно выполняемым путем инъекции и включающим в себя, без ограничений, внутривенные, интраназальные, внутриглазные, внутримышечные, внутриартериальные, интратекальные, внутрикапсулярные, внутриглазничные, внутрисердечные, внутрикожные, внутрибрюшинные, транстрахеальные, подкожные, субкутикулярные, внутрисуставные,

субкапсулярные, субарахноидальные, интраспинальные, эпидуральные, интрацеребральные, внутричерепные, интракаротидные или внутривенные инъекции и инфузии.

**[0130]** При употреблении в контексте данного документа термин «пациент» включает в себя людей и других субъектов-млекопитающих, которые получают профилактическое или терапевтическое лечение.

**[0131]** При употреблении в контексте данного документа термин «антагонист PD-1» относится к любому химическому соединению или биологической молекуле, которые ингибируют сигнальный путь PD-1 или иным образом ингибируют функцию PD-1 в клетке (например, клетке иммунной системы). В некоторых аспектах данного изобретения антагонист PD-1 блокирует связывание PD-L1 с PD-1 и (или) PD-L2 с PD-1. В некоторых аспектах данного изобретения антагонист PD-1 специфически связывает PD-1. В некоторых аспектах данного изобретения антагонист PD-1 специфически связывает PD-L1.

**[0132]** Термин «процент идентичности», при употреблении в контексте двух или большего числа последовательностей нуклеиновых кислот или последовательностей полипептидов, относится к двум или большему числу последовательностей или подпоследовательностей, которые имеют определенный процент нуклеотидов или аминокислотных остатков, которые являются одинаковыми при сравнении и выравнивании для максимального соответствия, как измерено с применением одного из алгоритмов сравнения последовательностей, описанных ниже (например, BLASTP и BLASTN или других алгоритмов, доступных специалистам в данной области техники), или при визуальной оценке. В зависимости от применения «процент идентичности» может существовать в области сравниваемой последовательности, например, в функциональном домене, или, в качестве альтернативы, может существовать по всей длине двух сравниваемых последовательностей. Для сравнения последовательностей, как правило, одну последовательность рассматривают как референсную последовательность, с которой сравнивают исследуемые последовательности. В случае применения алгоритма для сравнения последовательностей исследуемую и референсную последовательности вносят в компьютер, при необходимости обозначают координаты подпоследовательностей, и устанавливают параметры программы – алгоритма для сравнения последовательностей. Алгоритм для сравнения последовательностей затем рассчитывает процент идентичности для исследуемой последовательности (-ей) относительно референсной последовательности на основе указанных параметров программы.

**[0133]** Оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения можно выполнить, например, с помощью алгоритма локальной гомологии согласно Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2: 482 (1981), с помощью алгоритма гомологичного выравнивания согласно Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48: 443 (1970), с помощью способа поиска подобия согласно Pearson & Lipman, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85: 2444 (1988), с помощью компьютеризированных реализаций указанных алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в программном пакете Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., г. Мадисон, штат Висконсин, США) или с помощью визуальной оценки (см. в общих чертах Ausubel et al., ниже).

**[0134]** Одним из примеров алгоритма, который подходит для определения процента идентичности последовательностей и сходства последовательностей, является алгоритм BLAST, который описан в работе Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215: 403 - 410 (1990). Программное обеспечение для проведения анализов по алгоритму BLAST общедоступно на веб-сайте Национального центра биотехнологической информации США (англ. «National Center for Biotechnology Information»).

**[0135]** При употреблении в контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый» в общем используется для обозначения таких соединений, материалов, композиций и (или) лекарственных составов,

которые с медицинской точки зрения являются подходящими для применения в контакте с тканями, органами и (или) физиологическими жидкостями человека и животных, без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, пропорционально разумному соотношению польза/риск.

**[0136]** При употреблении в контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый носитель» обозначает и включает в себя всевозможные растворители, дисперсионные среды, покрытия оболочкой, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и задерживающие всасывание агенты и т. п., являющиеся физиологически совместимыми. Композиция может включать в себя фармацевтически приемлемую соль, например, соль присоединения кислоты или соль присоединения основания (см., например, работу Berge et al. (1977) *J Pharm Sci* 66: 1 - 19).

**[0137]** При употреблении в контексте данного документа термины «полипептид», «пептид» и «белок» применяются взаимозаменяемо для обозначения полимера из аминокислотных остатков. Данные термины применяют к аминокислотным полимерам, в которых один или большее число аминокислотных остатков являются искусственными химическими миметиками соответствующих встречающихся в природе аминокислот, так же как и к встречающимся в природе аминокислотным полимерам и к не встречающимся в природе аминокислотным полимерам.

**[0138]** При употреблении в контексте данного документа термин «профилактика», при использовании в отношении патологического состояния, относится к введению композиции, которая снижает частоту или отсрочивает появление симптомов данного патологического состояния у субъекта по сравнению с субъектом, который не получает данную композицию.

**[0139]** При употреблении в контексте данного документа термин «очищенный» или «выделенный», при использовании в отношении любого из описанных в данном документе белков (антител или фрагментов), относится к полипептиду, который был отделен или очищен от компонентов (например, белков или других встречающихся в природе биологических или органических молекул), которые естественным образом сопровождают его, например, от других белков, липидов и нуклеиновых кислот в прокариотах, экспрессирующих указанные белки. Как правило, полипептид является очищенным, когда он составляет по меньшей мере 60% (например, по меньшей мере 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97% или 99%) по массе от общего белка в образце.

**[0140]** При употреблении в контексте данного документа термин «белок 1 запрограммированной гибели клеток», или «PD-1», относится к полипептиду белка 1 запрограммированной гибели клеток – иммуноингибиторному рецептору, принадлежащему к семейству CD28 и кодируемому геном *PDCD1* у человека. Альтернативные названия или синонимы для PD-1 включают в себя следующие: PDCD1, PD1, CD279 и SLEB2. PD-1 экспрессируется преимущественно на предварительно активированных Т-клетках, В-клетках и миелоидных клетках *in vivo* и связывается с двумя лигандами – PD-L1 и PD-L2. При употреблении в контексте данного документа термин «PD-1» включает в себя PD-1 человека (чPD-1), варианты, изоформы и видовые гомологи чPD-1, а также аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с чPD-1. Полную последовательность чPD-1 можно найти под регистрационным номером GenBank AAC51773.

**[0141]** При употреблении в контексте данного документа термин «лиганд 1 запрограммированной смерти», или «PD-L1», представляет собой один из двух гликопротеиновых лигандов клеточной поверхности для PD-1 (другим является PD-L2), который подавляет активацию Т-клеток и секрецию цитокинов при связывании с PD-1. Альтернативные названия и синонимы для PD-L1 включают в себя следующие: PDCD1L1, PDL1, B7H1, B7-4, CD274 и B7-H. При употреблении в контексте данного документа термин «PD-L1» включает в себя PD-

L1 человека (чPD-L1), варианты, изоформы и видовые гомологи чPD-L1, а также аналоги, имеющие по меньшей мере один общий эпитоп с чPD-L1. Полную последовательность чPD-L1 можно найти под регистрационным номером GenBank Q9NZQ7.

**[0142]** PD-1 известен как иммуноингибиторный белок, который негативно регулирует сигналы ТКР (Ishida, Y. et al. (1992) *EMBO J.* 11: 3887 - 3895; Blank, C. et al. (Epub 2006 Dec. 29) *Immunol. Immunother.* 56 (5): 739 - 745). Взаимодействие между PD-1 и PD-L1 может действовать как иммунная контрольная точка, что может приводить к снижению опосредованной Т-клеточным рецептором пролиферации (Dong et al. (2003) *J. Mol. Med.* 81: 281 - 7; Blank et al. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54: 307 - 314; Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10: 5094 - 100). Иммунную супрессию можно обратить путем ингибирования локального взаимодействия PD-1 с PD-L1 или с PD-L2; данный эффект является аддитивным, если также блокируется взаимодействие PD-1 с PD-L2 (Iwai et al. (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99: 12293 - 7; Brown et al. (2003) *J. Immunol.* 170: 1257 - 66).

**[0143]** Для некоторых видов онкологических заболеваний выживаемость и пролиферация опухоли поддерживаются опосредованной опухолью модуляцией иммунных контрольных точек. Такая модуляция может привести к нарушению противораковых функций иммунной системы. Например, недавние исследования показали, что экспрессия лигандов рецепторов иммунных контрольных точек, таких как PD-L1 или PD-L2, опухолевыми клетками может подавлять активность иммунной системы в микроокружении опухоли и способствовать защите рака от иммунной системы, в частности, путем супрессии Т-клеток. PD-L1 обильно экспрессируется различными видами рака человека (Dong et al., (2002) *Nat Med* 8: 787 - 789). PD-1 – рецептор для PD-L1 – экспрессируется на лимфоцитах (например, на активированных Т-клетках) и в норме участвует в снижении реактивности иммунной системы и обеспечении аутоотолерантности, в частности, путем супрессии Т-клеток. Тем не менее, когда рецепторы PD-1, экспрессированные на Т-клетках, связываются со собственными им лигандами PD-L1 на опухолевых клетках, возникающая в результате супрессия Т-клеток способствует нарушению иммунного ответа против данной опухоли (например, снижению уровня инфильтрирующих опухоль лимфоцитов или стойкому уклонению раковых клеток от иммунного ответа).

**[0144]** В больших наборах образцов, например, рака яичника, рака почки, колоректального рака, рака поджелудочной железы, рака печени и меланомы, было показано, что экспрессия PD-L1 коррелирует с неблагоприятным прогнозом и снижает общую выживаемость независимо от последующего лечения (см., например, работы Dong et al., (2002) *Nat Med* 8 (8): 793 - 800; Yang et al., (2008) *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 (6): 2518 - 2525; Ghebeh et al., (2006) *Neoplasia* 8: 190 - 198; Hamaishi et al., (2007) *Proc Nat Acad Sci USA* 104: 3360 - 3365; Thompson et al., (2006) *Clin Genitourin Cancer* 5: 206 - 211; Nomi et al., (2005) *Clin Cancer Res* 11: 2947 - 2953; Inman et al., (2007) *Cancer* 109: 1499 - 1505; Shimauchi et al., (2007) *Int J Cancer* 121: 2585 - 2590; Gao et al., (2009) *Clin Cancer Res* 15: 971 - 979; Nakanishi et al., (2007) *Cancer Immunol Immunother* 56: 1173 - 1182; Hino et al., (2010) *Cancer* 116 (7): 1757 - 1766). Точно так же было обнаружено, что экспрессия PD-1 на опухолевых лимфоцитах обозначает Т-клетки с нарушенной функцией при раке молочной железы (Kitano et al., (2017) *ESMO Open* 2 (2): e000150) и меланоме (Kleffel et al., (2015) *Cell* 162 (6): 1242 - 1256). Были разработаны антагонисты PD-1, которые, например, влияют на функцию сигнальной оси PD-1/PD-L1/PD-L2 и (или) нарушают взаимодействие между PD-1 с PD-L1, и (или) с PD-L2, и которые представляют собой новый класс противоопухолевых ингибиторов, функционирующих посредством модуляции взаимодействия клеток иммунной системы и опухолевых клеток.

**[0145]** При употреблении в контексте данного документа термин «реаранжированный» относится к конфигурации локуса тяжелой цепи или легкой цепи иммуноглобулина, при которой сегмент V расположен

непосредственно смежно с сегментом D-J или J в конформации, кодирующей по существу полный домен  $V_H$  или  $V_L$ , соответственно. Рearанжированный локус гена иммуноглобулина можно идентифицировать путем сравнения с ДНК зародышевой линии; rearанжированный локус будет иметь по меньшей мере один перестроенный гептамерный/нонамерный элемент гомологии.

**[0146]** При употреблении в контексте данного документа термин «рекомбинантная клетка-хозяин» (или просто «клетка-хозяин») относится к клетке, в которую был введен рекомбинантный вектор экспрессии. Следует понимать, что такие термины предназначены для обозначения не только конкретной указанной клетки, но и клеток, происходящих из нее. Поскольку некоторые модификации могут произойти в последующих поколениях вследствие мутаций или воздействия окружающей среды, такое потомство не может, по сути, быть идентичным родительской клетке, но тем не менее включено в термин «клетка-хозяин» при употреблении в контексте данного документа.

**[0147]** При употреблении в контексте данного документа термин «рекомбинантное антитело человека» включает в себя все антитела человека, которые получают, экспрессируют, создают или выделяют с помощью рекомбинантных способов, например: (а) антитела, выделенные из животного (например, мыши), которое является трансгенным или трансхромосомным по генам иммуноглобулина человека, или полученная из них гибридома; (b) антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированной для экспрессии данного антитела, например, из трансфектомы; (с) антитела, выделенные из комбинаторной библиотеки рекомбинантных антител человека; и (d) антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, которые включают в себя сплайсинг последовательностей гена иммуноглобулина человека с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека содержат переменные и константные области, в которых используются определенные последовательности иммуноглобулинов зародышевой линии человека, кодируемые генами указанной зародышевой линии, но включающие в себя последующие rearанжировки и мутации, которые происходят, например, во время созревания антитела. Как известно в данной области техники (см., например, работу Lonberg (2005) Nature Biotech. 23 (9): 1117 - 1125), переменная область содержит антигенсвязывающий домен, который кодируется различными генами, которые rearанжируются с образованием антитела, специфичного к чужеродному антигену. В дополнение к rearанжировке, переменная область может быть дополнительно модифицирована путем множественных замен отдельных аминокислот (называемых соматической мутацией или гипермутацией) для повышения аффинности антитела к чужеродному антигену. Константная область изменится при дальнейшем ответе на антиген (т. е. при переключении изотипа). Следовательно, rearанжированные и соматически мутированные молекулы нуклеиновой кислоты, которые кодируют полипептиды легкой и тяжелой цепей иммуноглобулина в ответ на антиген, могут не иметь идентичности последовательности с исходными молекулами нуклеиновой кислоты, а вместо этого будут по существу идентичными или подобными (т. е. будут по меньшей мере на 80% идентичны).

**[0148]** При употреблении в контексте данного документа термин «референсное антитело» (используемый взаимозаменяемо с термином «референсное АТ»), или «референсный антигенсвязывающий белок», относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, которые связываются со специфическим эпитопом на ИЛ-27 и используется для установления взаимосвязи между ним и одним или большим числом различных антител, при этом указанная взаимосвязь представляет собой связывание указанного референсного антитела и указанных одного или большего числа других антител с одним и тем же эпитопом на ИЛ-27. При употреблении в контексте данного документа данный термин означает антитело против ИЛ-27, которое можно использовать в тесте или анализе, например, таких, как описанные в данном документе (например,

анализ конкурентного связывания), в качестве конкурирующей молекулы, при этом указанный анализ пригоден для обнаружения, идентификации или разработки одного или большего числа различных антител, которые связываются с одним и тем же эпитопом.

**[0149]** При употреблении в контексте данного документа термины «специфическое связывание», «избирательное связывание», «избирательно связывает» и «специфически связывает» относятся к связыванию антитела с эпитопом на заранее определенном антигене. Как правило, связывание антитела характеризуется константой равновесной диссоциации ( $K_D$ ), равной меньше чем около  $10^{-6}$  М, например, равной меньше чем около  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  М,  $10^{-9}$  М или  $10^{-10}$  М или даже меньше, при ее определении с помощью технологии поверхностного плазмонного резонанса (ППР) на анализаторе BIACORE 2000 с использованием рекомбинантного ИЛ-27 человека в качестве аналита и указанного антитела в качестве лиганда, который связывается с предопределенным антигеном с аффинностью, которая по меньшей мере в два раза превышает его аффинность связывания с неспецифическим антигеном (например, бычьим сывороточным альбумином (БСА), казеином), отличным от указанного предопределенного антигена или близкородственного антигена. В определенных аспектах данного изобретения антитело, которое специфически связывается с ИЛ-27, характеризуется константой равновесной диссоциации ( $K_D$ ) для данного связывания, равной меньше чем около 100 нМ ( $10^{-7}$  М), необязательно – равной меньше чем около 50 нМ ( $5 \times 10^{-8}$  М), необязательно – равной меньше чем около 15 нМ ( $1,5 \times 10^{-8}$  М), необязательно – равной меньше чем около 10 нМ ( $10^{-8}$  М), необязательно – равной меньше чем около 5 нМ ( $5 \times 10^{-9}$  М), необязательно – равной меньше чем около 1 нМ ( $10^{-9}$  М), необязательно – равной меньше чем около 0,1 нМ ( $10^{-10}$  М), необязательно – равной меньше чем около 0,01 нМ ( $10^{-11}$  М) или даже меньше, при ее определении с помощью технологии поверхностного плазмонного резонанса (ППР) на анализаторе BIACORE 2000 с использованием рекомбинантного ИЛ-27 человека в качестве аналита и указанного антитела в качестве лиганда, при этом связывание с предопределенным антигеном происходит с аффинностью, которая по меньшей мере в два раза превышает аффинность связывания указанного антигена с неспецифическим антигеном (например, с БСА, с казеином), отличным от указанного предопределенного антигена или близкородственного антигена. Фразы «антитело, распознающее антиген» и «антитело, специфичное в отношении антигена», употребляются в данном документе взаимозаменяемо с термином «антитело, которое специфически связывается с антигеном».

**[0150]** При употреблении в контексте данного документа термин «фосфорилирование STAT1» относится к фосфорилированию полипептида – трансдуктора сигналов и активатора транскрипции 1 (STAT1), фактора транскрипции, кодируемого геном *STAT1* у человека. Молекулы STAT фосфорилируются рецептор-ассоциированными киназами, которые вызывают активацию и димеризацию путем образования гомодимеров или гетеродимеров, которые транслоцируются в ядро, чтобы функционировать в качестве факторов транскрипции. STAT1 может быть активирован (т. е. фосфорилирован) в ответ на передачу сигналов посредством нескольких лигандов, включая ИЛ-27. Передача сигналов ИЛ-27 посредством ИЛ-27R приводит к фосфорилированию STAT1 (pSTAT1). STAT1 играет ключевую роль в экспрессии генов, участвующих в выживании клетки, жизнеспособности или ответе на патогены. Способы определения фосфорилирования STAT1 как результата передачи сигнала ИЛ-27 включают в себя, но не ограничиваются им, проточный цитометрический анализ клеток, меченных антителами, которые специфически распознают фосфорилированный STAT1 (см., например, работу Tochizawa et al., (2006) J Immunol Methods 313 (1 - 2): 29 - 37).

**[0151]** При употреблении в контексте данного документа термин «фосфорилирование STAT3» относится к фосфорилированию полипептида – трансдуктора сигналов и активатора транскрипции 3 (STAT3), фактора

транскрипции, кодируемого геном *STAT3* у человека. *STAT3* опосредует экспрессию множества генов в ответ на клеточные стимулы и, таким образом, играет ключевую роль во многих клеточных процессах, таких как рост клеток и апоптоз. Способы определения фосфорилирования *STAT3* как результата передачи сигнала ИЛ-27 включают в себя, но не ограничиваются им, анализ клеток или клеточных экстрактов, меченных антителами, которые специфически распознают фосфорилированный *STAT3* (см., например, работу Fursov et al., (2011) *Assay Drug Dev Technol* 9 (4): 420 - 429).

**[0152]** При употреблении в контексте данного документа термин «последовательность переключения» относится к тем последовательностям ДНК, которые ответственны за рекомбинацию переключения. Последовательность «переключателя-донора», как правило, область переключения  $\mu$ , будет находиться в направлении к 5' (т. е. выше по направлению кодирующей цепи) от области конструкции, подлежащей удалению во время рекомбинации переключения. Область «переключателя-акцептора» будет находиться между удаляемой областью конструкции и замещающей константной областью (например,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  и т. д.). Поскольку нет конкретного сайта, где всегда происходит рекомбинация, окончательная последовательность гена обычно не может быть предсказана на основании конструкции.

**[0153]** При употреблении в контексте данного документа термин «субъект» включает в себя любого человека или животное, отличное от человека. Например, способы и композиции согласно данному изобретению можно применять для лечения субъекта с иммунным нарушением. Термин «животное отличное от человека» включает в себя всех позвоночных животных, например, млекопитающих и не млекопитающих, таких как приматы, отличные от человека, овцы, собаки, коровы, куры, амфибии, рептилии и т. д.

**[0154]** Для нуклеиновых кислот термин «существенная гомология» обозначает, что две нуклеиновые кислоты или их указанные последовательности при оптимальном выравнивании и сравнении являются идентичными, с соответствующими вставками или делециями нуклеотидов, по меньшей мере в около 80% нуклеотидов, как правило – по меньшей мере в от около 90% до около 95%, и более предпочтительно – по меньшей мере в от около 98% до около 99,5% нуклеотидов. В качестве альтернативы, существенная гомология существует, когда сегменты будут гибридизироваться в условиях селективной гибридизации с цепью, комплементарной данной цепи.

**[0155]** Процент идентичности между двумя последовательностями представляет собой функцию числа идентичных положений, общих для данных последовательностей (т. е., % гомологии = число идентичных положений  $\times$  100), принимая во внимание число гэпов и длину каждого гэпа, который должен быть введен для оптимального выравнивания двух данных последовательностей. Сравнение последовательностей и определение процента идентичности между двумя последовательностями может быть достигнуто с использованием математического алгоритма, как описано в неограничивающих примерах, представленных ниже.

**[0156]** Процент идентичности между двумя нуклеотидными последовательностями можно определить с помощью программы GAP в программном пакете GCG (доступен по адресу: <http://www.gcg.com>), с использованием матрицы NWSgapdna.CMP и штрафа за открытие гэпа, который равен 40, 50, 60, 70 или 80, и штрафа за длину гэпа, который равен 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Процент идентичности между двумя нуклеотидными или аминокислотными последовательностями также можно определить с помощью алгоритма Э. Мейерса и У. Миллера (E. Meyers, W. Miller, *CABIOS*, 4: 11 - 17 (1989)), который включен в программу ALIGN (версия 2.0), с использованием таблицы весов замен остатков PAM120, штрафа за длину гэпа, который равен 12, и штрафа за открытие гэпа, который равен 4. В дополнение к этому, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма Нидлмана – Вунша

(Needleman and Wunsch, *J. Mol. Biol.* (48): 444 - 453 (1970)), который включен в программу GAP в программном пакете GCG (доступен по адресу: <http://www.gcg.com>), с использованием матрицы Blossum 62 или матрицы PAM250, штрафа за открытие гэпа, который равен 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4, штрафа за длину гэпа, который равен 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

**[0157]** Последовательности нуклеиновых кислот и белков согласно данному изобретению могут быть дополнительно использованы в качестве «запрашиваемой последовательности» для выполнения поиска в общедоступных базах данных, например, для идентификации родственных последовательностей. Такой поиск можно выполнять с помощью программ NBLAST и XBLAST (версия 2.0) согласно Altschul, *et al.* (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403 - 10. Для получения нуклеотидных последовательностей, гомологичных молекулам нуклеиновых кислот, описанным в данном документе, можно выполнять поиск нуклеотидных последовательностей с помощью BLAST в программе NBLAST, вес = 100, длина слова = 12. Для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекулам белков, описанным в данном документе, можно выполнять поиск белков с помощью BLAST в программе XBLAST, вес = 50, длина слова = 3. Для получения выравниваний с гэпами для целей сравнения можно использовать Gapped BLAST, как описано в работе Altschul *et al.*, (1997) *Nucleic Acids Res.* 25 (17): 3389 - 3402. При использовании программ BLAST и Gapped BLAST можно применять параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST). См. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

**[0158]** Нуклеиновые кислоты могут присутствовать в целых клетках, в клеточном лизате или в частично очищенной или по существу чистой форме. Нуклеиновая кислота является «выделенной» или «по существу чистой», если она очищена от других клеточных компонентов или других загрязняющих соединений, например, других клеточных нуклеиновых кислот или белков, с помощью стандартных методик, включая обработку щелочью / додецилсульфатом натрия (ДСН), разделение в CsCl, колоночную хроматографию, электрофорез в агарозном геле и другие методики, хорошо известные в данной области техники. См. работу F. Ausubel, *et al.*, ed. *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987).

**[0159]** Композиции нуклеиновых кислот согласно данному изобретению, хотя часто и имеют нативную последовательность (за исключением модифицированных сайтов рестрикции и т. п.), могут быть мутированы либо из кДНК, либо из геномной ДНК, либо из их смесей, в соответствии со стандартными методиками, для получения генных последовательностей. Для кодирующих последовательностей такие мутации могут затрагивать аминокислотную последовательность, если таковое является желательным. В частности, предусмотрены последовательности ДНК, по существу гомологичные или происходящие из нативных последовательностей V, D, J, константных последовательностей, последовательностей-переключателей и других подобных последовательностей, описанных в данном документе (при этом «происходящая из» означает, что данная последовательность идентична другой последовательности или модифицирована из нее).

**[0160]** При употреблении в контексте данного документа термин «STING» (альтернативно – TMEM173) относится к стимулятору генов интерферона – белку, который действует и как прямой сенсор цитозольной ДНК, и как адаптерный белок. У человека STING кодируется геном *TMEM173*. STING играет важную роль во врожденном иммунитете. STING индуцирует продукцию интерферона типа I, когда клетки инфицированы внутриклеточными патогенами, такими как вирусы, микобактерии и внутриклеточные паразиты. Интерферон типа I, опосредованный STING, защищает инфицированные клетки и близлежащие клетки от локальной инфекции, связываясь с той же клеткой, которая его секретирует, и с близлежащими клетками.

Иллюстративная аминокислотная последовательность для STING представлена в базе данных NCBI Genbank под регистрационным номером NP\_001288667.

**[0161]** Термин «Т-клетка» относится к типу лейкоцитов, которые можно отличить от других лейкоцитов по наличию Т-клеточного рецептора на их клеточной поверхности. Существует несколько субпопуляций Т-клеток, в том числе, но не ограничиваясь ими, Т-клетки-хелперы (также известные как  $T_H$  клетки или  $CD4^+$  Т-клетки) и их подтипы, в том числе  $T_H1$ ,  $T_H2$ ,  $T_H3$ ,  $T_H17$ ,  $T_H9$  и  $T_{FH}$  клетки, цитотоксические Т-клетки (также известные как  $T_C$  клетки,  $CD8^+$  Т-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты, Т-клетки-киллеры, Т-киллеры), Т-клетки памяти и их подтипы, включая центральные Т-клетки памяти (клетки  $T_{CM}$ ), эффекторные Т-клетки памяти (клетки  $T_{EM}$  и  $T_{EMRA}$ ) и резидентные Т-клетки памяти (клетки  $T_{RM}$ ), регуляторные Т-клетки (также известные как  $T_{reg}$ -клетки или супрессорные Т-клетки) и их подтипы, в том числе  $CD4^+$   $FOXP3^+$   $T_{reg}$ -клетки,  $CD4^+$  $FOXP3^-$   $T_{reg}$ -клетки,  $T_H1$ -клетки,  $T_H3$ -клетки и  $T_{reg}17$ -клетки, Т-клетки – естественные киллеры (также известные как НКТ-клетки), инвариантные Т-клетки, ассоциированные со слизистой оболочкой (ТАСО, англ. «MAIT»), и гамма-дельта Т-клетки ( $\gamma\delta$  Т-клетки), в том числе  $V\gamma9/V\delta2$  Т-клетки. Любые одна или большее число из вышеупомянутых или не упомянутых Т-клеток могут быть целевым типом клеток для способа применения согласно данному изобретению.

**[0162]** При употреблении в контексте данного документа термин «ответ, опосредованный Т-клетками» относится к любому ответу, опосредованному Т-клетками, включая, но не ограничиваясь ими, эффекторные Т-клетки (например,  $CD8^+$  клетки) и Т-хелперы (например,  $CD4^+$  клетки). Ответы, опосредованные Т-клетками, включают в себя, например, Т-клеточную цитотоксичность и пролиферацию Т-клеток.

**[0163]** При употреблении в контексте данного документа термины «терапевтически эффективное количество», или «терапевтически эффективная доза», или аналогичные термины, используемые в данном документе, предназначены для обозначения количества агента (например, антитела против ИЛ-27 или его антигенсвязывающего фрагмента), которое вызовет желаемый биологический или медицинский ответ (например, улучшение одного или большего числа симптомов онкологического заболевания).

**[0164]** При употреблении в контексте данного документа термин «рецептор TAM» относится к протеинтирозинкиназам рецептора TAM (TYRO3, AXL и MER). Рецепторы TAM участвуют в регуляции гомеостаза иммунной системы. При онкологическом заболевании рецепторы TAM выполняют двойную регуляторную роль, контролируя инициацию и прогрессирование развития опухоли и, в то же время, связанные с ней противоопухолевые реакции различных клеток иммунной системы. Дальнейшее описание рецепторов TAM можно найти в работе Paolino and Penninger (2016), *Cancers* 8 (97): doi:10.3390/cancers8100097. При употреблении в контексте данного документа термин «ингибитор рецептора TAM» или «ингибитор TAM» относится к агенту, который ингибирует, блокирует или снижает функцию, или активность, рецептора TAM.

**[0165]** При употреблении в контексте данного документа термин «TIGIT», или Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM», относится к любому нативному TIGIT из любого позвоночного животного, включая млекопитающих, таких как приматы (например, человек) и грызуны (например, мыши и крысы), если не указано иное. TIGIT также известен в данной области техники как DKFZp667A205, FLJ39873, белок 9, содержащий V-набор и домен иммуноглобулина, белок 3, содержащий V-набор и трансмембранный домен, VSIG9, VSTM3 и WUCAM. Данный термин также охватывает собой встречающиеся в природе варианты TIGIT, например, сплайс-варианты или аллельные варианты. Аминокислотную последовательность иллюстративного TIGIT человека можно найти в UniProt под регистрационным номером Q495A1.

[0166] Термины «лечить», «лечит» и «лечение», употребляемые в контексте данного документа, относятся к терапевтическим или профилактическим мерам, описанным в данном документе. Способы «лечения» включают в себя введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, антитела человека согласно данному изобретению, например, субъекту, нуждающемуся в усиленном иммунном ответе против определенного антигена, или субъекту, у которого в конечном итоге может появиться такое нарушение, чтобы предотвратить, вылечить, отсрочить, уменьшить тяжесть или облегчить один или большее число симптомов указанного нарушения или рецидивирующего нарушения, или чтобы продлить выживание субъекта сверх того периода, который ожидается при отсутствии такого лечения.

[0167] При употреблении в контексте данного документа термин «микроокружение опухоли» (МОО, англ. «ТМЕ»; в качестве альтернативы – «микроокружение рака») относится к клеточному окружению или среде, в которой существует опухоль или новообразование, включая окружающие кровеносные сосуды, а также нераковые клетки, включая, но не ограничиваясь ими, клетки иммунной системы, фибробласты, воспалительные клетки костного мозга и лимфоциты. МОО включает в себя также сигнальные молекулы и внеклеточный матрикс. Опухоль и окружающее ее микроокружение тесно связаны и постоянно взаимодействуют. Опухоли могут влиять на микроокружение, высвобождая внеклеточные сигналы, способствуя ангиогенезу опухоли и индуцируя периферическую иммунную толерантность, в то время как клетки иммунной системы в микроокружении могут влиять на рост и развитие опухолевых клеток.

[0168] При употреблении в контексте данного документа термин «нереаранжированная» или «конфигурация зародышевой линии» относится к такой конфигурации, в которой сегмент V не рекомбинирован таким образом, чтобы располагаться непосредственно смежно с сегментом D или J.

[0169] При употреблении в контексте данного документа термин «вектор» предназначен для обозначения молекулы нуклеиновой кислоты, способной переносить другую нуклеиновую кислоту, с ней соединенную. Один из типов вектора представляет собой «плазмиду» – термин, который обозначает кольцевую двуцепочечную петлю ДНК, в которую можно лигировать дополнительные сегменты ДНК. Другой тип вектора представляет собой вирусный вектор, при этом дополнительные сегменты ДНК могут быть лигированы в вирусный геном. Определенные векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальную точку начала репликации, и эписомальные векторы млекопитающих). Другие векторы (например, неэписомальные векторы млекопитающих) могут быть интегрированы в геном клетки хозяина при введении в указанную клетку хозяина и, таким образом, реплицироваться вместе с геномом хозяина. Более того, некоторые векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы в данном документе называются «рекомбинантными векторами экспрессии» (или просто «векторами экспрессии»). Как правило, векторы экспрессии, используемые в методиках рекомбинантной ДНК, часто имеют форму плазмид. В описании данного изобретения «плазида» и «вектор» могут быть взаимозаменяемы, поскольку плазида является наиболее часто применяемой формой вектора. Тем не менее предусматривается, что данное изобретение включает в себя такие другие формы векторов экспрессии, как вирусные векторы (например, дефектные по репликации ретровирусы, аденовирусы и аденоассоциированные вирусы), которые выполняют эквивалентные функции.

[0170] Если не определено иное, все технические и научные термины, употребляемые в данном документе, имеют значение, обычно понимаемое рядовым специалистом в области техники, к которой относится данное изобретение. Предпочтительные способы и материалы описаны ниже, хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, могут быть использованы на

практике или при тестировании данного изобретения. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие документы, упомянутые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки во всей их полноте.

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

**[0171]** **Фиг. 1** представляет собой таблицу, в которой представлены данные об аффинности антител против ИЛ-27, которые способны связываться с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). Измерения аффинности проводились с использованием методов ForteBio и Meso Scale Discovery.

**[0172]** **Фиг. 2А** представляет собой график, показывающий ингибирование опосредованного ИЛ-27 фосфорилирования STAT1 в мононуклеарных клетках периферической крови (МКПК) человека с помощью антител против ИЛ-27, как указано, согласно результатам измерений с помощью проточной цитометрии. **Фиг. 2В** представляет собой график, показывающий ингибирование опосредованного ИЛ-27 фосфорилирования STAT1 в клетках U937 с помощью антител против ИЛ-27, как указано, согласно результатам измерений с помощью проточной цитометрии. **Фиг. 2С** представляет собой график, показывающий ингибирование опосредованного ИЛ-27 фосфорилирования STAT1 в клетках HUT-78 с помощью антител против ИЛ-27, как указано, согласно результатам измерений с помощью проточной цитометрии.

**[0173]** **Фиг. 3** представляет собой график, показывающий, что антитело против ИЛ-27 согласно данному изобретению («Ab1 против ИЛ-27») ингибирует опосредованный ИЛ-27 pSTAT1 в Т-клетках цельной крови человека.

**[0174]** **Фиг. 4** представляет собой график, показывающий изменение опосредованного ИЛ-27 ингибирования экспрессии CD161 в Т-клетках в указанном диапазоне концентраций антител против ИЛ-27. Экспрессию CD161 определяли с помощью проточной цитометрии.

**[0175]** **Фиг. 5А** представляет собой график, показывающий степень усиления антителами против ИЛ-27 PD-1-опосредованной секреции ФНО- $\alpha$  в МКПК человека, согласно результатам измерений с помощью ТИФА. **Фиг. 5В** представляет собой график, показывающий степень усиления антителами против ИЛ-27 PD-1-опосредованной секреции ИЛ-6 в МКПК человека, согласно результатам измерений с помощью ТИФА. На **фиг. 5С – 5D** показано, что ИЛ-27 ингибирует выработку цитокинов (ИЛ-17А, **фиг. 5С**; и ИФН- $\gamma$ , **фиг. 5D**) после блокады PD-1 и восстанавливается в комбинации с Ab1 против ИЛ-27 (сокращения: контр. = контроль, н/з = незначительно, МКПК = мононуклеарные клетки периферической крови, рчИЛ-27 = рекомбинантный человеческий ИЛ-27). На **фиг. 5Е – 5Н** обобщенно представлена наблюдаемая индукция цитокинов ФНО- $\alpha$  (**фиг. 5Е**), ИФН- $\gamma$  (**фиг. 5F**), ИЛ-6 (**фиг. 5G**) и ИЛ-17А (**фиг. 5H**) в активированных культурах МКПК от нескольких отдельных доноров, включая контрольную группу здоровых людей и пациентов с почечно-клеточной карциномой (ПКК), гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК) и раком яичника, когда такие клетки приводили в контакт с антителом Ab1 против ИЛ-27, антителом  $\alpha$ PD-1 или комбинацией антитела Ab1 против ИЛ-27 и антитела  $\alpha$ PD-1.

**[0176]** **Фиг. 6А** представляет собой график, показывающий ингибирование опосредованной ИЛ-27 экспрессии PD-L1 при обработке моноцитов человека антителом против ИЛ-27, согласно результатам измерений с помощью проточной цитометрии. **Фиг. 6В** представляет собой график, показывающий ингибирование опосредованной ИЛ-27 экспрессии TIM3 при обработке моноцитов человека антителом против ИЛ-27, согласно результатам измерений с помощью проточной цитометрии. **Фиг. 6С** представляет

собой график, показывающий ингибирование опосредованной ИЛ-27 экспрессии PD-L1 при обработке покоящихся Т-клеток человека антителом против ИЛ-27, согласно результатам измерений с помощью проточной цитометрии.

**[0177] Фиг. 7А** представляет собой точечную диаграмму, показывающую количество поверхностных метастатических узелков В16F10 в легких (легочные узелки) от мышей с опухолями В16F10, получавших лечение антителом против ИЛ27 (Ab1 против ИЛ-27), контрольным изотипическим антителом, антителом  $\alpha$ WSX-1 или комбинацией антитела  $\alpha$ PD-1 и антитела  $\alpha$ CTLA-4, как указано, согласно результатам измерений с помощью визуального подсчета узелков в легких, выделенных из мышей. На **фиг. 7В** представлен график, показывающий динамику роста билюминесцентных опухолей В16-Luc у мышей, получавших антитело против ИЛ-27 (Ab1 против ИЛ-27) или контрольное изотипическое антитело, согласно результатам измерений с помощью анализа билюминесцентной визуализации. На **фиг. 7С – 7F** показана серия изображений фиксированных срезов легочной ткани, окрашенных гематоксилином и эозином, выделенных из мышей с опухолями В16F10, обработанных антителом против ИЛ-27 (Ab1 против ИЛ-27) (**фиг. 7D**), контрольным изотипическим антителом (**фиг. 7C**), антителом  $\alpha$ WSX-1 (**фиг. 7E**) или комбинацией антитела  $\alpha$ PD-1 и антитела  $\alpha$ CTLA-4 (**фиг. 7F**), как указано. **Фиг. 7G** представляет собой точечный график, показывающий общую площадь опухоли в процентах от общей площади фиксированной ткани рассеянного легкого с раком В16F10, окрашенной гематоксилином и эозином, выделенной из мышей с опухолью В16F10, обработанных антителом против ИЛ-27 (Ab1 против ИЛ-27), контрольным изотипическим антителом, антителом  $\alpha$ WSX-1 или комбинацией антитела  $\alpha$ PD-1 и антитела  $\alpha$ CTLA-4, как указано, согласно результатам измерений с помощью компьютеризованного анализа изображений. Сходное снижение числа поверхностных метастазов в легких и общей площади опухоли наблюдалось при блокаде, опосредованной антителами против ИЛ-27РА (WSX-1), и при применении комбинированной терапии антителом против PD-1 и антителом против CTLA-4.

**[0178]** На **фиг. 8А** представлена диаграмма рассеяния данных, полученных с помощью микроматричного анализа, для генов, экспрессия которых изменилась в  $> 1,0 \log_2$  раз (черные точки) в спленоцитах, выделенных из мышей со сверхэкспрессией ИЛ-27 после их обработки миникольцами ИЛ-27. По оси x показано  $\log_2$ -кратное изменение экспрессии генов (обработка миникольцами ИЛ-27 по сравнению с контролем). По оси y показано р-значение согласно t-критерию, показывающее вероятность кратного изменения для каждого гена. На **фиг. 8В** представлен график, показывающий уровень экспрессии выбранных иммуномодулирующих генов, как указано, в спленоцитах, как на **фиг. 8А**. На **фиг. 8С – 8F** показано, что эктопическая экспрессия ИЛ-27 человека индуцирует экспрессию ингибиторного рецептора (анализ с помощью проточной цитометрии) на Т-клетках мышей *in vivo*, и что антитело Ab1 против ИЛ-27 снижает экспрессию ингибиторного рецептора на Т-клетках *in vivo* после обработки миникольцами ИЛ-27. Самкам мышей Balb/c возрастом 6 недель вводили пустой вектор (контроль) или миникольцо чИЛ-27 (**фиг. 8C** и **8D**). МКПК и (**фиг. 8E** и **8F**) общие спленоциты собирали через 5 суток после трансфекции, клетки окрашивали и анализировали с помощью проточной цитометрии. Экспрессию указанных маркеров анализировали на CD4+ Т-клетках (**фиг. 8C** и **8E**) и CD8+ Т-клетках (**фиг. 8D** и **8F**). Анализ проводили с помощью программного обеспечения FlowJo. На **фиг. 8G** показано, что антитело Ab1 против ИЛ-27 ингибирует обнаружение ИЛ-27 человека, полученного из миникольца, в плазме крови мышей.

**[0179]** **Фиг. 9** представляет собой ленточную диаграмму кристаллической структуры комплекса ИЛ-27 – антитело Ab1 против ИЛ-27, определенную с использованием программного обеспечения Phaser для молекулярного замещения (McCoy et al., (2007) *J. Appl. Cryst.* 40: 658 - 74) и Molrep (Vagin et al., (1997) *J. Appl.*

*Cyrst.* 30: 1022 - 25). Тяжелая цепь, легкая цепь, p28 и EB1-3 окрашены в желтый, красный, серый и зеленый цвета, соответственно. На **фиг. 9** показано, что антитело Ab1 против ИЛ-27 связано с молекулой p28 ИЛ-27.

**[0180] Фиг. 10А – 10В** представляют собой графики, показывающие аффинность связывания гетеродимера ИЛ-27 человека с WSX-1 (**фиг. 10А**) и gp130 (**фиг. 10В**) в присутствии (темно-серая линия) или в отсутствие (светло-серая линия) антитела Ab1 против ИЛ-27, согласно результатам измерений с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

**[0181] Фиг. 11** представляет собой ленточную диаграмму p28, показывающую остатки, по которым антитело Ab1 против ИЛ-27 связывается с p28. ЛЦ = легкая цепь антитела Ab1 против ИЛ-27; ТЦ = тяжелая цепь антитела Ab1 против ИЛ-27

**[0182] Фиг. 12** представляет собой ленточную диаграмму структурного выравнивания ИЛ-27 / Fab антитела Ab1 против ИЛ-27 с ИЛ-23 / ИЛ-23Р (PDB ID: 5MZV). Наложение комплексов с использованием p28 и p19 выравнивали в 3-мерном пространстве.

**[0183] Фиг. 13** представляет собой ленточную диаграмму структурного выравнивания ИЛ-27 / Fab антитела Ab1 против ИЛ-27 с ИЛ-6 / ИЛ-6Ра / gp130. Наложение комплексов с использованием p28 и ИЛ-6 выравнивали в 3-мерном пространстве.

**[0184] Фиг. 14А – 14В** представляют собой ленточные диаграммы поверхности связывания p28 и EB13, а на **фиг. 14В** показано увеличение **фиг. 14А**, чтобы проиллюстрировать расположение взаимодействий по типу солевых мостиков и ароматических/гидрофобных взаимодействий между p28 и EB13.

**[0185] Фиг. 15А – 15В** представляют собой изображения выравнивания последовательностей p28 (**фиг. 15А**) и EB13 (**фиг. 15В**) у нескольких видов животных. Стрелки указывают на консервативные аминокислоты, образующие соляные мостики, и консервативные гидрофобные аминокислоты, как указано.

**[0186] Фиг. 16А** представляет собой ленточную диаграмму, иллюстрирующую структурное выравнивание гетеродимера ИЛ-27 с ИЛ-6/ИЛ-6Ра. **Фиг. 16В – 16С** представляют собой выравнивания последовательностей ИЛ-27 и ИЛ-6/ИЛ-6Ра. Стрелки указывают на консервативные аминокислоты, образующие соляные мостики, и консервативные гидрофобные аминокислоты. **Фиг. 16D** представляет собой ленточную диаграмму, иллюстрирующую несколько взаимодействий p28 с EB13, которые сохраняются с помощью ИЛ-6Ра.

**[0187] Фиг. 17** представляет собой таблицу, в которой представлены данные об аффинности связывания ИЛ-27 человека и gp130, WSX-1 и антитела против p28.

**[0188] Фиг. 18А** представляет собой выравнивание аминокислотных последовательностей p28 мыши и человека. **Фиг. 18В** представляет собой ленточную диаграмму, сфокусированную на остатке 162 (Leu в последовательности человека и Cys в последовательности мыши).

**[0189]** На **фиг. 19А** показан электростатический поверхностный потенциал ИЛ-27 человека. На **фиг. 19В** показана первичная структура ИЛ-27 человека, в которой показаны спирали  $\alpha$ A,  $\alpha$ B,  $\alpha$ C,  $\alpha$ D и неразрешенная петля CD с последовательностью поли-Glu.

**[0190] Фиг. 20А** представляет собой графическое представление, иллюстрирующее дифференциальную экспрессию EB13, ИЛ-27p28 и ИЛ-27РА в опухоли ПКК (1) и в нормальной почечной ткани (2). **Фиг. 20В – 20D** представляют собой кривые Каплана – Мейера (процент выживаемости без летального исхода в сутках) для пациентов с ПКК, стратифицированных по высокой (1) или низкой (2) экспрессии EB13 (**фиг. 20В**), ИЛ-27p28 (**фиг. 20С**) и ИЛ-27РА (**фиг. 20D**). Данные были получены с использованием Атласа ракового генома (АРГ, англ. «TCGA»), как описано ранее (см., например, работы Li et al., *Cancer Research*. 2017; 77 (21): e108 - e110; Li et al., *Genome Biology* 2016; 17 (1): 174).

[0191] На **фиг. 21А – 21В** показаны профили индуцированной ИЛ-27 экспрессии генов в активированных CD4<sup>+</sup> Т-клетках человека. **Фиг. 21А** представляет собой график рассеяния кратного изменения CD4<sup>+</sup> Т-клеток, обработанных ИЛ-27, по сравнению с необработанным контролем для двух отдельных доноров. На **фиг. 21В** показан 31 главный ген в профиле ИЛ-27 в CD4<sup>+</sup> Т-клетках. Пятнадцать из указанных 31 гена (отмечены звездочкой) были связаны с плохим исходом. Данные были получены с использованием АРГ.

[0192] **Фиг. 22А – 22В** представляют собой графическое отображение коэффициентов риска для всего генома, связанных с экспрессией профильных генов ИЛ-27 в образцах опухолей ПЖК (**фиг. 22А**) и рака молочной железы (РМЖ, англ. «BRCA») (**фиг. 22В**). Данные были получены с использованием АРГ.

[0193] **Фиг. 23А** представляет собой графическое отображение уровней ЕВ13 в плазме крови у пациентов с ПЖК по сравнению с сывороткой крови здорового донора и сывороткой крови беременной женщины (положительный контроль), измеренных с использованием пары антител, специфичных в отношении ЕВ13. На **фиг. 23В** показаны уровни ЕВ13 в отдельной когорте пациентов с ПЖК, сгруппированных по стадии развития опухоли. На **фиг. 23С** показана общая выживаемость, а на **фиг. 23D** показана выживаемость без признаков заболевания у пациентов с ПЖК, со стратификацией по уровням ЕВ13 в сыворотке крови.

[0194] **Фиг. 24А – 24В** представляют собой графическое отображение влияния антитела Ab1 против ИЛ-27 на рост опухоли и метастазы в легкие в ортотопической модели карциномы почки (модель Ренса). На **фиг. 24А** и **фиг. 24В** показаны чистая масса первичной опухоли (почки) и число метастазов в легких у контрольных мышей и мышей Ренса, получавших антитела Ab1 против ИЛ-27. (\*P < 0,05; непарный t-тест)

[0195] На **фиг. 25А – 25В** показано влияние антитела Ab1 против ИЛ-27 в качестве единственного агента на средний поток фотонов от ортотопической опухоли Нера1-6 с течением времени по сравнению с изотипическим контролем (**фиг. 25В**) в модели ортотопической опухоли Нера1-6-luc (**фиг. 25А**). Планки погрешностей («усы») отображают стандартную ошибку.

[0196] На **фиг. 26А – 26F** показано дозозависимое ингибирование роста ортотопической опухоли Нера1-6 после серийного введения антитела Ab1 против ИЛ-27 (**фиг. 26А**). На **фиг. 26В** показана средняя биолюминесцентная визуализация (БЛВ, англ. «BLI», фотоны/секунду) через 5, 8, 13 и 16 суток после имплантации для контроля и антитела Ab1 против ИЛ-27 (в дозах 5 мг/кг, 25 мг/кг и 50 мг/кг). На **фиг. 26С – 26F** показана средняя БЛВ (фотоны/секунду) через 5, 8, 13 и 16 суток после имплантации у отдельных животных для контроля (**фиг. 26С**) и антитела Ab1 против ИЛ-27 в группах доз 5 мг/кг (**фиг. 26D**), 25 мг/кг (**фиг. 26E**) и 50 мг/кг (**фиг. 26F**).

[0197] На **фиг. 27А – 27С** показана модуляция экспрессии генов в печени Нера1-6 после введения антитела Ab1 против ИЛ-27 (**фиг. 27А** и **фиг. 27В**). **Фиг. 27С** представляет собой график рассеяния данных для генов, модулируемых введением антитела Ab1 против ИЛ-27. В таблицах 11А-11В ниже представлены списки генов, экспрессия которых была повышена и понижена, представленных на **фиг. 27В**.

[0198] **Фиг. 28А – 28Е** представляют собой графические отображения, иллюстрирующие экспрессию различных компонентов гена ИЛ-27 (**фиг. 28А**); CD274, TIGIT, LAG3, HAVCR2 и PDCD1 (**фиг. 28В**); ТФР-альфа и ТФР-бета-1 (**фиг. 28С**); АФП (**фиг. 28D**); и TNFRSF10B, TNFRSF1A и PDGFA (**фиг. 28Е**) после введения антитела Ab1 против ИЛ-27.

[0199] **Фиг. 29А – 29В** представляют собой графические отображения относительной экспрессии различных маркерных генов макрофагов и НК-транскриптов в микроокружении опухоли (МОО) после введения антитела Ab1 против ИЛ-27.

[0200] **Фиг. 30** представляет собой графическое отображение экспрессии НК-ассоциированных рецепторов после введения либо антитела Ab1 против ИЛ-27, либо изотипического контроля.

[0201] На **фиг. 31** показана относительная экспрессия различных маркеров клеточной поверхности после введения антитела Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с изотипическим контролем IgG. Соотношения были получены путем нормализации уровня транскриптов целевого маркера к уровню транскриптов гена PTPRC. Направленность выражается как разница между соотношением, полученным для антитела Ab1 против ИЛ-27, и соотношением, полученным для IgG.

[0202] **Фиг. 32A – 32D** представляют собой столбчатые диаграммы, отображающие экспрессию ИЛ-17А (**фиг. 32A**), ИФН- $\gamma$  (ИФН-гамма) (**фиг. 32B**), ФНО- $\alpha$  (ФНО-альфа) (**фиг. 32C**) и ИЛ-10 (**фиг. 32D**) в культивируемых МКПК, стимулированных антителом против CD3 (0,25 мкг/мл) в течение 3 суток в присутствии или в отсутствие ИЛ-27 (100 нг/мл).

[0203] **Фиг. 33A – 33D** представляют собой графики рассеяния, отображающие экспрессию ИЛ-17А (**фиг. 33A**), ИФН- $\gamma$  (ИФН-гамма) (**фиг. 33B**), ФНО- $\alpha$  (ФНО-альфа) (**фиг. 33C**) и ИЛ-10 (**фиг. 33D**) в культивируемых МКПК, стимулированных антителом против CD3 (0,25 мкг/мл) в течение 4 суток в присутствии или в отсутствие антитела Ab1 против ИЛ-27 (1 мкг/мл).

[0204] **Фиг. 34** представляет собой график рассеяния, отображающий  $\log_2$ -кратное изменение экспрессии генов после ингибирования ИЛ-27 по сравнению с контролем (ось x) в сравнении со значимостью (p-значение) изменений экспрессии генов после обработки антителом Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с контролем (ось Y).

[0205] **Фиг. 35** представляет собой график рассеяния, отображающий экспрессию TNFSF15 в активированных МКПК после культивирования с антителом Ab1 против ИЛ-27 или с изотипическим контролем (IgG).

[0206] **Фиг. 36A – 36B** представляют собой столбчатые диаграммы, отображающие уровни экспрессии TNFSF15 в активированных (**фиг. 36A**) и покоящихся (**фиг. 36B**) МКПК, культивированных в присутствии двух разных партий антитела Ab1 против ИЛ-27 (1 мкг/мл) или с изотипическим контролем.

[0207] **Фиг. 37** представляет собой столбчатую диаграмму, отображающую кратность изменений уровней транскрипта TNFSF15 после ингибирования ИЛ-27 антителом Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с изотипическим контролем в различных типах клеток, как указано.

[0208] **Фиг. 38** представляет собой столбчатую диаграмму, отображающую кратность изменений уровней транскрипта TNFSF15 после обработки антителом Ab1 против ИЛ-27, антителом против CD39 и двумя антителами против CD112R, как указано.

[0209] **Фиг. 39A-39B** представляют собой столбчатые диаграммы, отображающие уровни экспрессии транскрипта TNFSF15 (**фиг. 39A**) и секретируемого белка TNFSF15 (**фиг. 39B**) после блокирования ИЛ-27 антителом Ab1 против ИЛ-27 в активированных МКПК с замедленной кинетикой.

### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0210] В данном изобретении представлены, по меньшей мере частично, молекулы антител, которые связываются со специфическим эпитопом ИЛ-27p28 человека с высокой аффинностью и специфичностью. При употреблении в контексте данного документа термины «ИЛ-27» и «ИЛ27» взаимозаменяемо относятся к гетеродимерному цитокину ИЛ-27, который состоит из двух различных субъединиц, кодируемых двумя разными генами: индуцированным вирусом Эпштейна-Барр геном 3 (EBI3) и ИЛ-27p28. ИЛ-27 обладает как провоспалительными, так и противовоспалительными свойствами с разнообразным действием на гемопоэтические и негемопоэтические клетки.

[0211] Соответственно, в одном из аспектов данного изобретения представлены выделенное антитело, которое специфически связывается с ИЛ-27 человека и оказывает антагонистическое действие, или антигенсвязывающая часть указанного антитела, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть специфически связываются с представленными в данном документе эпитопами и проявляют по меньшей мере одно или большее число из следующих свойств:

- (i) связываются с ИЛ-27 человека с равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ), равной 15 нМ или меньше;
- (ii) блокируют связывание ИЛ-27 с рецептором ИЛ-27;
- (iii) ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке;
- (iv) ингибируют или снижают опосредованное ИЛ-27 ингибирование экспрессии CD161 в клетке;
- (v) ингибируют или снижают опосредованную ИЛ-27 экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке;
- (vi) индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки; и
- (vii) комбинация (i)-(vi).

[0212] Дополнительные аспекты данного изобретения включают в себя молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие молекулы антител, векторы экспрессии, клетки-хозяева и способы получения указанных молекул антител. Также представлены иммуноконъюгаты, мульти- или биспецифические молекулы и фармацевтические композиции, содержащие указанные молекулы антител. Молекулы антител против ИЛ-27, представленные в данном документе, можно применять для лечения, профилактики и (или) диагностики раковых или злокачественных заболеваний, например, солидных и жидких опухолей (например, лейкоза, например, лимфомы, например, ОМЛ), рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого), рака поджелудочной железы, рака молочной железы (например, тройного негативного рака молочной железы), меланомы, рака яичка, саркомы, онкологических заболеваний головы и шеи (например, плоскоклеточного рака головы и шеи), рака печени (например, гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК, англ. «HCC»)), колоректального рака, рака яичника, рака головного мозга (например, мультиформной глиобластомы) или рака почки (например, почечно-клеточной карциномы, например, светлоклеточной почечно-клеточной карциномы).

#### **Антитела против ИЛ-27 и их антигенсвязывающие фрагменты**

[0213] Данное изобретение относится к антителам и их антигенсвязывающим частям, которые специфически связываются с ИЛ-27p28 и проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27, в частности – в отношении ИЛ-27 человека.

[0214] Данное изобретение направлено на выделенное антитело, которое проявляет антагонизм в отношении ИЛ-27 человека, или на антигенсвязывающую часть указанного антитела, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из следующих аминокислот: (i) аминокислот с 37 по 56 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28); (ii) аминокислот с 142 по 164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28); или (iii) как (i), так и (ii). В некоторых аспектах данного изобретения выделенное антитело согласно данному изобретению, проявляющее антагонизм в отношении ИЛ-27 человека, или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из следующих аминокислот: Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152,

Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 или Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

**[0215]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Asp146, Arg149 и (или) Phe153 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Asp146, Arg149 и Phe153 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения указанный эпитоп содержит Asp146, Arg149, His150 и Phe153 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения указанный эпитоп содержит Asp146, Arg149, Phe153 и Leu156 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения указанный эпитоп содержит Asp146, Arg149, His150, Phe153 и Leu156 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

**[0216]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения указанный эпитоп содержит Gln37, Leu38, Glu42, Asp146, Arg149, His150, Phe153 и Leu156 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Gln37, Leu38, Glu42, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

**[0217]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28). В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

**[0218]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, состоящим или по существу состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

**[0219]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), и по меньшей мере один остаток, выбранный из группы, состоящей из: Leu53, Lys56, Asp143, Leu147, Arg152, Ala157, Gly159, Phe160 или Asn161 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

**[0220]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, содержащим Gln37,

Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), и по меньшей мере один остаток, выбранный из группы, состоящей из: Leu53, Lys56, Asp143, Arg145, Leu147, Arg152, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161 или Pro163 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

**[0221]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, состоящим или по существу состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

**[0222]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело согласно данному изобретению или антигенсвязывающая часть указанного антитела специфически связываются с эпитопом, состоящим или по существу состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

**[0223]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело, которое специфически связывается с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), и проявляет антагонизм в отношении ИЛ-27 человека, или антигенсвязывающая часть указанного антитела, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть проявляют по меньшей мере одно или большее число из следующих свойств: (i) связываются с ИЛ-27 человека с равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ), равной 15 нМ или меньше; (ii) блокируют связывание ИЛ-27 с рецептором ИЛ-27; (iii) ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке; (iv) ингибируют или снижают опосредованное ИЛ-27 ингибирование экспрессии CD161 в клетке; (v) ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке; (vi) индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки; и (vii) комбинация (i)-(vi).

**[0224]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28 человека) с равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ), равной 15 нМ или меньше.

**[0225]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть связываются с рекомбинантным ИЛ-27p28 человека или с ИЛ-27p28 мыши.

**[0226]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке. В некоторых аспектах данного изобретения указанная клетка представляет собой клетку иммунной системы. В некоторых аспектах данного изобретения указанная клетка представляет собой раковую клетку.

**[0227]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке (например, ослабляют или устраняют ингибирование экспрессии CD161 в клетке). В некоторых аспектах данного изобретения указанная клетка представляет собой клетку иммунной системы.

**[0228]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке. В некоторых аспектах данного изобретения экспрессия PD-L1 ингибируется или снижается. В некоторых аспектах данного изобретения экспрессия TIM-3 ингибируется или снижается. В некоторых аспектах данного изобретения снижается как экспрессия PD-L1, так и экспрессия TIM-3. В некоторых аспектах данного изобретения указанная клетка представляет собой клетку иммунной системы. В некоторых аспектах данного изобретения указанные антитела представляют собой моноклональные антитела.

**[0229]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число цитокинов представляют собой ФНО- $\alpha$ . В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число цитокинов представляют собой ИЛ-6. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число цитокинов представляют собой ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6. В некоторых аспектах данного изобретения указанная клетка представляет собой клетку иммунной системы.

**[0230]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть выбраны из группы, состоящей из антител IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело представляет собой антитело IgG1 или антитело IgG4. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG1 дикого типа. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело содержит константную область тяжелой цепи IgG4 дикого типа. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело содержит домен Fc, содержащий по меньшей мере одну мутацию. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело содержит мутантную константную область тяжелой цепи IgG1. В некоторых аспектах данного изобретения указанное антитело содержит мутантную константную область тяжелой цепи IgG4. В некоторых аспектах данного изобретения указанная мутантная константная область тяжелой цепи IgG4 содержит любую из замен S228P, L235E, L235A или их комбинацию, в соответствии с системой нумерации ЕС.

**[0231]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые связываются по существу с тем же эпитопом на ИЛ-27, что и антитело или его антигенсвязывающая часть в соответствии с любым из указанных выше аспектов.

**[0232]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые связываются по меньшей мере с одним из аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), связываемых антителом или его антигенсвязывающей частью в соответствии с любым из указанных выше аспектов.

**[0233]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, при этом мутация в эпитопе (Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28)), связываемом указанными антителом или его антигенсвязывающей частью, ингибирует, снижает или блокирует связывание как с указанными антителом или его антигенсвязывающей частью, так и с антителом или его антигенсвязывающей частью в соответствии с любым из указанных выше аспектов.

**[0234]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, при этом указанная CDR1 легкой цепи состоит из N-XXXXXXLFSSNXKXYXX-C. В некоторых аспектах данного изобретения указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, при этом указанная CDR3 легкой цепи состоит из N-XXXASAXXX-C. В некоторых аспектах данного изобретения указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, при этом указанная CDR2 тяжелой цепи состоит из N-XXSSXSXYXXXXXXXXX-C. В некоторых аспектах данного изобретения указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, при этом указанная CDR3 тяжелой цепи состоит из N-XXXXGRTSYTATXHNXXXX-C, где X представляет собой любые аминокислоты.

**[0235]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, при этом указанная CDR1 легкой цепи состоит из N-XXXXXXLFSSNXKXYXX-C и указанная CDR3 легкой цепи состоит из N-XXXASAXXX-C. В некоторых аспектах данного изобретения указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, при этом указанная CDR2 тяжелой цепи состоит из N-XXSSXSXYXXXXXXXXX-C и указанная CDR3 тяжелой цепи состоит из N-XXXXGRTSYTATXHNXXXX-C, где X представляет собой любые аминокислоты.

**[0236]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, при этом указанная CDR1 легкой цепи состоит из N-XXXXXXLFSSNXKXYXX-C, указанная CDR3 легкой цепи состоит из N-XXXASAXXX-C, указанная CDR2 тяжелой цепи состоит из N-XXSSXSXYXXXXXXXXX-C и указанная CDR3 тяжелой цепи состоит из N-XXXXGRTSYTATXHNXXXX-C, где X представляет собой любые аминокислоты.

**[0237]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из:

(i) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 9, 10 и 11, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 17, 18 и 19, соответственно;

(ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 31, 32 и 33, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 39, 40 и 41, соответственно;

(iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 53, 54 и 55, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 61, 62 и 63, соответственно;

(iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 75, 76 и 77, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 83, 84 и 85, соответственно;

(v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 97, 98 и 99, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 105, 106 и 107, соответственно; или

(vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 119, 120 и 121, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно.

**[0238]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из:

(i) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 9, 10 и 11, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 17, 18 и 19, соответственно;

(ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 31, 32 и 33, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 39, 40 и 41, соответственно;

(iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 53, 54 и 55, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 61, 62 и 63, соответственно;

(iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 75, 76 и 77, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 83, 84 и 85, соответственно;

(v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 97, 98 и 99, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 105, 106 и 107, соответственно; или

(vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 119, 120 и 121, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно.

**[0239]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из:

(i) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 9, 10 и 11, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 17, 18 и 19, соответственно;

(ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 31, 32 и 33, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 39, 40 и 41, соответственно;

(iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 53, 54 и 55, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 61, 62 и 63, соответственно;

(iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 75, 76 и 77, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 83, 84 и 85, соответственно;

(v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 97, 98 и 99, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 105, 106 и 107, соответственно; или

(vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 119, 120 и 121, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно.

**[0240]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из:

(i) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 12, 13 и 14, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 20, 21 и 22, соответственно;

(ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 34, 35 и 36, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 42, 43 и 44, соответственно;

(iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 56, 57 и 58, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 64, 65 и 66, соответственно;

(iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 78, 79 и 80, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 86, 88 и 89, соответственно;

(v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 100, 101 и 102, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 108, 109 и 110, соответственно; или

(vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 122, 123 и 124, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

**[0241]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в

соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из:

(i) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 12, 13 и 14, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 20, 21 и 22, соответственно;

(ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 34, 35 и 36, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 42, 43 и 44, соответственно;

(iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 56, 57 и 58, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 64, 65 и 66, соответственно;

(iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 78, 79 и 80, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 86, 88 и 89, соответственно;

(v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 100, 101 и 102, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 108, 109 и 110, соответственно; или

(vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 122, 123 и 124, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

**[0242]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из:

(i) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 12, 13 и 14, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 20, 21 и 22, соответственно;

(ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 34, 35 и 36, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 42, 43 и 44, соответственно;

(iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 56, 57 и 58, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 64, 65 и 66, соответственно;

(iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 78, 79 и 80, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 86, 88 и 89, соответственно;

(v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 100, 101 и 102, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 108, 109 и 110, соответственно; или

(vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 122, 123 и 124, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

**[0243]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, и при этом указанная CDR1 тяжелой цепи не состоит из N-GFTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]-C (SEQ ID NO: 144) и (или) указанная CDR2 тяжелой цепи не состоит из N-ISSS[S/G][S/A]YI-C (SEQ ID NO: 146).

**[0244]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, и при этом указанная CDR1 тяжелой цепи не состоит из N-GFTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]-C (SEQ ID NO: 144) и (или) указанная CDR2 тяжелой цепи не состоит из N-ISSS[S/G][S/A]YI-C (SEQ ID NO: 146).

**[0245]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, и при этом указанная CDR1 тяжелой цепи не состоит из N-GFTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]-C (SEQ ID NO: 144) и (или) указанная CDR2 тяжелой цепи не состоит из N-ISSS[S/G][S/A]YI-C (SEQ ID NO: 146).

**[0246]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, и при этом указанная CDR1 тяжелой цепи не состоит из N-FTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]MN-C (SEQ ID NO: 148) и (или) указанная CDR2 тяжелой цепи не содержит N-[G/S]ISSS[S/G][S/A]YI[L/Y]YADSVKG-C (SEQ ID NO: 149).

**[0247]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой

цепи и CDR3 легкой цепи, и при этом указанная CDR1 тяжелой цепи не состоит из N-FTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]MN-C (SEQ ID NO: 148) и (или) указанная CDR2 тяжелой цепи не содержит N-[G/S]ISS[S/G][S/A]YI[L/Y]YADSVKG-C (SEQ ID NO: 149).

**[0248]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, и при этом указанная CDR1 тяжелой цепи не состоит из N-FTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]MN-C (SEQ ID NO: 148) и (или) указанная CDR2 тяжелой цепи не содержит N-[G/S]ISS[S/G][S/A]YI[L/Y]YADSVKG-C (SEQ ID NO: 149).

**[0249]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат:

(i) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-ISSSXXYI-C (SEQ ID NO: 147), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 121; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно; или

(ii) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-FTFXXXXMN-C (SEQ ID NO: 150), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-XISSSXXYIXYADSVKG-C (SEQ ID NO: 151), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 124; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

**[0250]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат:

(i) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-ISSSXXYI-C (SEQ ID NO: 147), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 121; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно; или

(ii) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-FTFXXXXMN-C (SEQ ID NO: 150), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-XISSSXXYIXYADSVKG-C (SEQ ID NO: 151), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 124; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

**[0251]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149,

His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат:

(i) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-ISSSXXYI-C (SEQ ID NO: 147), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 121; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно; или

(ii) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-FTFXXXXMN-C (SEQ ID NO: 150), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-XISSXXYIXYADSVKG-C (SEQ ID NO: 151), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 124; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

**[0252]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-IXXXXXXX-C (SEQ ID NO: 152), CDR3 тяжелой цепи, состоящую из N-AR[X]<sub>n=6-15</sub>DX-C (SEQ ID NO: 153); и CDR1 легкой цепи, состоящую из N-QS[X]<sub>n=1-3</sub>SS[X]<sub>n=0-4</sub>Y-C (SEQ ID NO: 154), CDR2 легкой цепи, состоящую из N-XXS-C (SEQ ID NO: 155), CDR3 легкой цепи, состоящую из N-QQXXXXP[X]<sub>n=0-1</sub>T-C (SEQ ID NO: 156), соответственно.

**[0253]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-IXXXXXXX-C (SEQ ID NO: 152), CDR3 тяжелой цепи, состоящую из N-AR[X]<sub>n=6-15</sub>DX-C (SEQ ID NO: 153); и CDR1 легкой цепи, состоящую из N-QS[X]<sub>n=1-3</sub>SS[X]<sub>n=0-4</sub>Y-C (SEQ ID NO: 154), CDR2 легкой цепи, состоящую из N-XXS-C (SEQ ID NO: 155), CDR3 легкой цепи, состоящую из N-QQXXXXP[X]<sub>n=0-1</sub>T-C (SEQ ID NO: 156), соответственно.

**[0254]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые специфически связываются с эпитопом, содержащим или состоящим из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-IXXXXXXX-C (SEQ ID NO: 152), CDR3 тяжелой цепи, состоящую из N-AR[X]<sub>n=6-15</sub>DX-C (SEQ ID NO: 153); и CDR1 легкой цепи, состоящую из N-QS[X]<sub>n=1-3</sub>SS[X]<sub>n=0-4</sub>Y-C (SEQ ID NO: 154), CDR2 легкой цепи, состоящую из N-XXS-C (SEQ ID NO: 155), CDR3 легкой цепи, состоящую из N-QQXXXXP[X]<sub>n=0-1</sub>T-C (SEQ ID NO: 156), соответственно.

**[0255]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены к выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50,

Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат переменные области тяжелой и легкой цепей, при этом указанная переменная область тяжелой цепи не содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 15, 37, 59, 81, 103 и 125; и при этом указанная переменная область легкой цепи не содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 45, 67, 89, 111 и 133.

**[0256]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат переменные области тяжелой и легкой цепей, при этом указанная переменная область тяжелой цепи и указанная переменная область легкой цепи не представляют собой аминокислотные последовательности, выбранные из группы, состоящей из:

- (i) SEQ ID NO: 15 и 65, соответственно;
- (ii) SEQ ID NO: 37 и 45, соответственно;
- (iii) SEQ ID NO: 59 и 67, соответственно;
- (iv) SEQ ID NO: 81 и 89, соответственно;
- (v) SEQ ID NO: 103 и 111, соответственно; и
- (vi) SEQ ID NO: 125 и 133, соответственно.

**[0257]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат переменные области тяжелой и легкой цепей, при этом указанная переменная область тяжелой цепи не содержит аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 90% идентичны аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 15, 37, 59, 81, 103 и 125; и при этом указанная переменная область легкой цепи не содержит аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 90% идентичны аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 45, 67, 89, 111 и 133.

**[0258]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат переменные области тяжелой и легкой цепей, при этом указанная переменная область тяжелой цепи и указанная переменная область легкой цепи не содержат аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 90% идентичны аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из:

- (i) SEQ ID NO: 15 и 65, соответственно;
- (ii) SEQ ID NO: 37 и 45, соответственно;
- (iii) SEQ ID NO: 59 и 67, соответственно;
- (iv) SEQ ID NO: 81 и 89, соответственно;
- (v) SEQ ID NO: 103 и 111, соответственно; и
- (vi) SEQ ID NO: 125 и 133, соответственно.

**[0259]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат тяжелую цепь и легкую цепь, при этом указанная тяжелая цепь не содержит аминокислотные последовательности, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 25, 47, 69, 91, 113 и 135; и при этом указанная легкая цепь не содержит аминокислотные последовательности, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20, 42, 71, 93 и 115.

**[0260]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат тяжелую и легкую цепи, при этом указанная тяжелая цепь не содержит аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 90% идентичны аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 25, 47, 69, 91, 113 и 135; и при этом указанная легкая цепь не содержит аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 90% идентичны аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 20, 42, 71, 93 и 115.

**[0261]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат тяжелую цепь и легкую цепь, при этом указанная тяжелая цепь не содержит аминокислотные последовательности, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29, 51, 73, 95, 117 и 139; и при этом указанная легкая цепь не содержит аминокислотные последовательности, выбранные из группы, состоящей из SEQ ID NO: 71, 49, 71, 93, 115 и 137.

**[0262]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат тяжелую и легкую цепи, при этом указанная тяжелая цепь не содержит аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 90% идентичны

аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29, 51, 73, 95, 117 и 139; и при этом указанная легкая цепь не содержит аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 90% идентичны аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из SEQ ID NO: 71, 49, 71, 93, 115 и 137.

**[0263]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат тяжелую цепь и легкую цепь, и при этом указанная тяжелая цепь и указанная легкая цепь не содержат аминокислотные последовательности, выбранные из группы, состоящей из:

- (i) SEQ ID NO: 25 и 27, соответственно;
- (ii) SEQ ID NO: 47 и 49, соответственно;
- (iii) SEQ ID NO: 69 и 71, соответственно;
- (iv) SEQ ID NO: 91 и 93, соответственно;
- (v) SEQ ID NO: 113 и 115, соответственно; и
- (vi) SEQ ID NO: 135 и 137, соответственно.

**[0264]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат тяжелую цепь и легкую цепь, и при этом указанная тяжелая цепь и указанная легкая цепь не содержат аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 90% идентичны аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из:

- (i) SEQ ID NO: 25 и 27, соответственно;
- (ii) SEQ ID NO: 47 и 49, соответственно;
- (iii) SEQ ID NO: 69 и 71, соответственно;
- (iv) SEQ ID NO: 91 и 93, соответственно;
- (v) SEQ ID NO: 113 и 115, соответственно; и
- (vi) SEQ ID NO: 135 и 137, соответственно.

**[0265]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат тяжелую цепь и легкую цепь, и при этом указанная тяжелая цепь и указанная легкая цепь не содержат аминокислотные последовательности, выбранные из группы, состоящей из:

- (i) SEQ ID NO: 29 и 27, соответственно;

- (ii) SEQ ID NO: 51 и 49, соответственно;
- (iii) SEQ ID NO: 73 и 72, соответственно;
- (iv) SEQ ID NO: 95 и 93, соответственно;
- (v) SEQ ID NO: 117 и 115, соответственно; и
- (vi) SEQ ID NO: 139 и 137, соответственно.

**[0266]** В некоторых аспектах данного изобретения представлены выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которые проявляют антагонизм в отношении ИЛ-27 и специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28), при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть содержат тяжелую цепь и легкую цепь, и при этом указанная тяжелая цепь и указанная легкая цепь не содержат аминокислотные последовательности, которые по меньшей мере на 90% идентичны аминокислотным последовательностям, выбранным из группы, состоящей из:

- (i) SEQ ID NO: 29 и 27, соответственно;
- (ii) SEQ ID NO: 51 и 49, соответственно;
- (iii) SEQ ID NO: 73 и 72, соответственно;
- (iv) SEQ ID NO: 95 и 93, соответственно;
- (v) SEQ ID NO: 117 и 115, соответственно; и
- (vi) SEQ ID NO: 139 и 137, соответственно.

#### **Способы получения антител против ИЛ-27 и их антигенсвязывающих фрагментов**

**[0267]** В данном изобретении также представлены способы получения любых описанных в данном документе антител против ИЛ-27 или антигенсвязывающих фрагментов указанных антител. В некоторых аспектах данного изобретения способы получения антитела, представленного в данном документе, могут включать в себя иммунизацию субъекта (например, млекопитающего, отличного от человека) подходящим иммуногеном. Подходящие иммуногены для получения любого из антител, описанных в данном документе, представлены в данном документе. Например, для создания антитела, которое связывается с ИЛ-27p28, специалист в данной области техники может иммунизировать подходящего субъекта (например, млекопитающее, отличное от человека, такое как крыса, мышь, песчанка, хомяк, собака, кошка, свинья, коза, лошадь или нечеловекообразный примат) интерлейкином ИЛ-27. В некоторых аспектах данного изобретения в качестве иммуногена используют полноразмерный мономерный полипептид ИЛ-27p28 человека, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 2.

**[0268]** Подходящий субъект (например, млекопитающее, отличное от человека) может быть иммунизирован соответствующим антигеном вместе с последующими бустерными иммунизациями такое количество раз, которого достаточно для того, чтобы вызвать выработку антитела у данного млекопитающего. Иммуноген можно вводить субъекту (например, млекопитающему, отличному от человека) вместе с адьювантом. Адьюванты, применимые для получения антитела у субъекта, включают в себя, но не ограничиваются ими, белковые адьюванты; бактериальные адьюванты, например, цельные бактерии (БЦЖ, *Corynebacterium parvum* или *Salmonella minnesota*) и бактериальные компоненты, включая скелет клеточной стенки, димиколат трегалозы, монофосфориллипид А, экстрагируемый метанолом остаток (ЭМО, англ. «MER») туберкулезной палочки, полный или неполный адьювант Фрейнда; вирусные адьюванты; химические адьюванты, например,

гидроксид алюминия, йодоацетат и холестерилгемисукцинат. Другие адъюванты, которые можно применять в способах индукции иммунного ответа, включают в себя, например, холерный токсин и белки парапоксвируса. См. также работу Bieg et al. (1999) *Autoimmunity* 31(1): 15 - 24. См. также, например, работы Lodmell et al. (2000) *Vaccine* 18: 1059 - 1066; Johnson et al. (1999) *J Med Chem* 42: 4640 - 4649; Baldrige et al. (1999) *Methods* 19: 103 - 107; и Gupta et al. (1995) *Vaccine* 13(14): 1263 - 1276.

**[0269]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные способы включают в себя получение клеточной линии гибридомы, которая секретирует моноклональное антитело, которое связывается с иммуногеном. Например, подходящее млекопитающее, такое как лабораторная мышь, иммунизируют полипептидом ИЛ-27, как описано выше. Клетки иммунизированного млекопитающего, продуцирующие антитела (например, В-клетки селезенки), можно выделять через двое - четверо суток после по меньшей мере одной бустерной иммунизации иммуногеном, а затем кратковременно выращивать в культуре перед слиянием с клетками подходящей клеточной линии миеломы. Слияние клеток можно осуществлять в присутствии промотора слияния, такого как, например, вирус коровьей оспы или полиэтиленгликоль. Гибридные клетки, полученные при слиянии, клонируют и отбирают клеточные клоны, секретирующие желаемые антитела. Например, клетки селезенки мыши Balb/c, иммунизированной подходящим иммуногеном, могут быть слиты с клетками клеточной линии миеломы РА1 или с клетками клеточной линии миеломы Sp2/0-Ag 14. После слияния число клеток увеличивают в подходящей культуральной среде, которую дополняют средой для селекции, например, гипоксантин-аминоптерин-тимидиновой средой (ГАТ-средой), через равные промежутки времени, чтобы предотвратить чрезмерный рост нормальных клеток миеломы по сравнению с желаемыми клетками гибридомы. Полученные гибридные клетки затем подвергают скринингу на предмет секреции желаемых антител, например, антитела, которое связывается с ИЛ-27 человека, и в некоторых аспектах данного изобретения специалист в данной области техники может идентифицировать антитело против ИЛ-27 из неиммунологической направленной библиотеки, как описано, например, в патенте США № 6300064 (выданном на имя Knappik et al.; Morphosys AG) и в работе Schoonbroodt et al. (2005) *Nucleic Acids Res* 33(9): e81.

**[0270]** В некоторых аспектах данного изобретения способы, описанные в данном документе, могут включать в себя или использоваться в сочетании, например, с технологиями фагового дисплея, бактериального дисплея, дрожжевого поверхностного дисплея, эукариотического вирусного дисплея, дисплея на клетках млекопитающих и бесклеточными методиками скрининга антител (например, рибосомного дисплея) (см., например, работы Etz et al. (2001) *J Bacteriol* 183: 6924 - 6935; Cornelis (2000) *Curr Opin Biotechnol* 11: 450 - 454; Klemm et al. (2000) *Microbiology* 146: 3025 - 3032; Kieke et al. (1997) *Protein Eng* 10: 1303 - 1310; Yeung et al. (2002) *Biotechnol Prog* 18: 212 - 220; Boder et al. (2000) *Methods Enzymology* 328: 430 - 444; Grabherr et al. (2001) *Comb Chem High Throughput Screen* 4: 185 - 192; Michael et al. (1995) *Gene Ther* 2: 660 - 668; Pereboev et al. (2001) *J Virol* 75: 7107 - 7113; Schaffitzel et al. (1999) *J Immunol Methods* 231: 119 - 135; и Hanes et al. (2000) *Nat Biotechnol* 18: 1287 - 1292).

**[0271]** Способы идентификации антител с использованием различных способов фагового дисплея известны в данном уровне техники. В способах фагового дисплея функциональные домены антитела отображаются на поверхности фаговых частиц, которые несут кодирующие их полинуклеотидные последовательности. Такой фаг можно использовать для отображения антигенсвязывающих доменов антител, таких как Fab, Fv или фрагменты Fv антител, стабилизированных дисульфидной связью, экспрессированных из репертуарной или комбинаторной библиотеки антител (например, человеческих или мышиных). Фаги, применяемые в таких способах, обычно представляют собой нитевидные фаги, такие как fd и M13. Антигенсвязывающие домены

экспрессируются в виде белка, рекомбинантно слитого с любым из белков оболочки фага рIII, рVIII или рIX. См., например, работу Shi et al. (2010) *JMB* 397: 385 - 396. Примеры способов фагового дисплея, которые можно применять для получения описанных в данном документе иммуноглобулинов или их фрагментов, включают в себя способы, представленные в работах Brinkman et al. (1995) *J Immunol Methods* 182: 41 - 50; Ames et al. (1995) *J Immunol Methods* 184: 177 - 186; Kettleborough et al. (1994) *Eur J Immunol* 24: 952 - 958; Persic et al. (1997) *Gene* 187: 9 - 18; Burton et al. (1994) *Advances in Immunology* 57: 191 - 280; и в международных патентных РСТ-публикациях № WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982 и WO 95/20401. Подходящие способы также представлены, например, в патентах США № 5698426; № 5223409; № 5403484; № 5580717; № 5427908; № 5750753; № 5821047; № 5571698; № 5427908; № 5516637; № 5780225; № 5658727; № 5733743 № и № 5969108.

**[0272]** В некоторых аспектах данного изобретения библиотеки антител фагового дисплея могут быть созданы с использованием мРНК, собранной из В-клеток иммунизированных млекопитающих. Например, образец клеток селезенки, содержащий В-клетки, может быть выделен из мышей, иммунизированных полипептидом ИЛ-27, как описано выше. мРНК можно выделить из клеток и перевести в кДНК с использованием стандартных методик молекулярной биологии. См., например, Sambrook et al. (1989) «*Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2<sup>nd</sup> Edition*,» Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.; Harlow and Lane (1988), как указано выше; Benny K. C. Lo (2004), как указано выше; и Votrebak (1995), как указано выше. кДНК, кодирующую вариабельные области полипептидов тяжелой цепи и легкой цепи иммуноглобулинов, используют для создания библиотеки фагового дисплея. Способы создания такой библиотеки описаны, например, в работах Merz et al. (1995) *J Neurosci Methods* 62 (1 - 2): 213 - 9; Di Niro et al. (2005) *Biochem J* 388 (Pt 3): 889 - 894; и Engberg et al. (1995) *Methods Mol Biol* 51: 355 - 376.

**[0273]** В некоторых аспектах данного изобретения можно применять комбинацию селекции и скрининга для идентификации представляющего интерес антитела, например, из популяции гибридных антител или библиотеки антител фагового дисплея. Подходящие способы известны в данной области техники и описаны, например, в работах Hoogenboom (1997) *Trends in Biotechnology* 15: 62 - 70; Brinkman et al. (1995), как указано выше; Ames et al. (1995), как указано выше; Kettleborough et al. (1994), как указано выше; Persic et al. (1997), как указано выше; и Burton et al. (1994), как указано выше. Например, множество фагмидных векторов, каждый из которых кодирует слитый белок из белка оболочки бактериофага (например, рIII, рVIII или рIX фага М13) и другую антигенсвязывающую область, получают с использованием стандартных методик молекулярной биологии, а затем вводят в популяцию бактерий (например, *E. coli*). Экспрессия бактериофага в бактериях может, в некоторых аспектах данного изобретения, потребовать использования вспомогательного фага. В некоторых аспектах данного изобретения вспомогательный фаг не требуется (см., например, Chasteen et al., (2006) *Nucleic Acids Res* 34 (21): e145). Фаг, продуцируемый бактериями, выделяют и затем приводят в контакт, например, с целевым антигеном, связанным с твердой подложкой (иммобилизованным). Фаг также можно приводить в контакт с антигеном в растворе, после чего полученный комплекс связывают с твердой подложкой.

**[0274]** Субпопуляцию антител, выделенных с помощью скрининга с использованием вышеуказанных способов, можно охарактеризовать по их специфичности и аффинности связывания с конкретным антигеном (например, с ИЛ-27р28 человека) с использованием любого иммунологического или биохимического способа, известного в данной области техники. Например, специфическое связывание антитела с ИЛ-27р28 можно определить, например, с помощью иммунологических или биохимических методов, таких как, но не ограничиваясь ими, анализ ТИФА, анализ ППР, анализ иммунопреципитации, аффинная хроматография и

равновесный диализ, как описано выше. Иммуноанализы, которые можно применять для анализа иммуноспецифического связывания и перекрестной реактивности антител, включают в себя, но не ограничиваются ими, конкурентные и неконкурентные системы анализа с использованием таких методов, как вестерн-блоттинг, РИА, ТИФА (твердофазный иммуноферментный анализ), «сэндвич»-иммуноанализы, анализы иммунопреципитации, анализы иммунодиффузии, анализы агглютинации, анализы фиксации комплемента, иммунорадиометрические анализы, флуоресцентные иммуноанализы и иммуноанализы с белком А. Такие анализы являются рутинными и хорошо известны в данной области техники.

[0275] В аспектах данного изобретения, в которых выбранные аминокислотные последовательности CDR представляют собой короткие последовательности (например, длиной меньше чем 10-15 аминокислот), нуклеиновые кислоты, кодирующие CDR, могут быть синтезированы химически, как описано, например, в работе Shiraiishi et al. (2007) *Nucleic Acids Symposium Series* 51 (1): 129 - 130 и в патенте США № 6995259. Для данной последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей акцепторное антитело, область последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующая CDR, может быть заменена химически синтезированными нуклеиновыми кислотами с помощью стандартных методик молекулярной биологии. 5'- и 3'-концы химически синтезированных нуклеиновых кислот могут быть синтезированы так, чтобы они содержали сайты рестрикционных ферментов с липкими концами для использования при клонировании нуклеиновых кислот в нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область донорного антитела.

[0276] В некоторых аспектах данного изобретения антитела против ИЛ-27, описанные в данном документе, содержат измененную константную область тяжелой цепи, которая обладает сниженной эффекторной функцией (или не обладает эффекторной функцией) по сравнению с соответствующей неизменной константной областью. Эффекторные функции, связанные с константной областью антитела против ИЛ-27, можно модулировать путем изменения свойств константной области или области Fc. Измененные эффекторные функции включают в себя, например, модулирование одной или большего числа из следующих функций: антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ), комплементзависимая цитотоксичность (КЗЦ), апоптоз, связывание с одним или большим числом Fc-рецепторов и провоспалительные реакции. Модуляция обозначает повышение, снижение или устранение активности эффекторной функции, проявляемой рассматриваемым антителом, содержащим измененную константную область, по сравнению с активностью неизменной формы константной области. В конкретных аспектах данного изобретения модуляция включает в себя ситуации, в которых активность отключена или полностью отсутствует.

[0277] В одном аспекте данного изобретения антитела против ИЛ-27, описанные в данном документе, содержат константную область тяжелой цепи IgG4. В одном аспекте данного изобретения указанная константная область тяжелой цепи IgG4 представляет собой константную область тяжелой цепи IgG4 дикого типа. В другом аспекте данного изобретения указанная константная область IgG4 содержит мутацию, например, одну или обе из S228P и L235E или L235A, например, в соответствии с системой нумерации ЕС (Kabat, EA, et al., см. выше). В одном аспекте данного изобретения антитела против ИЛ-27, описанные в данном документе, содержат константную область IgG1. В одном аспекте данного изобретения указанная константная область тяжелой цепи IgG1 представляет собой константную область тяжелой цепи IgG1 дикого типа. В другом аспекте данного изобретения указанная константная область тяжелой цепи IgG1 содержит мутацию.

[0278] Измененная константная область с измененной аффинностью связывания с FcR и (или) активностью АЗКЦ, и (или) измененной активностью КЗЦ представляет собой полипептид, который имеет либо повышенную, либо пониженную активность связывания с FcR и (или) активностью АЗКЦ, и (или)

активностью КЗЦ по сравнению с неизменной формой константной области. Измененная константная область, проявляющая повышенное связывание с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с большей аффинностью, чем неизменный полипептид. Измененная константная область, которая проявляет сниженное связывание с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с более низкой аффинностью, чем неизменная форма константной области. Такие варианты, которые проявляют сниженное связывание с FcR, могут проявлять незначительное связывание с FcR или вообще не проявлять заметного связывания с FcR, например, проявляют от 0% до 50% (например, меньше чем 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 %) связывания с FcR по сравнению с уровнем связывания с FcR нативной последовательности константной области иммуноглобулина или области Fc. Подобным образом измененная константная область, которая проявляет модулированную активность АЗКЦ и (или) КЗЦ, может проявлять либо повышенную, либо сниженную активность АЗКЦ и (или) КЗЦ по сравнению с неизменной константной областью. Например, в некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27, содержащее измененную константную область, может проявлять от около 0% до около 50% (например, меньше чем 50, 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 %) активности АЗКЦ и (или) КЗЦ по сравнению с неизменной формой константной области. Антитело против ИЛ-27, описанное в данном документе, содержащее измененную константную область, проявляющую сниженную АЗКЦ и (или) КЗЦ, может проявлять сниженную активность АЗКЦ и (или) КЗЦ, или не проявлять их вообще.

**[0279]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27, описанное в данном документе, проявляет сниженную эффекторную функцию или не проявляет ее вообще. В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 содержит гибридную константную область или ее часть, такую как гибридная константная область G2/G4 (см., например, работы Burton et al. (1992) *Adv Immunol* 51: 1 - 18; Canfield et al. (1991) *J Exp Med* 173: 1483 - 1491; и Mueller et al. (1997) *Mol Immunol* 34 (6): 441 - 452). См. выше.

**[0280]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 может содержать измененную константную область, проявляющую повышенную или сниженную комплементзависимую цитотоксичность (КЗЦ). Модуляция активности КЗЦ может быть достигнута путем введения одной или большего числа аминокислотных замен, вставок или делеций в участок Fc данного антитела. См., например, патент США № 6194551. В качестве альтернативы или дополнения в область Fc может (могут) быть введен (-ы) остаток (-ки) цистеина, тем самым обеспечивая образование межцепочечной дисульфидной связи в этой области. Полученное таким образом гомодимерное антитело может иметь улучшенную или сниженную способность к интернализации и (или) повышенную или сниженную активность комплемент-опосредованного уничтожения клеток. См., например, работы Caron et al. (1992) *J Exp Med* 176: 1191 - 1195 и Shopes (1992) *Immunol* 148: 2918 - 2922; международные патентные публикации PCT № WO 99/51642 и WO 94/29351; работу Duncan and Winter (1988) *Nature* 322: 738 - 40; и патенты США № 5648260 и № 5624821.

### **Экспрессия и очистка рекомбинантных антител**

**[0281]** Описанные в данном документе антитела или их антигенсвязывающие фрагменты могут быть получены с помощью множества методик, известных в области молекулярной биологии и химии белков. Например, нуклеиновая кислота, кодирующая один или оба полипептида тяжелой и легкой цепей антитела, может быть встроена в вектор экспрессии, который содержит регуляторные последовательности транскрипции и трансляции, которые включают в себя, например, промоторные последовательности, сайты

связывания рибосом, последовательности начала транскрипции и остановки транскрипции, последовательности начала трансляции и остановки трансляции, сигналы терминатора транскрипции, сигналы полиаденилирования и энхансерные или активирующие последовательности. Регуляторные последовательности включают в себя промотор и последовательности начала и остановки транскрипции. В дополнение к этому вектор экспрессии может включать в себя больше чем одну систему репликации, так что его можно поддерживать в двух разных организмах, например, в клетках млекопитающих или насекомых для экспрессии и в прокариотическом хозяине для клонирования и амплификации.

**[0282]** Доступно несколько возможных векторных систем для экспрессии клонированных полипептидов тяжелой и легкой цепей из нуклеиновых кислот в клетках млекопитающих. Один из классов векторов основан на интеграции желаемых последовательностей генов в геном клетки-хозяина. Клетки со стабильно интегрированной ДНК могут быть отобраны путем одновременного введения генов устойчивости к лекарственному препарату, таких как *E. coli gpt* (Mulligan and Berg (1981) *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 2072) или *Tn5 neo* (Southern and Berg (1982) *Mol Appl Genet* 1: 327). Селектируемый маркерный ген может быть либо непосредственно связан с последовательностями ДНК, которые должны быть экспрессированы, либо введен в ту же клетку путем котрансфекции (Wigler et al. (1979) *Cell* 16: 77). Во втором классе векторов используются элементы ДНК, которые придают способность к автономной репликации внехромосомной плазмиде. Такие векторы могут быть получены из вирусов животных, таких как вирус папилломы крупного рогатого скота (Sarver et al. (1982) *Proc Natl Acad Sci USA*, 79: 7147), цитомегаловирус, вирус полиомы (Deans et al. (1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 1292) или вирус SV40 (Lusky and Botchan (1981) *Nature* 293: 79).

**[0283]** Векторы экспрессии можно вводить в клетки способом, подходящим для последующей экспрессии нуклеиновой кислоты. Способ введения во многом диктуется целевым типом клеток, что обсуждается ниже. Иллюстративные способы включают в себя осаждение с помощью СаРО<sub>4</sub>, слияние липосом, катионные липосомы, электропорацию, вирусную инфекцию, трансфекцию, опосредованную декстраном, трансфекцию, опосредованную полибренном, слияние протопластов и прямую микроинъекцию.

**[0284]** Подходящие клетки-хозяева для экспрессии антител или их антигенсвязывающих фрагментов включают в себя клетки дрожжей, бактерий, насекомых, растений и млекопитающих. Особый интерес представляют бактерии, такие как *E. coli*, грибы, такие как *Saccharomyces cerevisiae* и *Pichia pastoris*, клетки насекомых, такие как SF9, клеточные линии млекопитающих (например, клеточные линии человека), а также первичные клеточные линии.

**[0285]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело или его фрагмент могут быть экспрессированы и очищены из организмов трансгенных животных (например, трансгенных млекопитающих). Например, антитело может быть получено в организме трансгенного млекопитающего (например, грызуна) и выделено из молока, как описано, например, в работах Houdebine (2002) *Curr Opin Biotechnol* 13 (6): 625 - 629; van Kuik-Romeijn et al. (2000) *Transgenic Res* 9 (2): 155 - 159; и Pollock et al. (1999) *J Immunol Methods* 231 (1 - 2): 147 - 157.

**[0286]** Антитела и их фрагменты могут быть получены из клеток путем культивирования клетки-хозяина, трансформированной вектором экспрессии, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую антитела или их фрагменты, в условиях и в течение времени, достаточных для обеспечения экспрессии указанных белков. Такие условия для экспрессии белка будут варьировать в зависимости от выбора вектора экспрессии и клетки-хозяина, и специалист в данной области техники легко определит их с помощью рутинных экспериментов. Например, антитела, экспрессированные в *E. coli*, могут быть получены путем рефолдинга из телец включения (см., например, работу Hou et al. (1998) *Cytokine* 10: 319 - 30). Системы бактериальной экспрессии и способы

их применения хорошо известны в данной области техники (см. *Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley & Sons, and *Molecular Cloning - A Laboratory Manual - 3rd Ed.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001)). Выбор кодонов, подходящих векторов экспрессии и подходящих клеток-хозяев будет варьировать в зависимости от ряда факторов и при необходимости может быть легко оптимизирован. Антитело (или его фрагмент), описанные в данном документе, могут быть экспрессированы в клетках млекопитающих или в других системах экспрессии, включая, но не ограничиваясь ими, дрожжи, бакуловирусы и системы экспрессии *in vitro* (см., например, работу Kaszubska et al. (2000) *Protein Expression and Purification* **18**: 213 - 220).

**[0287]** После экспрессии антитела и их фрагменты можно выделять. Антитело или его фрагмент могут быть выделены или очищены различными способами, известными специалистам в данной области техники, в зависимости от того, какие другие компоненты присутствуют в данном образце. Стандартные методы очистки включают в себя электрофоретические, молекулярные, иммунологические и хроматографические методики, включая ионообменную, гидрофобную, аффинную хроматографии и обращенно-фазовую ВЭЖХ. Например, антитело может быть очищено с помощью стандартной колонки против антител (например, колонки с белком А или с белком G). Также можно применять методики ультрафильтрации и диафильтрации в сочетании с концентрированием белка. См., например, Scopes (1994) «*Protein Purification*, 3<sup>rd</sup> edition,» Springer-Verlag, New York City, New York. Степень очистки обязательно будет зависеть от желаемого применения. В некоторых случаях нет необходимости в очистке экспрессированного антитела или его фрагментов.

**[0288]** Способы определения выхода или чистоты очищенного антитела или его фрагмента известны в данной области техники и включают в себя, например, анализ по Брэдфорду, УФ-спектроскопию, биуретовый анализ белка, анализ белка по Лоури, анализ белка с амидовым черным красителем, жидкостную хроматографию высокого давления (ВЭЖХ), масс-спектрометрию (МС) и методы гель-электрофореза (например, с использованием белкового красителя, такого как кумасси синий, или коллоидного серебра).

#### **Модификация антител или их антигенсвязывающих фрагментов**

**[0289]** Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты можно модифицировать после их экспрессии и очистки. Модификации могут быть ковалентными или нековалентными модификациями. Такие модификации могут быть введены в антитела или их фрагменты, например, путем приведения целевых аминокислотных остатков данного полипептида в реакцию с органическим дериватизирующим агентом, который способен вступать в реакцию с выбранными боковыми цепями или концевыми остатками. Подходящие сайты для модификации могут быть выбраны с использованием любого из множества критериев, включая, например, структурный анализ или анализ аминокислотной последовательности антител или их фрагментов.

**[0290]** В некоторых аспектах данного изобретения антитела или их антигенсвязывающие фрагменты могут быть конъюгированы с гетерологичным фрагментом. Такой гетерологичный фрагмент может представлять собой, например, гетерологичный полипептид, терапевтический агент (например, токсин или лекарственный препарат) или обнаруживаемую метку, такую как, но не ограничиваясь ими, радиоактивная метка, ферментативная метка, флуоресцентная метка, метка тяжелого металла, люминесцентная метка или аффинная метка, такая как биотин или стрептавидин. Подходящие гетерологичные полипептиды включают в себя, например, антигенную метку (FLAG (DYKDDDDK (SEQ ID NO: 141)), полигистидин (6-His; НННННН (SEQ ID NO: 142)), гемагглютинин (HA; YPYDVPDYA (SEQ ID NO: 143)), глутатион-S-трансферазу (GST) или мальтозосвязывающий белок (МСБ, англ. «MBP»)), для применения при очистке антител или их фрагментов. Гетерологичные полипептиды также включают в себя полипептиды (например, ферменты), которые можно

применять в качестве диагностических или обнаруживаемых маркеров, например, люциферазу, флуоресцентный белок (например, зеленый флуоресцентный белок (GFP)) или хлорамфениколацетилтрансферазу (ХАТ, англ. «CAT»). Подходящие радиоактивные метки включают в себя, например,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{35}\text{S}$  и  $^3\text{H}$ . Подходящие флуоресцентные метки включают в себя, но не ограничиваются ими, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат (FITC), зеленый флуоресцентный белок (GFP), DyLight™ 488, фикоэритрин (PE), йодид пропидия (PI), PerCP, PE-Alexa Fluor® 700, Cy5, аллофикоцианин и Cy7. Люминесцентные метки включают в себя, например, любой из множества люминесцентных хелатов лантанидов (например, европия или тербия). Например, подходящие хелаты европия включают в себя хелат европия и диэтиленetriаминпентауксусной кислоты (ДТПК, англ. «DTPA») или тетраазациклододекан-1,4,7,10-тетрауксусной кислоты (ТЦТК, англ. «DOTA»). Ферментативные метки включают в себя, например, щелочную фосфатазу, ХАТ, люциферазу и пероксидазу хрена.

**[0291]** Два белка (например, антитело и гетерологичный фрагмент) могут быть сшиты с помощью любого из ряда известных химических перекрестно-сшивающих агентов. Примерами таких перекрестно-сшивающих агентов являются те, которые связывают два аминокислотных остатка посредством связи, включающей «затрудненную» дисульфидную связь. В таких связях дисульфидная связь в сшивающем звене защищена (за счет пространственно-блокирующих групп по обе стороны от данной дисульфидной связи) от восстановления под действием, например, восстановленного глутатиона или фермента дисульфидредуктазы. Один подходящий реагент – 4-сукцинимидилоксикарбонил- $\alpha$ -метил- $\alpha$ -(2-пиридилдитио)толуол (СМРТ, англ. «SMPT») – образует такую связь между двумя белками, используя концевой лизин на одном из белков и концевой цистеин на другом. Также можно использовать гетеробифункциональные реагенты, которые перекрестно сшиваются с помощью различных групп связывания на каждом белке. Другие пригодные перекрестно-сшивающие агенты включают в себя, но не ограничиваются ими, реагенты, которые связывают две аминокислотные группы (например, N-5-азидо-2-нитробензоилоксисукцинимид), две сульфгидрильные группы (например, 1,4-бис-малеимидобутан), аминокислотную группу и сульфгидрильную группу (например, м-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидный сложный эфир), аминокислотную группу и карбоксильную группу (например, 4-[п-азидосалициламидо]бутиламин), и аминокислотную группу и гуанидиниевую группу, которые присутствуют в боковой цепи аргинина (например, моногидрат п-азидофенилглиоксала).

**[0292]** В некоторых аспектах данного изобретения радиоактивная метка может быть непосредственно конъюгирована с аминокислотным остовом антитела. В качестве альтернативы радиоактивная метка может быть включена как часть более крупной молекулы (например,  $^{125}\text{I}$  в мета-[ $^{125}\text{I}$ ]йодофенил-N-гидроксисукцинимид ([ $^{125}\text{I}$ ]МИФНГС, англ. («[ $^{125}\text{I}$ ]mIPNHS»)) который связывается со свободными аминокислотными группами с образованием мета-йодофенильных (МИФ, англ. «mIP») производных соответствующих белков (см., например, Rogers et al. (1997) *J Nuc/Med* 38: 1221 - 1229) или в виде хелата (например, с ТЦТК или ДТПК), который, в свою очередь, связан с белковым остовом. Способы конъюгации радиоактивных меток или более крупных молекул/хелатов, содержащих их, с антителами, описанными в данном документе, или с их антигенсвязывающими фрагментами, известны в данной области техники. Такие способы включают в себя инкубацию белков с радиоактивной меткой в определенных условиях (например, pH, концентрация соли, и (или) температура), которые облегчают связывание радиоактивной метки или хелата с данным белком (см., например, патент США № 6001329).

**[0293]** Способы конъюгации флуоресцентной метки (иногда называемой «флуорофор») с белком (например, антителом) известны в области химии белков. Например, флуорофоры могут быть конъюгированы со свободными аминокислотными группами (например, лизинов) или сульфгидрильными группами (например, цистеинов)

белков с использованием групп сукцинимидилового (НГС, англ. «NHS») сложного эфира или тетрафторфенилового (ТФФ, англ. «TFP») сложного эфира, присоединенных к флуорофорам. В некоторых аспектах данного изобретения флуорофоры могут быть конъюгированы с гетеробифункциональным перекрестно-сшивающим фрагментом, таким как сульфосукцинимидил-4-(N-маленимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (сульфо-СМЦК, англ. «sulfo-SMCC»). Подходящие способы конъюгации включают в себя инкубацию белка антитела или его фрагмента с флуорофором в условиях, облегчающих связывание данного флуорофора с данным белком. См., например, Welch and Redvanly (2003) «Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications,» John Wiley and Sons (ISBN 0471495603).

[0294] В некоторых аспектах данного изобретения антитела или их фрагменты можно модифицировать, например, фрагментом, улучшающим стабилизацию и (или) удержание антител в циркуляции, например, в крови, сыворотке крови или других тканях. Например, антитело или его фрагмент можно ПЭГилировать, как описано, например, в работах Lee et al. (1999) *Bioconjug Chem* 10 (6): 973 - 8; Kinstler et al. (2002) *Advanced Drug Deliveries Reviews* 54: 477 - 485; и Roberts et al. (2002) *Advanced Drug Delivery Reviews* 54: 459 - 476; или ГЭКилировать (с помощью гидроксиэтилового крахмала – ГЭК, англ. «HES») (Fresenius Kabi, Germany; см., например, работу Pavišić et al. (2010) *Int J Pharm* 387 (1 - 2): 110 - 119). Стабилизирующий фрагмент может улучшить стабильность или удержание антитела (или его фрагмента) по меньшей мере в 1,5 раза (например, по меньшей мере в 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 или 50 или большее число раз).

[0295] В некоторых аспектах данного изобретения антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, описанные в данном документе, могут быть гликозилированы. В некоторых аспектах данного изобретения антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, могут быть подвергнуты ферментативной или химической обработке, или получены из клетки, так что указанные антитело или его фрагмент имеют низкую степень гликозилирования или не гликозилированы вообще. Способы получения антител с низкой степенью гликозилирования известны в данной области техники и описаны, например, в патенте США № 6933368; и в работах Wright et al. (1991) *EMBO J* 10 (10): 2717 - 2723; и Co et al. (1993) *Mol Immunol* 30: 1361.

#### **Фармацевтические композиции и составы**

[0296] В некоторых аспектах данного изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая антитело против ИЛ-27 вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем, солюбилизатором, эмульгатором, консервантом и (или) адьювантом.

[0297] В определенных аспектах данного изобретения приемлемые материалы для лекарственных составов предпочтительно являются нетоксичными для реципиентов в применяемых дозах и концентрациях. В некоторых аспектах данного изобретения материал (-ы) для лекарственных составов предназначен (-ы) для п/к и (или) в/в введения. В определенных аспектах данного изобретения фармацевтическая композиция может содержать материалы для лекарственных составов для модифицирования, поддержания или сохранения, например, уровня pH, осмолярности, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, адсорбции или проницаемости указанной композиции. В определенных аспектах данного изобретения подходящие материалы включают в себя, но не ограничиваются ими, аминокислоты (такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин, пролин или лизин); противомикробные агенты; антиоксиданты (такие как аскорбиновая кислота, сульфит натрия или гидросульфит натрия); буферы (такие как борат, бикарбонат, трис-HCl, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты); объемобразующие агенты (такие как маннит или глицин); хелатирующие агенты

(такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА, англ. «EDTA»)); комплексообразующие агенты (такие как кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин); наполнители; моносахариды; дисахариды; и другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины); белки (такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины); красители, ароматизаторы и разбавители; эмульгаторы; гидрофильные полимеры (такие как поливинилпирролидон); полипептиды с низкой молекулярной массой; солеобразующие противоионы (такие как натрий); консерванты (такие как хлорид бензалкония, бензойная кислота, салициловая кислота, тимеросал, фенилэтиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота или перекись водорода); растворители (такие как глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль); сахарные спирты (такие как маннит или сорбит); суспендирующие агенты; поверхностно-активные вещества или смачивающие агенты (такие как плороники, ПЭГ, сложные эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат 80, тритон, триметамин, лецитин, холестерол, тилоксапол); агенты, повышающие стабильность (такие как сахароза или сорбит); агенты, повышающие тоничность (такие как галогениды щелочных металлов, предпочтительно – хлорид натрия или калия, маннит, сорбит); носители; разбавители; эксципиенты и (или) фармацевтические адьюванты. (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company (1995). В некоторых аспектах данного изобретения лекарственный состав содержит ФСБ; 20 мМ ацетата натрия, pH 5,2, 50 мМ NaCl; и (или) 10 мМ ацетата натрия, pH 5,2, 9% сахарозы. В определенных аспектах данного изобретения оптимальная фармацевтическая композиция определяется специалистом в данной области техники в зависимости, например, от предполагаемого пути введения, формы доставки и необходимой дозы. См., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, как указано выше. В определенных аспектах данного изобретения такие композиции могут влиять на физическое состояние, стабильность, скорость высвобождения *in vivo* и (или) скорость выведения *in vivo* указанного антигена против ИЛ-27.

**[0298]** В определенных аспектах данного изобретения основная несущая среда или носитель в фармацевтической композиции могут быть по своей природе как водными, так и неводными. Например, в определенных аспектах данного изобретения пригодная несущая среда или носитель могут представлять собой воду для инъекций, физиологический солевой раствор или искусственную спинномозговую жидкость, возможно, дополненные другими материалами, часто применяемыми в композициях для парентерального введения. В определенных аспектах данного изобретения физиологический раствор включает в себя изотонический фосфатно-солевой буфер. В определенных аспектах данного изобретения дополнительными иллюстративными носителями являются нейтральный забуференный физиологический раствор или физиологический раствор, смешанный с сывороточным альбумином. В определенных аспектах данного изобретения фармацевтические композиции содержат Трис-буфер с pH около 7,0-8,5 или ацетатный буфер с pH около 4,0-5,5, и могут дополнительно содержать сорбит или его подходящий заменитель. В определенных аспектах данного изобретения композиции, содержащие антиген против ИЛ-27, могут быть подготовлены для хранения путем смешивания выбранной композиции, имеющей необходимую степень чистоты, с оптимальными агентами для лекарственного состава (см. Remington's Pharmaceutical Sciences, как указано выше) в форме лиофилизированной массы или водного раствора. Кроме того, в определенных аспектах данного изобретения композицию, содержащую антиген против ИЛ-27, можно составить в виде лиофилизата, используя соответствующие эксципиенты, такие как сахароза.

**[0299]** В определенных аспектах данного изобретения фармацевтические композиции могут быть выбраны для парентеральной доставки. В определенных аспектах данного изобретения композиции могут быть выбраны для ингаляции или для доставки через пищеварительный тракт, например, пероральной доставки.

Приготовление таких фармацевтически приемлемых композиций находится в пределах компетентности специалиста в данной области техники.

**[0300]** В определенных аспектах данного изобретения компоненты лекарственного состава предпочтительно находятся в концентрациях, которые являются приемлемыми с учетом конкретного места введения. В определенных аспектах данного изобретения применяют буферы для поддержания в композиции физиологического уровня pH или немного более низкого уровня pH, как правило, в пределах диапазона pH от около 5 до около 8.

**[0301]** В определенных аспектах данного изобретения, если предусмотрено парентеральное введение, терапевтические композиции могут находиться в форме апиrogenного, парентерально приемлемого водного раствора, содержащего антитело против ИЛ-27 и фармацевтически приемлемый носитель. В определенных аспектах данного изобретения носитель для парентеральной инъекции представляет собой стерильную дистиллированную воду, в которую добавлено антитело против ИЛ-27, в виде стерильного изотонического раствора с надлежащим консервантом. В определенных аспектах данного изобретения препарат может включать в себя готовый лекарственный состав необходимой молекулы с агентом, таким как инъекционные микросферы, биоразлагаемые частицы, полимерные соединения (такие как полимолочная кислота или полигликолевая кислота), гранулы или липосомы, которые могут обеспечивать контролируемое или замедленное высвобождение продукта, который может доставляться посредством депонированной инъекции. В определенных аспектах данного изобретения также можно использовать гиалуроновую кислоту, действие которой состоит в обеспечении продления периода нахождения в циркуляции. В определенных аспектах данного изобретения можно использовать имплантируемые устройства доставки лекарственного препарата для введения необходимой молекулы.

**[0302]** В определенных аспектах данного изобретения фармацевтическая композиция составлена для ингаляции. В определенных аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 может быть составлено в виде сухого порошка для ингаляции. В определенных аспектах данного изобретения раствор для ингаляции, содержащий антитело против ИЛ-27, может быть составлен с пропеллентом для аэрозольной доставки. В определенных аспектах данного изобретения растворы могут быть распыляемыми. Ингаляционное введение дополнительно описано в международном патентном документе № PCT/US94/001875, который описывает ингаляционное введение химически модифицированных белков.

**[0303]** В определенных аспектах данного изобретения предполагается, что лекарственные составы можно вводить перорально. В определенных аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27, которое вводят таким образом, можно составить с или без носителей, обычно применяемых при составлении твердых дозированных лекарственных форм, таких как таблетки или капсулы. В определенных аспектах данного изобретения капсула может быть разработана так, чтобы высвобождение активной части лекарственного состава происходило в точке желудочно-кишечного тракта, в которой биодоступность максимальна, а пресистемная деградация минимальна. В определенных аспектах данного изобретения может быть добавлен по меньшей мере один дополнительный агент для облегчения абсорбции антитела против ИЛ-27. В определенных аспектах данного изобретения можно также применять разбавители, ароматизаторы, тугоплавкие воски, растительные масла, смазывающие агенты, суспендирующие агенты, агенты для улучшения распадаемости таблеток и связующие агенты.

**[0304]** В определенных аспектах данного изобретения фармацевтическая композиция может включать в себя эффективное количество антитела против ИЛ-27 в смеси с нетоксичными эксципиентами, которые подходят для изготовления таблеток. В определенных аспектах данного изобретения путем растворения таблеток в

стерильной воде или в другом подходящем носителе можно получить растворы в форме единичной дозы. В определенных аспектах данного изобретения подходящие эксципиенты включают в себя, но не ограничиваются ими, инертные разбавители, такие как карбонат кальция, карбонат натрия или бикарбонат, лактоза или фосфат кальция; или связывающие агенты, такие как крахмал, желатин или аравийская камедь; или смазывающие агенты, такие как стеарат магния, стеариновая кислота или тальк.

**[0305]** Дополнительные фармацевтические композиции будут очевидны для специалистов в данной области техники, включая лекарственные составы на основе антитела против ИЛ-27, характеризующиеся пролонгированной или контролируемой доставкой. В определенных аспектах данного изобретения специалистам в данной области техники также известны методики составления различных других средств замедленной или контролируемой доставки, таких как липосомные носители, биоразлагаемые микрочастицы или пористые микрогранулы и депонированные инъекции. См., например, заявку РСТ № РСТ/US93/00829, в которой описано контролируемое высвобождение пористых полимерных микрочастиц для доставки фармацевтических композиций. В определенных аспектах данного изобретения препараты с замедленным высвобождением могут содержать полупроницаемые полимерные матрицы в виде формованных изделий, например, пленок или микрокапсул. Матрицы, обеспечивающие замедленное высвобождение, могут включать в себя полиэферы, гидрогели, полилактиды (патент США № 3773919 и Европейская патентная заявка № EP 058481), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата (Sidman et al., *Biopolymers*, 22: 547 - 556 (1983)), поли(2-гидроксиэтилметакрилат) (Langer et al., *J. Biomed. Mater. Res.*, 15: 167 - 277 (1981); и Langer, *Chem. Tech.*, 12: 98 - 105 (1982)), этиленвинилацетат (Langer et al., см. выше) или поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту (EP 133988). В определенных аспектах данного изобретения композиции с замедленным высвобождением могут также включать в себя липосомы, которые можно приготовить любым из нескольких способов, известных в данной области техники. См., например, работу Eppstein et al, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 3688 - 3692 (1985); Европейские патентные заявки № EP 036676; № EP 088046 и № EP 143949.

**[0306]** Фармацевтическая композиция для применения при введении *in vivo* является, как правило, стерильной. В определенных аспектах данного изобретения этого можно достичь путем фильтрации через стерильные фильтровальные мембраны. В определенных аспектах данного изобретения, если композиция является лиофилизированной, стерилизацию с применением данного способа можно проводить до или после лиофилизации и восстановления. В определенных аспектах данного изобретения композиции для парентерального введения можно хранить в лиофилизированной форме или в растворе. В определенных аспектах данного изобретения парентеральные композиции в общем случае помещают в контейнер, имеющий стерильное входное отверстие, например, в пакет для внутривенного раствора или во флакон, имеющий пробку, прокалываемую гиподермической иглой для инъекций.

**[0307]** В определенных аспектах данного изобретения после приготовления фармацевтической композиции ее можно хранить в стерильных флаконах в виде раствора, суспензии, геля, эмульсии, твердого вещества, или в виде дегидрированного или лиофилизированного порошка. В определенных аспектах данного изобретения такие лекарственные составы можно хранить в готовой для применения форме или в форме (например, лиофилизированной), которую восстанавливают перед введением.

**[0308]** В определенных аспектах данного изобретения также представлены наборы для получения единичной дозы для введения. В определенных аспектах данного изобретения указанный набор содержит первый контейнер, содержащий сухой белок, и второй контейнер, содержащий водный препарат. В

определенных аспектах данного изобретения представлены наборы, содержащие одно- и многокамерные предварительно заполненные шприцы (например, шприцы с жидкостью и шприцы с лиофилизатом).

**[0309]** В определенных аспектах данного изобретения эффективное количество терапевтически применяемой фармацевтической композиции, содержащей антитело против ИЛ-27, будет зависеть, к примеру, от обстоятельств и целей лечения. Специалисту в данной области техники понятно, что, таким образом, подходящие для лечения дозировочные уровни в соответствии с определенными аспектами данного изобретения будут варьировать в зависимости, частично, от доставляемой молекулы, показаний, по которым применяется антитело против ИЛ-27, пути введения, а также размеров (массы тела, площади поверхности тела или размеров органов) и (или) состояния (возраста и общего состояния здоровья) данного пациента. В определенных аспектах данного изобретения лечащий врач может титровать дозу и изменять путь введения, чтобы получить оптимальный терапевтический эффект.

**[0310]** В определенных аспектах данного изобретения частота введения дозы будет учитывать фармакокинетические параметры антитела против ИЛ-27 в используемом лекарственном составе. В определенных аспектах данного изобретения лечащий врач будет вводить композицию до тех пор, пока будет достигнута доза, которая приведет к требуемому эффекту. Таким образом, в определенных аспектах данного изобретения композицию можно вводить в виде одной дозы или в виде двух или большего числа доз (которые могут содержать или не содержать одно и то же количество необходимой молекулы) с течением времени, или в виде непрерывной инфузии через имплантируемое устройство или катетер. Дальнейшее улучшение применения соответствующей дозы проводится рутинным образом рядовыми специалистами в данной области техники и находится в пределах задач, выполняемых ими рутинным образом. В определенных аспектах данного изобретения соответствующие дозы можно установить на основании соответствующих данных о зависимости между дозой и эффектом.

**[0311]** В определенных аспектах данного изобретения путь введения фармацевтической композиции соответствует известным способам, например, пероральное введение, введение посредством внутривенной, внутрибрюшинной, интрацеребральной (интрапаренхиматозной), интрацеребровентрикулярной, внутримышечной, подкожной, внутриглазной, внутриартериальной, интрапортальной или внутриочаговой инъекциями; при помощи систем для замедленного высвобождения или имплантируемых устройств. В определенных аспектах данного изобретения композиции можно вводить путем болюсной инъекции или непрерывно путем инфузии, или при помощи имплантируемого устройства. В определенных аспектах данного изобретения отдельные элементы комбинированной терапии могут вводиться разными путями.

**[0312]** В определенных аспектах данного изобретения композицию можно вводить местно путем имплантации мембраны, губки или другого подходящего материала, в который абсорбирована или инкапсулирована необходимая молекула. В определенных аспектах данного изобретения, если применяется имплантируемое устройство, указанное устройство можно имплантировать в любую подходящую ткань или орган, а доставку необходимой молекулы можно осуществлять посредством диффузии, болюса с отложенным высвобождением или непрерывного введения. В определенных аспектах данного изобретения может быть желательным применять фармацевтическую композицию, содержащую антитело против ИЛ-27, путем *ex vivo*. В таких случаях клетки, ткани и (или) органы, которые были удалены из организма пациента, обрабатывают фармацевтической композицией, содержащей антитело против ИЛ-27, после чего данные клетки, ткани и (или) органы имплантируют обратно в организм данного пациента.

**[0313]** В определенных аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 может быть доставлено путем имплантации определенных клеток, которые были генетически сконструированы с помощью таких способов,

как описанные в данном документе, для экспрессии и секреции полипептидов. В определенных аспектах данного изобретения такие клетки могут быть клетками животного или человека и могут быть аутологичными, гетерологичными или ксеногенными. В определенных аспектах данного изобретения клетки могут быть иммортализованными. В определенных аспектах данного изобретения, чтобы снизить вероятность иммунологического ответа, клетки можно инкапсулировать, чтобы избежать инфильтрации окружающих тканей. В определенных аспектах данного изобретения инкапсулирующие материалы обычно представляют собой биосовместимые, полупроницаемые полимерные оболочки или мембраны, которые позволяют высвобождать белковый (-е) продукт (-ы), но предотвращают разрушение клеток иммунной системой пациента или другими вредными для них факторами из окружающих тканей.

### **Варианты применения**

[0314] Описанные в данном документе композиции можно использовать в ряде диагностических и терапевтических применений. Например, обнаруживаемые меченые антигенсвязывающие молекулы можно применять в анализах для обнаружения присутствия или количества целевых антигенов в образце (например, в биологическом образце). Композиции можно применять в анализах *in vitro* для изучения ингибирования функции целевого антигена. В некоторых аспектах данного изобретения, например, в которых композиции связываются с белком комплемента и ингибируют его, указанные композиции можно применять в качестве положительных контролей в анализах, разработанных для выявления дополнительных новых соединений, которые ингибируют активность комплемента или иным образом применимы для лечения нарушения, связанного с системой комплемента. Например, композицию, ингибирующую ИЛ-27, можно применять в качестве положительного контроля в анализе для выявления дополнительных соединений (например, низкомолекулярных соединений, аптамеров или антител), которые снижают или устраняют выработку ИЛ-27. Указанные композиции также можно применять в терапевтических способах, что подробно описано ниже.

[0315] В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ обнаружения ИЛ-27 в биологическом образце или в организме субъекта, включающий в себя: (i) приведение указанного образца или указанного организма субъекта (и, необязательно, референсного образца или субъекта) в контакт с любым антителом, описанным в данном документе, в условиях, которые обеспечивают взаимодействие молекулы антитела и ИЛ-27, и (ii) обнаружение образования комплекса между молекулой антитела и образцом или организмом субъекта (и, необязательно, референсным образцом или субъектом).

### **Наборы**

[0316] Набор может включать в себя антитело против ИЛ-27, как описано в данном документе, и инструкции по применению. Наборы могут включать в себя, в подходящем контейнере, антитело против ИЛ-27, один или большее число контролей и различные буферы, реагенты, ферменты и другие стандартные ингредиенты, хорошо известные в данной области техники. В некоторых аспектах данного изобретения представлен набор, содержащий антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающую часть, как описано в данном документе, и инструкции по применению для стимуляции иммунного ответа у субъекта или для лечения онкологического заболевания у субъекта, необязательно – с инструкциями по применению в сочетании с одним или большим числом дополнительных терапевтических агентов или процедур, как описано в данном документе.

[0317] Контейнер может включать в себя по меньшей мере один флакон, лунку, пробирку, колбу, бутылку, шприц или другой вид контейнера, в которые антитело против ИЛ-27 может быть помещено, а в некоторых случаях – подходящим образом аликвотировано. В случаях, когда предоставлен дополнительный компонент,

набор содержит один или большее число дополнительных контейнеров, в которые может быть помещен данный компонент. Указанные наборы также могут включать в себя средства для содержания контейнеров с антителом против ИЛ-27 или любым другим реактивом плотно упакованными для коммерческой продажи. Такие контейнеры могут включать в себя пластиковые контейнеры, изготовленные впрыскиванием или литьем с раздувом, в которых находятся желаемые флаконы. Контейнеры и (или) наборы могут включать в себя маркировку с инструкциями по применению и (или) предупреждениями.

### Способы применения

[0318] Композиции согласно данному изобретению имеют многочисленные способы применения *in vitro* и *in vivo*, включая обнаружение и (или) количественное определение ИЛ-27 и (или) антагонизм функции ИЛ-27.

[0319] В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ ингибирования или снижения фосфорилирования STAT1 и (или) STAT3 в клетке, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с выделенным антителом или его антигенсвязывающей частью, представленными в данном документе, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке.

[0320] В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ ингибирования или снижения ингибирования экспрессии CD161 в клетке, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с выделенным антителом или его антигенсвязывающей частью, представленными в данном документе, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке.

[0321] В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ ингибирования или снижения экспрессии PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с выделенным антителом или его антигенсвязывающей частью, представленными в данном документе, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке.

[0322] В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ индукции или усиления секреции одного или большего числа цитокинов из клетки, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с выделенным антителом или его антигенсвязывающей частью, представленными в данном документе, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки.

[0323] В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ стимуляции иммунного ответа у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с ИЛ-27 и оказывают на него антагонистическое действие, которые представлены в данном документе, или фармацевтической композиции, содержащей указанные антитело или его антигенсвязывающую часть и фармацевтически приемлемый носитель.

[0324] В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с ИЛ-27 и оказывают на него антагонистическое действие, которые представлены в данном документе, или

фармацевтической композиции, содержащей указанные антитело или его антигенсвязывающую часть и фармацевтически приемлемый носитель.

**[0325]** В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или антигенсвязывающего фрагмента, которые представлены в данном документе, или фармацевтической композиции, содержащей указанные антитело или его антигенсвязывающую часть и фармацевтически приемлемый носитель, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке, тем самым обеспечивая стимуляцию иммунного ответа или лечение онкологического заболевания.

**[0326]** В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или антигенсвязывающего фрагмента, которые представлены в данном документе, или фармацевтической композиции, содержащей указанные антитело или его антигенсвязывающую часть и фармацевтически приемлемый носитель, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке, тем самым обеспечивая стимуляцию иммунного ответа или лечение онкологического заболевания.

**[0327]** В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или антигенсвязывающего фрагмента, которые представлены в данном документе, или фармацевтической композиции, содержащей указанные антитело или его антигенсвязывающую часть и фармацевтически приемлемый носитель, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке, тем самым обеспечивая стимуляцию иммунного ответа или лечение онкологического заболевания.

**[0328]** В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или антигенсвязывающего фрагмента, которые представлены в данном документе, или фармацевтической композиции, содержащей указанные антитело или его антигенсвязывающую часть и фармацевтически приемлемый носитель, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки, тем самым обеспечивая стимуляцию иммунного ответа или лечение онкологического заболевания.

**[0329]** В некоторых аспектах данного изобретения онкологическое заболевание выбрано из рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого), саркомы, рака яичка, рака яичника, рака поджелудочной железы, рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы), меланомы, онкологического заболевания головы и шеи (например, плоскоклеточного рака головы и шеи), колоректального рака, рака мочевого пузыря, рака эндометрия, рака предстательной железы, рака щитовидной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака желудка, рака головного мозга, лимфомы (например, ДВКЛ), лейкоза (например, ОМЛ) или рака почки (например, почечно-клеточной карциномы, например, светлоклеточной почечно-клеточной карциномы).

[0330] Вышеописанные композиции полезны, среди прочего, в способах лечения или профилактики различных видов онкологических заболеваний у субъекта. Указанные композиции можно вводить субъекту, например субъекту-человеку, с помощью множества способов, которые зависят, частично, от пути введения. Путь введения может представлять собой, например, внутривенную (в/в) инъекцию или инфузию, подкожную (п/к) инъекцию, внутривентриальную (в/бв) инъекцию, внутримышечную (в/м) инъекцию или интратекальную (и/т) инъекцию. Инъекция может представлять собой болюсную инъекцию или непрерывную инфузию.

[0331] Введение можно осуществлять, например, путем местной инфузии, инъекции, или с помощью имплантата. Имплантат может быть из пористого, непористого или желеобразного материала, включая мембраны, такие как силиконовые мембраны, или волокна. Имплантат может быть сконфигурирован для пролонгированного или периодического высвобождения указанной композиции в организм субъекта. См., например, публикацию заявки на патент США № 20080241223; патенты США № 5501856; № 4863457; и № 3710795; Европейские патентные публикации EP 488401; и EP 430539; описание каждой (каждого) из них включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Композиция может быть доставлена в организм субъекта с помощью имплантируемого устройства на основе, например, диффузионных, эрозионных или конвективных систем, например, осмотических насосов, биоразлагаемых имплантатов, электродиффузионных систем, электроосмотических систем, насосов парового давления, электролитических насосов, шипучих насосов, пьезоэлектрических насосов, систем на основе эрозии или электромеханических систем.

[0332] В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающий фрагмент терапевтическим образом доставляют в организм субъекта путем местного введения.

[0333] Подходящая доза композиции описанного в данном документе антитела или его фрагмента, которая может лечить или предотвращать онкологическое заболевание у субъекта, может зависеть от множества факторов, включая, например, возраст, пол и массу тела субъекта, подвергаемого лечению, и конкретный применяемый ингибитор. Например, для лечения субъекта с онкологическим заболеванием может потребоваться доза целого антитела против ИЛ-27, которая отличается от дозы ИЛ-27-связывающего Fab'-фрагмента антитела, необходимой для лечения того же субъекта. Другие факторы, влияющие на дозу, вводимую субъекту, включают в себя, например, тип или тяжесть онкологического заболевания. Например, субъекту с метастатической меланомой может потребоваться введение дозы антитела против ИЛ-27, которая отличается от дозы указанного антитела для субъекта с глиобластомой. Другие факторы могут включать в себя, например, другие медицинские нарушения, одновременно или ранее имеющиеся у данного субъекта, общее состояние здоровья данного субъекта, генетическую предрасположенность данного субъекта, диету, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных препаратов и любые другие дополнительные терапевтические средства, которые вводят данному субъекту. Кроме того, следует понимать, что конкретную дозу и схему лечения любого конкретного субъекта также можно корректировать на основе суждения медицинского работника (например, лечащего врача или медсестры), который осуществляет лечение данного субъекта. Подходящие дозы описаны в данном документе.

[0334] Фармацевтическая композиция может включать в себя «терапевтически эффективное количество» антитела против ИЛ-27 или его антигенсвязывающего фрагмента, описанных в данном документе. Такие эффективные количества может определить специалист в данной области техники, частично на основании эффекта введенного антитела или комбинаторного эффекта данного антитела и одного или большего числа дополнительных активных агентов, если применяется больше чем один агент. Терапевтически эффективное количество описанного в данном документе антитела или его антигенсвязывающего фрагмента может

варьировать в зависимости от таких факторов, как стадия болезни, возраст, пол и масса тела индивидуума, а также способность указанного антитела (а также одного или большего числа дополнительных активных агентов) вызывать желаемый ответ у данного индивидуума, например, снижение роста опухоли. Например, терапевтически эффективное количество антитела против ИЛ-27 может ингибировать (уменьшать тяжесть или устранять возникновение) и (или) предотвращать конкретное нарушение и (или) любой из симптомов конкретного нарушения, известный в данной области техники или описанный в данном документе. Терапевтически эффективное количество также является таким, при использовании которого терапевтически благоприятные эффекты превосходят любые токсические или пагубные эффекты указанной композиции.

[0335] Подходящие для человека дозы любого из антител или их фрагментов, описанных в данном документе, могут быть дополнительно оценены, например, в исследованиях фазы I повышения дозы. См., например, работы van Gurp et al. (2008) *Am J Transplantation* 8 (8): 1711 - 1718; Hanouska et al. (2007) *Clin Cancer Res* 13 (2, part 1): 523 - 531; и Hetherington et al. (2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50 (10): 3499 - 3500.

[0336] В некоторых аспектах данного изобретения композиция содержит любое из антител или их антигенсвязывающих фрагментов, описанных в данном документе, и одно или большее число (например, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, 10 или 11, или больше) дополнительных терапевтических агентов, так что указанная композиция в целом является терапевтически эффективной. Например, композиция может содержать антитело против ИЛ-27, описанное в данном документе, и алкилирующий агент, при этом указанные антитело и агент находятся в такой концентрации, которая при их сочетании является терапевтически эффективной для лечения или профилактики онкологического заболевания (например, меланомы) у субъекта.

[0337] Токсичность и терапевтическую эффективность таких композиций можно определить с помощью известных фармацевтических процедур на культурах клеток или на экспериментальных животных (например, на животных моделях любого из описанных в данном документе видов онкологического заболевания). Такие процедуры могут быть использованы, например, для определения  $LD_{50}$  (дозы, летальной для 50% популяции) и  $ED_{50}$  (дозы, терапевтически эффективной для 50% популяции). Дозовое соотношение между токсичным и терапевтическим эффектами представляет собой терапевтический индекс и может быть выражено в виде соотношения  $LD_{50}/ED_{50}$ . Предпочтительно, чтобы антитело или его антигенсвязывающий фрагмент обладали высоким терапевтическим индексом. Несмотря на то, что можно использовать композиции, которые проявляют токсические побочные эффекты, следует позаботиться о разработке системы доставки, которая нацеливает такие соединения на участок пораженной ткани и сводит к минимуму потенциальное повреждение нормальных клеток и, таким образом, уменьшает побочные эффекты.

[0338] Результаты, полученные в исследованиях культур клеток и лабораторных животных, можно применять для определения диапазона доз для применения у человека. Доза таких антител или их антигенсвязывающих фрагментов находится, как правило, в пределах диапазона циркулирующих концентраций указанных антител или их фрагментов – концентраций, которые включают в себя  $ED_{50}$  с небольшой токсичностью или вовсе без токсичности. Доза может меняться в этом диапазоне в зависимости от используемой дозовой формы и используемого пути введения. Для описанного в данном документе антитела против ИЛ-27 терапевтически эффективную дозу можно первоначально оценить на основании анализов с использованием культур клеток. Дозу можно разработать на животных моделях для достижения диапазона концентраций, циркулирующих в плазме крови, который включает в себя  $IC_{50}$  (т. е. такую концентрацию активного ингредиента, которая позволяет достичь полумаксимального ингибирования

симптомов), определенную в клеточной культуре. Эту информацию можно применять для более точного определения доз, пригодных для человека. Концентрацию в плазме крови можно измерить, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. В некоторых аспектах данного изобретения, например, когда желательно местное введение (например, в глаз или в сустав), можно использовать клеточную культуру или моделирование на животных для определения дозы, необходимой для достижения терапевтически эффективной концентрации в локальном участке.

**[0339]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные способы можно осуществлять в сочетании с другими видами лечения онкологического заболевания. Например, композиция может быть введена субъекту одновременно, до или после облучения, хирургического вмешательства, нацеленной или цитотоксической химиотерапии, химиолучевой терапии, гормональной терапии, иммунотерапии, генной терапии, терапии трансплантацией клеток, прецизионной медицины, терапии с редактированием генома или другой фармакотерапии.

**[0340]** Как описано выше, композиции, описанные в данном документе (например, композиции антитела против ИЛ-27), могут применяться для лечения ряда онкологических заболеваний, включая следующие, но не ограничиваясь ими: саркома Капоши, лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоцитарный лейкоз, миелобластный, промиелоцитарный, миеломоноцитарный, моноцитарный эритролейкоз, хронический лейкоз, хронический миелоцитарный (гранулоцитарный) лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, мантийноклеточная лимфома, первичная лимфома центральной нервной системы, лимфома Беркитта и В-клеточная лимфома маргинальной зоны, истинная полицитемия, лимфома, болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома, множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей, солидные опухоли, саркомы и карциномы, фибросаркома, миксосаркома, липосаркома, хондросаркома, остеогенная саркома, остеосаркома, хордома, ангиосаркома, эндотелиосаркома, лимфангиосаркома, лимфангиоэндотелиосаркома, синовиома, мезотелиома, опухоль Юинга, лейомиосаркома, рабдомиосаркома, саркома толстой кишки, колоректальная карцинома, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичника, рак предстательной железы, плоскоклеточная карцинома, базальноклеточная карцинома, аденокарцинома, карцинома потовых желез, карцинома сальных желез, папиллярная карцинома, папиллярные аденокарциномы, цистаденокарцинома, медуллярная карцинома, бронхогенная карцинома, почечно-клеточная карцинома, гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК), гепатома, карцинома желчных протоков, хориокарцинома, семинома, эмбриональная карцинома, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, опухоль яичка, карцинома легкого, мелкоклеточная карцинома легкого, немелкоклеточная карцинома легкого, карцинома мочевого пузыря, эпителиальная карцинома, глиома, астроцитиома, медуллобластома, краниофарингиома, эпендимома, пинеалома, гемангиобластома, невринома слухового нерва, олигодендроглиома, менангиома, меланома, нейробластома, ретинобластома, карцинома носоглотки, карцинома пищевода, базальноклеточная карцинома, рак желчевыводящих путей, рак мочевого пузыря, рак костей, рак головного мозга и центральной нервной системы (ЦНС), рак шейки матки, хориокарцинома, колоректальный рак, рак соединительной ткани, рак пищеварительной системы, рак эндометрия, рак пищевода, рак глаза, рак органов головы и шеи, рак желудка, внутриэпителиальное новообразование, рак почки, рак гортани, рак печени, рак легкого (мелкоклеточный, крупноклеточный), меланома, нейробластома; рак полости рта (например, рак губы, языка, рта и глотки), рак яичника, рак поджелудочной железы, ретинобластома, рабдомиосаркома, рак прямой кишки; рак дыхательной системы, саркома, рак кожи, рак желудка, рак яичка, рак щитовидной железы, рак матки и рак мочевыделительной системы.

### **Комбинированная терапия**

**[0341]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающую часть, представленные в данном документе, можно комбинировать с одним или большим числом дополнительных терапевтических средств или способов лечения, например, с другим терапевтическим средством или способом лечения онкологического заболевания. Например, антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающую часть можно вводить субъекту (например, пациенту-человеку) в комбинации с одним или большим числом дополнительных терапевтических средств, при этом такая комбинация обеспечивает терапевтическую пользу для субъекта, который имеет или подвергается риску развития онкологического заболевания.

**[0342]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27, или его антигенсвязывающую часть, и одно или большее число дополнительных терапевтических средств вводят в одно и то же время (например, одновременно). В других аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27, или его антигенсвязывающую часть, вводят первыми по времени, а одно или большее число дополнительных терапевтических средств вводят вторыми по времени (например, последовательно). В некоторых аспектах данного изобретения одно или большее число дополнительных терапевтических средств вводят первыми по времени, а антитело против ИЛ-27 вводят вторым по времени.

**[0343]** Антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, могут заменить или дополнить ранее или одновременно проводимую терапию. Например, при лечении антителом против ИЛ-27 или его антигенсвязывающим фрагментом введение одного или большего числа дополнительных терапевтических средств может быть прекращено или уменьшено, например, их вводят в более низких дозах. В некоторых аспектах данного изобретения введение предшествующего терапевтического средства может сохраняться. В некоторых аспектах данного изобретения введение предшествующего терапевтического средства будет продолжаться до тех пор, пока уровень антитела против ИЛ-27 достигнет уровня, достаточного для обеспечения терапевтического эффекта.

**[0344]** В некоторых аспектах данного изобретения в данном изобретении представлен способ лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающей части, которые специфически связываются с ИЛ-27 и оказывают на ИЛ-27 антагонистическое действие, в соответствии с данным изобретением, в комбинации с одним или большим числом дополнительных терапевтических агентов или процедур, при этом указанные второй терапевтический агент или процедура выбраны из группы, состоящей из: химиотерапии, нацеленной противораковой терапии, онколитического препарата, цитотоксического агента, иммунной терапии, цитокина, хирургической процедуры, лучевой процедуры, активатора костимулирующей молекулы, ингибитора ингибиторной молекулы, вакцины или клеточной иммунотерапии, или их комбинации.

**[0345]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист PD-1, ингибитор TIM-3, ингибитор LAG-3, ингибитор TIGIT, ингибитор CD112R, ингибитор TAM, агонист STING, агонист 4-1BB или их комбинацию. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист CD39, антагонист CD73, антагонист CCR8 или их комбинацию. В некоторых аспектах данного изобретения антитело против CD73 представляет собой любое антитело против CD73, представленное, например, в патентной публикации США 2019/0031766 A1, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых аспектах данного

изобретения антитело против CD39 представляет собой любое антитело против CD39, представленное, например, в международной патентной публикации № WO 2019/178269 A2, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

**[0346]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист PD-1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 выбран из группы, состоящей из: PDR001, ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 и AMP-224. В определенных аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор PD-L1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из: FAZ053, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба и BMS-936559. В некоторых аспектах данного изобретения представлен способ усиления одной или большего числа функций антитела против PD-1 (например, усиление опосредованной PD-1 секреции цитокинов; усиление опосредованной антителом против PD-1 секреции ФНО- $\alpha$ ; усиление опосредованной антителом против PD-1 секреции ИЛ-6 из клетки, подвергшейся воздействию антител против PD-1), способ, включающий в себя воздействие на клетку антителом или его антигенсвязывающей частью, представленными в данном документе, одновременно с или последовательно с антителом против PD-1, тем самым обеспечивая усиление одной или большего числа функций указанного антитела против PD-1.

**[0347]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой сунитиниб (Sutent<sup>®</sup>), кабозантиниб (CABOMETYX<sup>®</sup>), акситиниб (INLYTA<sup>®</sup>), ленватиниб (LENVIMA<sup>®</sup>), эверолимус (AFINITOR<sup>®</sup>), бевацизумаб (AVASTIN<sup>®</sup>), эпикадостат, NKTR-214 (агонист смещенной активности к CD-122), тивозаниб (FOTIVDA<sup>®</sup>), абексिनостат, ипилимумаб (YERVOY<sup>®</sup>), тремелиумаб, пазопаниб (VOTRIENT<sup>®</sup>), сорафениб (NEXAVAR<sup>®</sup>), темсиролимус (TORISEL<sup>®</sup>), рамуцирумаб (CYRAMZA<sup>®</sup>), нирапариб, саволитиниб, вороланиб (X-82), регорафениб (STIVARGO<sup>®</sup>), донафениб (мультикиназный ингибитор), камрелизумаб (SHR-1210), пексастимоген девацирепвек (JX-594), рамуцирумаб (CYRAMZA<sup>®</sup>), апатиниб (YN968D1), инкапсулированный доксорубин (THERMODOX<sup>®</sup>), тивантиниб (ARQ197), ADI-PEG 20, биниметиниб, апатиниба мезилат, нинтеданиб, лирилумаб, ниволумаб (OPDIVO<sup>®</sup>), пембролизумаб (KEYTRUDA<sup>®</sup>), атезолизумаб (TECENTRIQ<sup>®</sup>), авелумаб (BAVENCIO<sup>®</sup>), дурвалумаб (IMFIMZI<sup>®</sup>), цемиплимаб-rwlc (LIBTAYO<sup>®</sup>), тислелизумаб и спартализумаб.

**[0348]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор TIM-3, необязательно при этом указанный ингибитор TIM-3 представляет собой MGB453 или TSR-022.

**[0349]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор LAG-3, необязательно при этом указанный ингибитор LAG-3 выбран из группы, состоящей из LAG525, BMS-986016 и TSR-033.

**[0350]** В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор TIGIT. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор CD112R. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор TAM (Axl, Mer, Tyro). В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют

собой агонист STING. В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой агонист 4-1BB.

[0351] В некоторых аспектах данного изобретения указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор тирозинкиназы, агент, нацеленный на аденозиновую ось (например, антагонист CD39, антагонист CD73, антагонист A2AR или антагонист A2BR, или двойной антагонист A2AR/A2BR), антагонист CCR8, антагонист CTLA4, ингибитор VEG-F, или их комбинацию.

#### **Комбинация с химиотерапевтическими агентами**

[0352] Химиотерапевтические агенты, пригодные для комбинации и (или) совместному введению с композициями согласно данному изобретению, включают в себя, например: таксол, цитохалазин В, грамицидин D, этидия бромид, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубин, даунорубин, дигидроксиантрацинон, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол, пурамицин и их аналоги или гомологи. Другие агенты включают в себя, например, антиметаболиты (например, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацилдекарбазин), алкилирующие агенты (например, мехлорэтамин, тиотепа, хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU), ломустин (CCNU), циклофосфамид, бусульфан, дибромоманнит, стрептозотин, митомицин С, цис-дихлордиамин платины (II) (ДДП, англ. «DDP»), прокарбазин, альтретамин, цисплатин, карбоплатин, оксалиплатин, надаплатин, сатраплатин или тетранитрат триплатина), антрациклин (например, даунорубин (ранее – дауномицин) и доксорубин), антибиотики (например, дактиномицин (ранее – актиномицин), блеомицин, митрамицин и антрамицин (АМЦ, англ. «AMC»)), антимитотические агенты (например, винкристин и винбластин) и темозоломид.

#### **Комбинация с антагонистами PD-1/PD-L1**

[0353] В некоторых аспектах данного изобретения антитела против ИЛ-27 или их антигенсвязывающие части, представленные в данном документе, комбинируют (например, вводят в комбинации) с одним или большим числом антагонистов PD-1, которые специфически связываются с PD-1 или PD-L1 человека и ингибируют биологическую активность PD-1/PD-L1 и (или) путь (пути) ниже по каскаду от них, и (или) клеточные процессы, опосредованные сигнальным (-и) путем (путями) PD-1/PD-L1 человека, или другие функции, опосредованные PD-1/PD-L1 человека.

[0354] Соответственно, в данном документе представлены антагонисты PD-1, которые прямо или аллостерически блокируют, проявляют антагонизм, подавляют, ингибируют или снижают биологическую активность PD-1/PD-L1, включая сигнальные пути и (или) клеточные процессы, опосредованные сигнальным (-и) путем (путями) PD-1/PD-L1, такие как связывание рецептора и (или) инициация клеточного ответа на PD-1/PD-L1. Также в данном документе представлены антагонисты PD-1, которые снижают количество или уровень PD-1 человека или PD-L1 человека, продуцируемых клеткой или субъектом.

[0355] В некоторых аспектах данного изобретения представлен антагонист PD-1, который связывает PD-1 человека и предотвращает, ингибирует или снижает связывание PD-L1 с PD-1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 связывается с мРНК, кодирующей PD-1 или PD-L1, и предотвращает трансляцию. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 связывается с мРНК, кодирующей PD-1 или PD-L1, и вызывает их деградацию и (или) метаболизм.

[0356] В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 ингибирует передачу сигналов PD-1 или функцию PD-1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1

блокирует связывание PD-1 с PD-L1, с PD-L2 или как с PD-L1, так и с PD-L2. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 блокирует связывание PD-1 с PD-L1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 блокирует связывание PD-1 с PD-L2. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 блокирует связывание PD-1 с PD-L1 и (или) с PD-L2. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 специфически связывает PD-1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 специфически связывает PD-L1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 специфически связывает PD-L2.

**[0357]** В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 ингибирует связывание PD-1 со свойственным ему лигандом. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 ингибирует связывание PD-1 с PD-L1, PD-1 с PD-L2 или PD-1 как с PD-L1, так и с PD-L2. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 не ингибирует связывание PD-1 со свойственным ему лигандом.

**[0358]** В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой выделенное антитело (mAb) или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PD-1 или с PD-L1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PD-1 человека. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PD-L1 человека. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с PD-L1 человека и ингибируют связывание PD-L1 с PD-1. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфически связываются с PD-1 человека и ингибируют связывание PD-L1 с PD-1.

**[0359]** Несколько антагонистов иммунных контрольных точек, которые ингибируют или нарушают взаимодействие между PD-1 и одним или обоими его лигандами, PD-L1 и PD-L2, находятся в стадии клинической разработки или в данное время доступны клиницистам для лечения онкологических заболеваний.

**[0360]** Примеры антител против PD-1 человека или их антигенсвязывающих фрагментов, которые могут содержать антагонист PD-1 в любой из композиций, способов и вариантов применения, представленных в данном документе, включают в себя следующие, но не ограничиваются ими: KEYTRUDA<sup>®</sup> (пембролизумаб, MK-3475, h409A11, см. патентные документы US8952136, US8354509, US8900587 и EP2170959, каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; Merck), OPDIVO<sup>®</sup> (ниволумаб, BMS-936558, MDX-1106, ONO-4538; см. патентные документы US7595048, US8728474, US9073994, US9067999, EP1537878, US8008449, US8779105 и EP2161336, каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; Bristol Myers Squibb), MEDI0680 (AMP-514), BGB-A317 и BGB-108 (BeiGene), 244C8 и 388D4 (см. патентный документ WO 2016106159, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; Enumeral Biomedical), PDR001 (Novartis) и REGN2810 (Regeneron). Соответственно, в некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой пембролизумаб. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой ниволумаб.

**[0361]** Примеры антител против PD-L1 человека или их антигенсвязывающих фрагментов, которые могут содержать антагонист PD-1 в любой из композиций, способов и вариантов применения, представленных в

данном документе, включают в себя следующие, но не ограничиваются ими: BAVENCIO<sup>®</sup> (авелумаб, MSB0010718C, см. патентный документ WO 2013/79174, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; Merck/Pfizer), IMFINZI<sup>®</sup> (дурвалумаб, MEDI4736), TECENTRIQ<sup>®</sup> (атезолизумаб, MPDL3280A, RG7446; см. патентный документ WO 2010/077634, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; Roche), MDX-1105 (BMS-936559, 12A4; см. патентные документы US7943743 и WO 2013/173223, каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте; Medarex/BMS), и FAZ053 (Novartis). Соответственно, в некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой авелумаб. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой дурвалумаб. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой атезолизумаб.

**[0362]** В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой иммуноадгезин, который специфически связывается с PD-1 человека или с PD-L1 человека, например, слитый белок, содержащий внеклеточную или PD-1-связывающую часть PD-L1 или PD-L2, слитую с константной областью, такой как область Fc молекулы иммуноглобулина. Примеры молекул иммуноадгезина, которые специфически связываются с PD-1, описаны в патентных документах WO 2010/027827 и WO 2011/06634, каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1 представляет собой AMP-224 (также известный как B7-DCIg), который представляет собой слитый белок PD-L2 – Fc, который специфически связывается с PD-1 человека.

**[0363]** Рядовому специалисту будет понятно, что любой антагонист PD-1, который связывается с PD-1 или с PD-L1 и нарушает сигнальный путь PD-1/PD-L1, подходит для композиций, способов и вариантов применения, представленных в данном документе.

**[0364]** В некоторых аспектах данного изобретения указанный антагонист PD-1/PD-L1 представляет собой малую молекулу, нуклеиновую кислоту, пептид, миметик пептида, белок, углевод, производное углевода или гликополимер. Иллюстративные малые молекулы – ингибиторы PD-1 описаны в работе Zhan et al., (2016) Drug Discov Today 21 (6):1027 - 1036.

### **Комбинации с ингибиторами TIM-3**

**[0365]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающая часть, представленные в данном документе, комбинируют (например, вводят в комбинации) с ингибитором TIM-3. Ингибитор TIM-3 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых аспектах данного изобретения ингибитор TIM-3 выбран из MGB453 (Novartis), TSR-022 (Tesarro) или LY3321367 (Eli Lilly). В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающую часть вводят в комбинации с MGB453. В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающую часть вводят в комбинации с TSR-022.

### **Комбинации с ингибиторами LAG-3**

**[0366]** В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающая часть, представленные в данном документе, комбинируют (например, вводят в комбинации) с ингибитором LAG-3. Ингибитор LAG-3 может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых аспектах данного изобретения ингибитор LAG-

3 выбран из LAG525 (Novartis), BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), TSR-033 (Tesar), MK-4280 (Merck & Co) или REGN3767 (Regeneron).

### **Другие комбинации**

[0367] В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающую часть, представленные в данном документе, комбинируют (например, вводят в комбинации) с ингибитором TIGIT, ингибитором киназы (например, ингибитором тирозинкиназы (ИТК, англ. «TKI»)), ингибитором CD112R, ингибитором рецептора TAM, агонистом STING и (или) агонистом 4-1BB, или с их комбинацией. В некоторых аспектах данного изобретения антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающую часть, представленные в данном документе, комбинируют (например, вводят в комбинации) с ингибитором тирозинкиназы, агентом, нацеленным на аденозиновую ось (например, антагонистом CD39, антагонистом CD73 или антагонистом A2AR, A2BR или двойным антагонистом A2AR/A2BR), антагонистом CCR8, антагонистом CTLA4, ингибитором VEG-F, или с их комбинацией.

### **Способы обнаружения**

[0368] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающий фрагмент, описанные в данном документе, можно применять в способах обнаружения и (или) количественного определения ИЛ-27 человека в биологическом образце. Соответственно, антитело против ИЛ-27 или его антигенсвязывающий фрагмент, как описано в данном документе, пригодны для диагностики, прогнозирования и (или) определения прогрессирования заболевания (например, онкологического заболевания) у пациента.

[0369] Наблюдение за субъектом (например, пациентом-человеком) на предмет улучшения онкологического заболевания, как определено в данном документе, означает оценку данного субъекта на предмет изменения параметра заболевания, например, снижения роста опухоли. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанную оценку проводят в течение по меньшей мере одного (1) часа, например, в течение по меньшей мере 2, 4, 6, 8, 12, 24 или 48 часов, или в течение по меньшей мере 1 суток, 2 суток, 4 суток, 10 суток, 13 суток, 20 суток или больше, или в течение по меньшей мере 1 недели, 2 недель, 4 недель, 10 недель, 13 недель, 20 недель или больше после введения. Указанную оценку субъекта можно проводить в один или большее число из следующих периодов: до начала лечения; во время лечения; или после введения одного или большего числа элементов лечения. Оценка может включать в себя оценку потребности в дальнейшем лечении, например, оценку необходимости изменения дозы, частоты введения или продолжительности лечения. Оценка также может включать оценку необходимости добавления или исключения выбранного терапевтического воздействия, например, добавления или исключения любого из способов лечения онкологического заболевания, описанных в данном документе.

[0370] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлен способ обнаружения ИЛ-27 в образце, взятом у субъекта, при этом указанный способ включает в себя: (а) приведение образца, взятого у субъекта, в контакт с детектирующим антителом в условиях, позволяющих указанному детектирующему антителу образовать комплекс детектирующее антитело – ИЛ-27, если ИЛ-27 присутствует в указанном образце, при этом указанное детектирующее антитело представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в данном документе; и (б) обнаружение присутствия указанного комплекса, если таковой имеется, полученного на этапе (а).

[0371] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения представлен способ обнаружения у субъекта онкологического заболевания, ассоциированного с ИЛ-27, при этом указанный способ включает в себя следующие этапы: (а) приведение образца, взятого у субъекта с подозрением на онкологическое заболевание, ассоциированное с ИЛ-27, в контакт с детектирующим антителом в условиях, позволяющих указанному детектирующему антителу образовать комплекс детектирующее антитело – ИЛ-27, если ИЛ-27 присутствует в указанном образце, при этом указанное детектирующее антитело представляет собой антитело или его антигенсвязывающую часть, представленные в данном документе; и (b) обнаружение присутствия указанного комплекса, если таковой имеется, полученного на этапе (а). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения детектирующее антитело конъюгировано с детектируемой меткой. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный способ дополнительно включает в себя приведение указанного образца в контакт с захватывающим антителом для получения комплекса, содержащего ИЛ-27 и захватывающее антитело, если ИЛ-27 присутствует в указанном образце, при этом указанное захватывающее антитело представляет собой антитело или его антигенсвязывающую часть, представленные в данном документе

[0372] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанное захватывающее антитело иммобилизовано на твердой подложке. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный образец приводят в контакт с указанным захватывающим антителом до приведения в контакт с указанным детектирующим антителом. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный образец представляет собой образец биологической жидкости организма. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения указанный образец биологической жидкости организма представляет собой кровь, сыворотку крови, плазму крови, лизаты клеток или лизаты тканей.

[0373] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения онкологическое заболевание выбрано из почечно-клеточной карциномы (ПЧК), гепатоцеллюлярной карциномы, рака легкого, гастроэзофагеального рака, рака яичника, рака эндометрия, меланомы, лейкоза и лимфомы. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения онкологическое заболевание представляет собой почечно-клеточную карциному (ПЧК). В других вариантах осуществления данного изобретения онкологическое заболевание представляет собой гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК). В некоторых вариантах осуществления данного изобретения онкологическое заболевание выбрано из лейкоза и лимфомы. В некоторых вариантах осуществления данного изобретения онкологическое заболевание представляет собой острый миелоидный лейкоз (ОМЛ).

## **ПРИМЕРЫ**

[0374] В то время как данное изобретение было описано со ссылками на его конкретные аспекты, специалистам в данной области техники следует понимать, что могут быть выполнены различные изменения и эквиваленты могут быть заменены без отхода от истинной сути и объема данного изобретения. В дополнение к этому, могут быть произведены многочисленные модификации для того, чтобы адаптировать конкретную ситуацию, материал, композицию, процесс, технологические стадии или стадию к задаче, сути и объему данного изобретения. Все такие модификации включены в объем данного изобретения.

**Пример 1. Получение антител против ИЛ-27 в дрожжах, которые специфически связывают субъединицы Р28 ИЛ-27 человека**

[0375] Антитела против ИЛ-27, представляющие несколько эпитопных групп, были отобраны из восьми библиотек наивных человеческих антител синтетических дрожжей с использованием способов, описанных ниже.

#### *Материалы и методы*

[0376] Восемь библиотек наивных человеческих антител в синтетических дрожжах, каждую численностью в  $\sim 10^9$ , размножали так, как описано ранее (см., например, работу Xu et al., (2013) *Protein Eng Des Sel* 26 (10): 663 - 670; патентные документы WO 2009036379; WO 2010105256; и WO 2012009568, каждая (каждый) из которых включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). Для первых двух раундов отбора применяли методику сортировки с магнитными микрогранулами с использованием системы Miltenyi MACS, как описано ранее (см., например, работу Siegel et al. (2004) *J Immunol Methods* 286 (1 - 2): 141 - 153, которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте).

[0377] Кратко, дрожжевые клетки ( $\sim 10^{10}$  клеток на библиотеку) инкубировали с 3 мл биотинилированного антигена (рекомбинантный ИЛ-27 человека; R & D Systems) концентрацией 100 нМ в течение 30 мин при температуре 30°C в промывочном буфере (фосфатно-солевом буфере) (ФСБ) / 0,1% бычий сывороточный альбумин (БСА)). После однократной промывки с помощью 40 мл ледяного промывочного буфера клеточный осадок ресуспендировали в 20 мл промывочного буфера, к дрожжам добавляли стрептавидиновые микрогранулы (500 мкл) и инкубировали в течение 15 мин при температуре 4°C. Затем клетки дрожжей осаждали, ресуспендировали в 20 мл промывочного буфера и загружали в колонку Miltenyi LS. После загрузки 20 мл колонку промывали 3 раза по 3 мл промывочного буфера. Затем колонку удаляли из магнитного поля, клетки дрожжей элюировали с помощью 5 мл питательной среды и выращивали в течение ночи. Следующие раунды отбора проводили с помощью метода проточной цитометрии. Около  $2 \times 10^7$  клеток дрожжей осаждали, трижды промывали промывочным буфером и инкубировали при температуре 30°C либо с уменьшающимися концентрациями биотинилированного антигена (от 100 до 1 нМ) в равновесных условиях, либо с 30 нМ биотинилированных антигенов разных видов для получения видовой перекрестной реактивности, либо с реагентом снижения полиспецифичности (PCP, англ. «PSR») для удаления неспецифических антител из отбора. Для PCP-истощения указанные библиотеки инкубировали с разведением 1 : 10 биотинилированного реагента PCP.

[0378] Затем клетки дрожжей дважды промывали промывочным буфером и окрашивали с помощью LC-FITC (в разведении 1 : 100) и с помощью вторичных реагентов – либо SA-633 (в разведении 1 : 500), либо EAPE (в разведении 1 : 50) в течение 15 мин при температуре 4°C. После двукратной промывки промывочным буфером осадки клеток ресуспендировали в 0,3 мл промывочного буфера и переносили в сортировочные пробирки с фильтром. Сортировку проводили с использованием сортера FACS ARIA (BD Biosciences) с гейтированием для отбора антител с желаемыми характеристиками. Раунды отбора повторяли до тех пор, пока была получена популяция со всеми желаемыми характеристиками. После последнего раунда сортировки клетки дрожжей высевали и отбирали отдельные колонии для их характеристики.

#### *Дифференциация легких цепей*

[0379] Протокол дифференциации легких цепей применяли на этапе первичного обнаружения для дальнейшего выявления и улучшения антител.

[0380] Протокол пакетной дифференциации легких цепей: плазмиды тяжелых цепей из исходного продукта наивной селекции экстрагировали из дрожжей методом «smash and grab», размножали и затем очищали от *E.*

*coli* и трансформировали в библиотеку легких цепей с разнообразием  $5 \times 10^6$ . Отбор проводили с помощью одного раунда MACS и четырех раундов FACS с использованием тех же условий, что и при наивном обнаружении.

#### *Оптимизация антител*

**[0381]** Оптимизацию антител проводили путем внесения разнообразия в переменные области тяжелой цепи и легкой цепи, как описано ниже.

**[0382]** Отбор CDRH1 и CDRH2: CDRH3 одного антитела рекомбинировали в предварительно созданную библиотеку с вариантами CDRH1 и CDRH2 с разнообразием  $1 \times 10^8$  и проводили отбор с помощью одного цикла MACS и четырех раундов FACS, как описано для наивного обнаружения. В различных раундах FACS библиотеки проверяли на связывание с РСП, видовую перекрестную реактивность и давление аффинности путем титрования или предварительного комплексообразования родительских Fab, и выполняли сортировку для получения популяции с желаемыми характеристиками.

#### *Получение и очистка антител*

**[0383]** Клоны дрожжей размножали до насыщения и затем индуцировали в течение 48 ч при температуре 30°C при встряхивании. После индукции клетки дрожжей осаждали, а надосадочные жидкости собирали для очистки. IgG очищали с использованием колонки с белком А и элюировали уксусной кислотой, pH = 2,0. Фрагменты Fab получали путем расщепления папаином и очищали пропусканием через KappaSelect (GE Healthcare LifeSciences).

#### *Измерения $K_D$ по технологии ForteBio*

**[0384]** Измерения аффинности по технологии ForteBio выполняли на анализаторе Octet RED384, в общем так, как было описано ранее (см., например, работу Estep et al, High throughput solution-based measurement of antibody-antigen affinity and epitope binning. *Mabs* 5 (2), 270 - 278 (2013), которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). Кратко, измерения аффинности по технологии ForteBio выполняли путем загрузки IgG в режиме реального времени на сенсоры АНQ. Датчики уравнивали в автономном режиме в буфере для анализа в течение 30 минут, а затем контролировали в режиме реального времени в течение 60 секунд для установления базового уровня. Сенсоры с загруженными IgG подвергали воздействию антигена в концентрации 100 нМ в течение 3 минут, а затем переносили в буфер для анализа на 3 минуты для измерения скорости диссоциации. Всю кинетику анализировали с использованием модели связывания 1 : 1. В качестве антигена использовали рекомбинантный белок ИЛ-27 человека (R & D Systems, № по каталогу: 2526-IL). Результаты измерения аффинности антител против ИЛ-27 представлены на **фиг. 1**.

#### *Эпитоп-специфическая сортировка / блокирование лигандов по технологии ForteBio*

**[0385]** Эпитоп-специфическую сортировку / блокирование лигандов выполняли с помощью анализа перекрестной блокировки стандартного формата «сэндвич». Контрольный IgG против мишени наносили на сенсоры АНQ, а незанятые сайты связывания Fc на сенсоре блокировали не представляющим интерес антителом IgG1 человека. Далее сенсоры подвергали воздействию целевого антигена в концентрации 100 нМ, а затем второго – воздействию антитела или лиганда против мишени. Дополнительное связывание вторым антителом или лигандом после ассоциации с антигеном указывает на незанятый эпитоп (неконкурирующий),

в то время как отсутствие связывания указывает на блокирование эпитопа (блокирование конкурентом или лигандом).

#### *Кинетический анализ по технологии MSD-PTP*

**[0386]** Измерения равновесной аффинности проводили так, как было описано ранее (Estep *et al.*, 2013). Равновесное титрование в растворе (РТР, англ. «SET») проводили в ФСБ + 0,1% БСА без иммуноглобулина IgG (БСАБИ, англ. «PBSF») с постоянной концентрацией антигена в 10 - 100 пМ и инкубировали с 3-5-кратными серийными разведениями антител, начиная с 5 - 100 нМ (экспериментальные условия зависели от образца). Антителами (20 нМ в ФСБ) покрывали лунки стандартных планшетов MSD-ECL для связывания в течение ночи при температуре 4°C или при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем планшеты блокировали в течение 30 мин при встряхивании при 700 об/мин с последующими тремя промывками промывочным буфером (БСАБИ) + 0,05% Твин 20). Образцы для РТР наносили на планшеты и инкубировали в течение 150 с при встряхивании при 700 об/мин с последующей однократной промывкой. Антиген, захваченный на планшете, выявляли с помощью 250 нг/мл меченого сульфметкой стрептавидина в БСАБИ путем инкубации на планшете в течение 3 мин. Планшеты трижды промывали промывочным буфером, а затем считывали на анализаторе MSD Sector Imager 2400 с использованием буфера Read Buffer Т однократной концентрации с поверхностно-активным веществом. Процент свободного антигена наносили на график как функцию оттитрованного антитела в программе Prism и встраивали в квадратичную модель для получения  $K_D$ . Для повышения пропускной способности во всех экспериментах по технологии MSD-PTP, включая подготовку проб для РТР, использовались роботы для работы с жидкостями.

#### **Пример 2. Связывание антител против ИЛ-27 с рекомбинантным ИЛ-27 человека**

**[0387]** Способность антител против ИЛ-27, описанных в примере 1, связываться с рекомбинантным ИЛ-27 человека оценивали с помощью ТИФА. Кратко, планшеты Nunc MaxiSorp ELISA (Affymetrix, № по каталогу: 44-2404-21) покрывали рекомбинантным ИЛ-27 человека (R & D Systems, № по каталогу: 2526-IL/CF) в концентрации 100 мкл/лунку (0,5 мкг/мл разводили в ФСБ), запечатывали и инкубировали в течение ночи при температуре 4°C. Планшеты промывали 3 раза промывочным буфером (ФСБ + 0,01% Твин), по 100 мкл/лунку. Затем планшеты блокировали с помощью блокирующего буфера (ФСБ + 0,1% БСА + 0,01% Твин), по 200 мкл/лунку, в течение 1 часа при комнатной температуре (КТ) при встряхивании. Блокирующий буфер декантировали и добавляли по 100 мкл на лунку разбавленного контроля и антител против ИЛ-27, как указано. Для каждого антитела выполняли 10-точечное серийное разведение путем разбавления антител 1 : 10, начиная с максимальной концентрации в 1 мкг/мл. Планшеты инкубировали в течение 1-2 часов при КТ при встряхивании. Планшеты промывали 3 раза промывочным буфером, по 100 мкл/лунку. Добавляли по 100 мкл/лунку вторичного антитела против IgG человека (SouthernBiotech; № по каталогу: 2014-05) (1 : 5000 разводили в блокирующей буфере). Затем планшеты инкубировали в течение 1 часа при КТ. После 1-часовой инкубации планшеты промывали 3 раза промывочным буфером, по 100 мкл/лунку. Для проявления планшетов добавляли раствор тетраметилбензидина (ТМБ, англ. «ТМВ»; Life Technologies, № по каталогу: 00-2023) в буфере, по 100 мкл/лунку. Наблюдали развитие синей окраски в лунках стандартной кривой и, как только наибольшая концентрация разведенных контрольных антител достигала темно-синего цвета (5-10 минут), добавляли стоп-раствор (Thermo Fisher, № по каталогу: SS04), по 50 мкл/лунку (окраска менялась на желтую). Проявленные планшеты считывали при 450 нм (минус значение, считанное при 570 нм, для коррекции длины волны) в течение 30 минут после остановки реакции.

[0388] Например, исследования биохимической аффинности и специфичности показали, что антитело Ab1 против ИЛ-27 связывается с субъединицей p28 (но не с субъединицей EB13) гетеродимерного цитокина ИЛ-27. Антитело Ab1 против ИЛ-27 связывалось с рекомбинантным ИЛ-27 человека, нечеловекообразных приматов и грызунов, и степень связывания различалась между видами. Специфичность связывания антитела Ab1 против ИЛ-27 подтвердили тестированием против панели из ~4500 молекул клеточной поверхности и растворимых молекул, а нецелевое связывание не наблюдалось. Также подтвердили специфичность связывания ИЛ-27 с его рецептором ИЛ-27РА (WSX-1); никакой другой рецептор клеточной поверхности не связывался с ИЛ-27 человека. Способность антитела Ab1 против ИЛ-27 блокировать взаимодействие между ИЛ-27 человека и ИЛ-27РА (WSX-1) подтвердили с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

[0389] Связывание описанных в данном документе антител оценивали в нескольких модельных системах. Поскольку ИЛ-27 человека биологически активен при применении на клетках мыши, применяли системную сверхэкспрессию ИЛ-27 человека у мышей с использованием миникольца ДНК для анализа эффектов, опосредованных ИЛ-27 *in vivo*, с помощью полногеномного мультиплексного анализа, проточной цитометрии и анализа сывороточных цитокинов. Результаты исследования многих из маркеров, которые модулировал ИЛ-27 *in vivo*, согласовываются с результатами анализов на клетках человека. Антитело Ab3 против ИЛ-27 также оценивали на модели диссеминированной опухоли В16. В данных условиях воздействие антителом Ab3 против ИЛ-27 показало результаты, соответствующие фенотипам, наблюдаемым у мышей с дефицитом различных компонентов лиганда ИЛ-27 (ИЛ-27p28, EB13) или рецептора (ИЛ-27РА).

[0390] В совокупности данные исследования демонстрируют, что антитело Ab1 против ИЛ-27 (и родственное ему антитело Ab3 против ИЛ-27) могут фенотипировать дефицит ИЛ 27 у мышей, связываться с ИЛ-27 специфически и с высокой аффинностью, и могут ингибировать его иммуносупрессивные эффекты, как в отдельности, так и в комбинации с блокаторами PD-L1.

### **Пример 3. Антитела против ИЛ27 ингибируют фосфорилирование STAT1 *in vitro***

[0391] Передача сигналов ИЛ-27 через рецептор ИЛ-27 (ИЛ-27Р) приводит к фосфорилированию полипептида STAT1 – трансдуктора сигналов и активатора транскрипции 1 (pSTAT1). Антитела против ИЛ-27, описанные в примере 1, исследовали на предмет их способности ингибировать опосредованное ИЛ-27 фосфорилирование STAT1 в цельной крови человека, в МКПК человека, в миелоидных клетках U937 (клеточная линия гистиоцитарной лимфомы) и в клетках Т-клеточной лимфомы HUT-78 с помощью проточной цитометрии.

[0392] Антитела против ИЛ-27 исследовали на предмет их способности ингибировать опосредованное ИЛ-27 фосфорилирование STAT1 в цельной крови человека. Кратко, в данном анализе использовали цельную кровь человека с антикоагулянтом ЭДТА, хранившуюся при комнатной температуре. По 45 мкл крови распределяли в каждую лунку планшета с глубокими круглодонными лунками (Phenix, № по каталогу: 850356) и нагревали в течение 30 минут при температуре 37°C на нагревателе для планшетов (EchoTherm IC20) или в инкубаторе при температуре 37°C. Антитела против ИЛ-27 разводили до 10-кратной максимальной концентрации в ФСБ, не содержащем эндотоксина (Teknova, № по каталогу: P0300) в полипропиленовом планшете с лунками с V-образным дном (Corning, № по каталогу: 3363). Антитела против ИЛ-27 серийно разбавляли до желаемой концентрации ФСБ, не содержащем эндотоксина. В лунки для нестимулированного и стимулированного контролей добавляли только ФСБ. По 5 мкл каждого разведения добавляли в лунку с 45 мкл крови и перемешивали встряхиванием на планшетном шейкере в течение 15

секунд при 1000 об/мин (Eppendorf Mix Mate). Планшет инкубировали в течение 60 минут при температуре 37°C на нагревателе для планшетов или в инкубаторе при температуре 37°C.

**[0393]** Флакон 10 мкг рекомбинантного ИЛ-27 человека (R & D Systems, № по каталогу: 2526-IL) восстанавливали до 100 мкг/мл путем добавления 100 мкл ФСБ + 0,1% БСА (изготовлено из 10% БСА, Sigma, № по каталогу: A1595). Рабочий раствор рекомбинантного чИЛ-27 (рчИЛ-27) готовили путем разведения до 200 нг/мл в ФСБ, не содержащем эндотоксина. После 60-минутной инкубации в каждую лунку со стимулированной кровью добавляли по 5 мкл рчИЛ-27 в концентрации 200 нг/мл В нестимулированные контрольные лунки добавляли по 5 мкл ФСБ. Планшет встряхивали на шейкере в течение 15 секунд при 1000 об/мин. Планшет инкубировали в течение 30 минут при температуре 37°C.

**[0394]** После 30-минутной инкубации клетки фиксировали. Реактив Lyse/Fix (BD, № по каталогу: 558049) разбавляли 1 : 5 в стерильной воде (Nuclease, № по каталогу: SH3052902) и нагревали до температуры 37°C на водяной бане. По 500 мкл реактива Lyse/Fix добавляли в каждую лунку планшета с глубокими лунками и планшет встряхивали на шейкере для планшетов в течение 15 секунд при 1000 об/мин. Планшет инкубировали в течение 15 мин при температуре 37°C.

**[0395]** После 15-минутной инкубации планшет центрифугировали в течение 5 минут при 1500 об/мин при комнатной температуре (центрифуга Eppendorf 5810R) и удаляли надосадочную жидкость путем вытряхивания. В каждую лунку добавляли по 1 мл ФСБ, не содержащего эндотоксин, и планшет встряхивали на шейкере для планшетов в течение 15 секунд при 1000 об/мин. Планшет центрифугировали в течение 5 минут при 1500 об/мин при комнатной температуре (центрифуга Eppendorf 5810R) и удаляли надосадочную жидкость путем вытряхивания. Осадки клеток оставались в планшете.

**[0396]** Осадки клеток ресуспендировали в 50 мкл 1 : 200 реактива CD14-Pacific Blue (Biolegend, № по каталогу: 325616) в буфере для FACS (ФСБ, Gibco, № по каталогу: 14190-144 / 2% ФБС, Sigma, № по каталогу: F8317 / 1 mM ЭДТА, Fisher, № по каталогу: BP2482) и переносили в 96-луночный планшет с U-образным дном (Costar, № по каталогу: 3799). Планшет запечатывали с помощью пленки для планшетов (VWR, № по каталогу: 89134-432) и инкубировали 30 минут при комнатной температуре в темноте.

**[0397]** После 30-минутной инкубации в каждую лунку добавляли по 150 мкл буфера для FACS и планшет центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 минут при комнатной температуре. Затем осадки клеток ресуспендировали в 100 мкл реактива Perm III (хранили при -20°C) (BD, № по каталогу: 558050) пипетированием, и планшет запечатывали с помощью пленки для планшетов и крышки. Планшет инкубировали в течение ночи при температуре -20°C или 15 минут при температуре 4°C.

**[0398]** После инкубации добавляли по 150 мкл ФСБ и планшет центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 минут при комнатной температуре. Надосадочную жидкость удаляли из планшета путем вытряхивания и содержимое планшета ресуспендировали в 50 мкл смеси для окрашивания, приготовленной так, как описано в таблице 6 ниже:

**Таблица 6**

№ по каталогу BD	Антитело	Цвет	Разведение
561807	CD3	FITC	1:10
562069	Y701 pSTAT1	PE	1:100
562071	Y705 pSTAT3	APC	1:20

**[0399]** Планшет инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре в темноте. После инкубации в течение 1 часа добавляли 100 мкл буфера для FACS и планшет центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 минут при комнатной температуре. Надосадочную жидкость удаляли из планшета путем вытряхивания и содержимое планшета ресуспендировали в 100 мкл буфера для FACS для анализа с помощью проточной цитометрии.

**[0400]** Антитела против ИЛ-27, описанные в примере 1, исследовали на предмет их способности ингибировать опосредованное ИЛ-27 фосфорилирование STAT1 в объединенных образцах МКПК человека с помощью проточной цитометрии. Кратко, замороженные криопробирки с МКПК (мононуклеарные клетки периферической крови) человека, полученными из лейкоцитарных пленок, извлекали из хранилища с жидким азотом и быстро оттаивали на водяной бане при температуре 37°C. Содержимое каждой криопробирки удаляли пипеткой P1000 и переносили в коническую пробирку Falcon объемом 15 мл. 2-3 мл полной среды RPMI-1640 (Gibco, № по каталогу: 61870-036) медленно добавляли к размороженным клеткам и ресуспендировали их осторожным взбалтыванием или встряхиванием. Конические пробирки заполняли до 10 мл полной средой RPMI-1640 и переворачивали пробирки для перемешивания их содержимого. Конические пробирки центрифугировали при 1400 об/мин при комнатной температуре в течение 8 минут.

**[0401]** Клетки МКПК ресуспендировали при плотности 4 миллиона клеток на мл в теплой бессывороточной среде RPMI-1640 и высевали при плотности 200000 клеток на лунку (в 50 мкл) в 96-луночный планшет с круглодонными лунками (Costar, № по каталогу: 3799). Антитела против ИЛ-27 разводили в бессывороточной среде RPMI-1640 в первом ряду 96-луночного полипропиленового планшета до максимальной концентрации 40 мкг/мл (конечная концентрация будет составлять 10 мкг/мл). Выполняли серийные разведения до требуемых концентраций (1 : 2, 1 : 3, и т. д.) в оставшихся лунках первых 10 рядов планшета. По пятьдесят микролитров (мкл) исходного раствора антител (4x) добавляли в лунки первых 10 рядов планшета с клетками МКПК в планшете с круглодонными лунками. В ряды 11 и 12 добавляли по 50 мкл бессывороточной культуральной среды RPMI-1640. Затем планшет инкубировали при температуре 37°C в течение 2 часов.

**[0402]** После 2-часовой инкубации по 100 мкл рекомбинантного ИЛ-27 человека (R & D Systems, № по каталогу: 2526-IL), разбавленного до концентрации 50 нг/мл в бессывороточной культуральной среде RPMI-1640, добавляли в каждую лунку (за исключением контрольных лунок, которые содержали только бессывороточную среду или только антитело) до конечной концентрации 25 нг/мл. По 100 мкл бессывороточной культуральной среды RPMI-1640 добавляли в контрольные лунки или лунки с одним антителом. Планшет инкубировали в течение 20 минут при температуре 37°C.

**[0403]** После 20-минутной инкубации непосредственно в каждую лунку добавляли по 50 мкл 4% параформальдегида (ПФА, англ. «PFA»; Pierce, № по каталогу: 28906) в деионизированной воде и планшет инкубировали при температуре 37°C в течение 5 минут для фиксации клеток. Планшет центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 минут. Среду удаляли путем вытряхивания и планшет промывали с помощью 150 мкл фосфатно-солевого буфера Дульбекко (ФСБД, англ. «DPBS»). Этапы промывки повторяли еще 2 раза. В каждую лунку с помощью 12-канальной пипетки быстро добавляли по 50 мкл ледяного 90% метанола (MeOH) (Sigma, № по каталогу: 439193), разведенного в H<sub>2</sub>O. При добавлении MeOH особое внимание уделялось перемешиванию содержимого в каждой лунке. Планшет инкубировали при температуре 20°C в течение по меньшей мере 15 минут. По 100 мкл ФСБД добавляли в каждую лунку поверх 90% метанола и планшет центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 минут. Содержимое планшета удаляли путем вытряхивания

и планшет промывали 3 раза, как описано ранее. После последней промывки в лунках планшета оставались осадки клеток.

**[0404]** Осажденные МКПК окрашивали реактивом pSTAT1 PE (BD Phosflow, № по каталогу: 526069) 1 : 100 в буфере для FACS (2% ФСБ, 2 мМ ЭДТА в ФСБД) в течение 45 минут при комнатной температуре в темноте. При добавлении красителя особое внимание уделялось перемешиванию содержимого в каждой лунке с помощью 12-канальной пипеткой. После 45-минутной инкубации в каждую лунку добавляли по 100 мкл буфера для FACS и планшет центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 минут. Надосадочную жидкость удаляли путем встряхивания и планшет промывали 2 раза, как описано ранее. Клетки ресуспендировали в 100 мкл буфера для FACS и анализировали с помощью проточной цитометрии.

**[0405]** Как показано на **фиг. 2А**, антитела против ИЛ-27 ингибировали фосфорилирование STAT1 в объединенных образцах МКПК человека. Антитело Ab3 против ИЛ-27 ингибировало фосфорилирования STAT1 со средним показателем  $IC_{50}$ , составляющим 140,5 нг/мл ( $n = 2$ ), в объединенных образцах МКПК человека. Антитело Ab1 против ИЛ-27 ингибировало фосфорилирования STAT1 со средним показателем  $IC_{50}$ , составляющим 58,3 нг/мл ( $n = 3$ ), в объединенных образцах МКПК человека.

**[0406]** Антитела против ИЛ-27 дополнительно исследовали на предмет их способности ингибировать опосредованное ИЛ-27 фосфорилирование STAT1 в клетках U937 – клеточной линии, которая, как известно, экспрессирует рецепторы Fc, – с помощью проточной цитометрии, по существу так, как описано для **фиг. 2А**. Как показано на **фиг. 2В**, антитела против ИЛ-27 ингибируют фосфорилирование STAT1 в клетках U-937, как указано. Антитело Ab3 против ИЛ-27 ингибировало фосфорилирования STAT1 со средним показателем  $IC_{50}$ , составляющим 81 нг/мл ( $n = 2$ ), в клетках U937. Антитело Ab1 против ИЛ-27 ингибировало фосфорилирования STAT1 со средним показателем  $IC_{50}$ , составляющим 96 нг/мл ( $n = 2$ ), в клетках U937.

**[0407]** Антитела против ИЛ-27 дополнительно исследовали на предмет их способности ингибировать опосредованное ИЛ-27 фосфорилирование STAT1 в линии клеток кожной Т-клеточной лимфомы HUT-78, которая не экспрессирует рецепторы Fc клеточной поверхности, с помощью проточной цитометрии, по существу так, как описано для **фиг. 2А**. Как показано на **фиг. 2С**, антитела против ИЛ-27 ингибируют фосфорилирование STAT1 в клетках HUT-78. Антитело Ab3 против ИЛ-27 ингибировало фосфорилирования STAT1 с показателем  $IC_{50}$ , составляющим 80 нг/мл ( $n = 1$ ), в клетках HUT-78. Антитело Ab1 против ИЛ-27 ингибировало фосфорилирования STAT1 с показателем  $IC_{50}$ , составляющим 95 нг/мл ( $n = 1$ ), в клетках HUT-78.

**[0408]** В данном изобретении также оценивали ингибирование ИЛ-27 антителом Ab1 против ИЛ-27 у разных видов в анализе цельной крови. Чтобы охарактеризовать активность антитела Ab1 против ИЛ-27 у разных видов, рекомбинантный ИЛ-27 человека, яванской макаки, крысы и мыши исследовали на предмет стимуляции ими передачи сигнала pSTAT1 в Т-лимфоцитах из образцов цельной крови, полученных от указанных видов (данные не показаны).

**[0409]** Кратко, цельную кровь нагревали до температуры 37°C с последующей 60-минутной предварительной инкубацией с антителом Ab1 против ИЛ-27 и добавляли ИЛ-27 человека в концентрации 20 нг/мл. Образцы инкубировали еще 30 минут. Лейкоциты фиксировали, а эритроциты лизировали. После промывки фиксированные клетки пермеабелизировали и окрашивали антителом против CD3 и антителом против фосфо-STAT1 (Y701). После 1-часовой инкубации образцы промывали и ресуспендировали для проточной цитометрии. Процентное ингибирование рассчитывали с использованием стимулированных и нестимулированных контрольных лунок, а значения  $IC_{50}$  рассчитывали с помощью GraphPad Prism.

[0410] Репрезентативные данные по ингибированию передачи сигнала, вызванному антителом Ab1 против ИЛ-27, в Т-клетках человека показаны на **фиг. 3**. В соответствии с наблюдениями, сделанными в отношении аффинности антитела Ab1 против ИЛ-27 у разных видов, активность ингибирования передачи сигнала ИЛ-27 с помощью антитела Ab1 против ИЛ-27 была наиболее высокой у человека, далее следует активность у яванской макаки, крысы и мыши (см., например, **таблицу 7**).

**Таблица 7. Значения IC<sub>50</sub> антитела Аг1 против ИЛ-27 в Т-клетках периферической крови разных видов**

Виды	Средняя IC <sub>50</sub> , нг/мл	Стандартное отклонение	Количество
Человек	78,4	35	7
Яванская макака	118,1	36,4	4
Крыса	273,2	133,5	8
Мышь	1721	Н/П	1 (пул из 10)

Сокращения: IC<sub>50</sub> = полумаксимальная ингибирующая концентрация, Н/П = неприменимо

#### **Пример 4. Снижение опосредованного ИЛ-27 ингибирования CD161 антителами против ИЛ-27**

[0411] CD161 – лектин С-типа – представляет собой маркер Т-клеток, экспрессия которого подавляется ИЛ-27. Антитела против ИЛ-27, описанные в примере 1, исследовали на предмет их способности обращать опосредованное ИЛ-27 ингибирование CD161 в объединенных образцах МКПК человека с помощью проточной цитометрии. Кратко, замороженные криопробирки с объединенными образцами МКПК (моноклеарные клетки периферической крови) человека, полученными из лейкоцитарных пленок, извлекали из хранилища с жидким азотом и быстро оттаивали на водяной бане при температуре 37°C. Содержимое каждой криопробирки удаляли пипеткой P1000 и переносили в коническую пробирку Falcon объемом 15 мл. 2-3 мл полной среды RPMI-1640 (Gibco, № по каталогу: 61870-036) медленно добавляли к размороженным клеткам и ресуспендировали их осторожным взбалтыванием или встряхиванием. Конические пробирки заполняли до 10 мл полной средой RPMI-1640 и переворачивали пробирки для перемешивания их содержимого. Конические пробирки центрифугировали при 1400 об/мин при комнатной температуре в течение 8 минут.

[0412] Использования внешних лунок избегали, чтобы свести к минимуму последствия испарения в течение 5-суточного исследования. Внешние лунки заполняли ФСБД, по 200 мкл на лунку (Gibco, № по каталогу: 14190-144). Клетки МКПК ресуспендировали при плотности 2 миллиона клеток на мл в теплой полной среде RPMI-1640. Очищенное антитело человека против CD3 (Biolegend, УСТН1, № по каталогу: 300402) добавляли в концентрации 0,5 мкг/мл (что в 2 раза выше, чем конечная концентрация). По 100 мкл на лунку указанной клеточной смеси (200000 клеток на лунку) высевали в 96-луночный планшет с круглодонными лунками (Costar, № по каталогу: 3799).

[0413] Антитела против ИЛ-27 разводили в полной среде RPMI-1640 в первом ряду 96-луночного полипропиленового планшета до максимальной концентрации 40 мкг/мл (конечная концентрация будет составлять 10 мкг/мл). Серийные разведения до требуемых концентраций (1 : 2, 1 : 3 и т. д.) выполняли в оставшихся лунках первых 10 рядов планшета. По 50 мкл исходного раствора антител (4x) добавляли в первые

10 рядов планшета – в лунки с клетками МКПК планшета с круглодонными лунками. В ряды 11 и 12 добавляли по 50 мкл полной среды RPMI-1640.

**[0414]** После добавления антител против ИЛ-27 в каждую лунку добавляли по 50 мкл рекомбинантного ИЛ-27 человека (R&D Systems, № по каталогу: 2526-IL), разведенного до концентрации 100 нг/мл в полной среде RPMI-1640 (за исключением контрольных лунок, которые содержали бессывороточную среду или только антитело), для получения конечной концентрации 25 нг/мл. В контрольные лунки добавляли по 50 мкл полной среды RPMI-1640. Планшет инкубировали на протяжении 5 суток при температуре 37°C в инкубаторе для клеточных культур, с минимальным вмешательством.

**[0415]** После 5-суточной инкубации планшет вынимали из инкубатора и встряхивали на шейкере для планшетов в течение 30 секунд при 600 об/мин. Планшет центрифугировали при 1800 об/мин в течение 5 минут. Среду удаляли и сохраняли для дополнительных анализов, а планшет промывали с помощью 150 мкл ФСБД (Gibco, № 14190-144). Промывку повторяли еще 2 раза. Клеточный осадок окрашивали с помощью 50 мкл на лунку смеси для окрашивания, как описано в **таблице 8** ниже:

**Таблица 8**

№ по каталогу (Biolegend)	Мишень антитела	Цвет	Разведение
300532	CD4	BV421	1:100
304204	CD45RO	FITC	1:100
339910	CD161	AF647	1:100
353410	CCR6	PE	1:100

**[0416]** Планшет встряхивали на шейкере в течение 30 секунд при 600 об/мин и инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре в темноте.

**[0417]** После 30-минутной инкубации планшет центрифугировали и удаляли надосадочную жидкость путем встряхивания. Планшет промывали 2 раза, как описано ранее. После последней промывки клеточный осадок фиксировали добавлением 50 мкл 4% ПФА (Pierce, № по каталогу: 28906) в деионизированной воде при комнатной температуре в течение 10 минут. В каждую лунку добавляли по 100 мкл буфера для FACS и центрифугировали планшет при 1800 об/мин в течение 5 минут. Клетки ресуспендировали в 100 мкл буфера для FACS и анализировали с помощью проточной цитометрии.

**[0418]** Как показано на **фиг. 4**, антитела против ИЛ-27, как указано, снижают опосредованное ИЛ-27 ингибирование CD161.

**Пример 5. Усиление опосредованной PD-1 секреции ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 и других цитокинов антителами против ИЛ-27, включая дополнительную характеристику антител против ИЛ-27 in vitro**

**[0419]** Антитела против ИЛ-27 исследовали на предмет их способности усиливать опосредованную PD-1 секрецию ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 в клетках МКПК человека, полученных от пациентов с онкологическими заболеваниями. Клетки МКПК человека, полученные от пациентов с онкологическими заболеваниями, культивировали по существу так, как описано в примере 4, с добавлением лунок, в которые добавляли также антитело против PD-1, как указано, в концентрации 1 мкг/мл. Надосадочные жидкости из данного исследования анализировали в отношении ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 с использованием набора для мультиплексного анализа цитокинов человека CBA Th1/Th2/Th17 Kit (BD, № по каталогу: 560484). Как показано на **фиг. 5А** и

**5B**, антитела против ИЛ-27 усиливают опосредованную PD-1 секрецию ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 в объединенных образцах клеток МКПК человека.

**[0420]** Описанные в данном документе результаты исследований также демонстрируют цитокин-индуцирующую активность антитела Ab1 против ИЛ-27 в виде монотерапии и в комбинации с антителом против PD-1 в МКПК человека. Известно, что ИЛ-27 отрицательно регулирует экспрессию ряда воспалительных цитокинов. Чтобы определить влияние блокады ИЛ-27 на продукцию цитокинов, МКПК человека, полученные от здоровых доноров, пациентов с ПКК и пациентов с раком яичника, активировали с помощью антитела против CD3 в присутствии или в отсутствие антитела Ab1 против ИЛ-27 в течение нескольких суток и исследовали уровни секретируемых ими цитокинов, включая ИЛ-17, ИФН- $\gamma$  (ИФН-гамма), ФНО- $\alpha$  (ФНО-альфа) и ИЛ-6. Кратко, МКПК, выделенные из свежей цельной крови 4 здоровых доноров, 5 пациентов с ПКК и 2 пациентов с раком яичника, активировали с помощью антитела против CD3 в концентрации 0,25 мкг/мл в отсутствие или в присутствии антитела Ab1 против ИЛ-27 (1 мкг/мл), антитела против PD-1 (пембролизумаб, 1 мкг/мл) или обоих антител. Через 5 суток надосадочные жидкости собирали и исследовали в них уровни ФНО- $\alpha$  (A) или ИФН- $\gamma$  (B) с помощью технологий MSD или CBA. Показанные данные представляют собой кратность изменения продукции цитокинов по сравнению со стимуляцией только антителом против CD3. Статистический анализ выполняли на основании парного t-критерия (\* $p < 0,005$ ).

**[0421]** В указанных анализах антитело против PD-1 использовали в качестве контроля, а также исследовали комбинацию блокады PD-1 и ИЛ-27, как показано на **фиг. 5C**. Обработка антителом Ab1 против ИЛ-27 привела к увеличению продукции ФНО- $\alpha$  в 6 из 11 исследованных образцов МКПК (определялось как увеличение в  $> 2$  раза), включая 2 из 4 здоровых доноров, 3 из 5 пациентов с ПКК и 1 из 2 пациентов с раком яичника. При исследовании у подгруппы доноров указанная активность зависела от дозы антитела Ab1 против ИЛ-27 (данные не показаны). Воздействие антителом против PD-1 (пембролизумаб) привело к повышению уровня ФНО- $\alpha$  у 2 из 11 исследованных доноров (1 из 5 с ПКК и 1 из 2 с раком яичника), в то время как комбинация антитела Ab1 против ИЛ-27 и антитела против PD-1 привела к повышению у 10 из 11 доноров. Повышение ФНО- $\alpha$ , наблюдаемое в условиях комбинированного лечения, оказалось аддитивным в 8 из 10 образцов клеток, ответивших на указанное воздействие. Аддитивный эффект продуцирования ИФН- $\gamma$  наблюдался в этих культурах после обработки антителом Ab1 против ИЛ-27 и антителом против PD-1 (10 из 11 доноров); тем не менее, ответы на воздействие одним только антителом против PD-1 наблюдались чаще (10 из 11 доноров) по сравнению с воздействием антителом Ab1 против ИЛ-27 (2 из 11 доноров). В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что антитела Ab1 против ИЛ-27 повышает уровни ФНО- $\alpha$  в активированных культурах МКПК от здоровых доноров и пациентов с онкологическими заболеваниями, а комбинация воздействия антителом Ab1 против ИЛ-27 и антителом против PD-1 приводит к более высоким уровням ФНО- $\alpha$  и ИФН- $\gamma$  по сравнению с любым из указанных воздействий отдельно.

**[0422]** Для дальнейшего изучения роли блокады ИЛ-27 и PD-1 использовали ту же систему активированного культивирования МКПК, чтобы определить, может ли ИЛ-27 непосредственно противодействовать эффекту повышенной продукции цитокинов, вызванной блокадой PD-1. Кратко, свежевыделенные МКПК из цельной крови человека активировали с помощью антитела против CD3 в концентрации 0,25 мкг/мл. На клетки воздействовали либо контрольным IgG1 (1 мкг/мл), антителом  $\alpha$ PD-1 (пембролизумаб, 1 мкг/мл) отдельно, рчИЛ-27 (25 нг/мл) плюс  $\alpha$ PD-1 или рчИЛ-27 плюс  $\alpha$ PD-1 с антителом Ab1 против ИЛ-27 (1 мкг/мл) при температуре 37°C в течение 5 суток. Надосадочные жидкости собирали для обнаружения цитокинов по технологии CBA. В качестве примера показаны результаты определения цитокинов (ИЛ-17A и ИФН- $\gamma$ ) в образцах от 4 здоровых доноров как кратность изменения по сравнению с контролем. Показаны среднее

значение и стандартное отклонение. Статистический анализ выполняли на основании парного t-критерия (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ ). Похожие результаты также наблюдались для МКПК от пациентов с ПКК. Блокада PD-1 повышала как ИЛ-17, так и ИФН- $\gamma$  в данных культурах, и ИЛ-27 мог полностью ингибировать указанную активность – ответ, который был обращен в присутствии антитела Ab1 против ИЛ-27, как показано на **фиг. 5D**. Указанные данные показывают, что ИЛ-27 может ослаблять эффекты на продукцию цитокинов, вызванные воздействием антителом против PD-1.

**[0423]** Таким образом, было показано, что ИЛ-27 ингибирует опосредованную антителом против PD-1 продукцию провоспалительных цитокинов в активированных МКПК человека – эффект, который блокировался антителом Ab1 против ИЛ-27. Более того, антитело Ab1 против ИЛ-27 в комбинации с блокадой PD-1 приводило к повышенной продукции цитокинов в активированных МКПК от здоровых доноров и пациентов с ПКК. Таким образом, блокада ИЛ-27 антителом Ab1 против ИЛ-27 усиливает активацию клеток иммунной системы путем изменения экспрессии иммунорегуляторных рецепторов и повышения продукции воспалительных цитокинов.

**[0424]** В дополнение к характеристике отдельных антител против ИЛ-27 в присутствии антитела против ИЛ-27 (в данном документе – антитела Ab1 против ИЛ-27), антитела  $\alpha$ PD-1 или комбинации антитела против ИЛ-27 и антитела  $\alpha$ PD-1, выполняли дальнейшую характеристику индукции/секреции цитокинов (**фиг. 5E-5H**, конкретно для ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-6 и ИЛ-17A).

#### **Пример 6. Ингибирование опосредованной ИЛ-27 экспрессии PD-L1 и TIM3 антителами против ИЛ-27**

**[0425]** Антитела против ИЛ-27, описанные в примере 1, исследовали на предмет их способности ингибировать опосредованную ИЛ-27 экспрессию PD-L1 и TIM-3 в объединенных образцах моноцитов человека с помощью проточной цитометрии.

**[0426]** Свежие моноциты выделяли из лейкоцитарной пленки человека с использованием смеси для обогащения моноцитов человека ROSETTESEP™ (Stemcell, № по каталогу: 15068).

**[0427]** Использования внешних лунок избегали, чтобы свести к минимуму последствия испарения в течение 5-суточного исследования. Внешние лунки заполняли ФСБД, по 200 мкл на лунку (Gibco, № по каталогу: 14190-144).

**[0428]** Моноциты ресуспендировали при плотности 2 миллиона клеток на мл в теплой полной среде RPMI-1640. По 100 мкл на лунку указанной клеточной смеси (200000 клеток на лунку) высевали в 96-луночный планшет с круглодонными лунками (Costar, № по каталогу: 3799).

**[0429]** Антитела против ИЛ-27 разводили в полной среде RPMI-1640 в первом ряду 96-луночного полипропиленового планшета до максимальной концентрации 40 мкг/мл (конечная концентрация составит 10 мкг/мл). Выполняли серийные разведения до требуемых концентраций (1 : 2, 1 : 3, и т. д.) в оставшихся лунках первых 10 рядов планшета. По 50 мкл исходного раствора антител (4х) добавляли в лунки первых 10 рядов планшета с клетками МКПК в планшете с круглодонными лунками. В ряды 11 и 12 добавляли по 1250 мкл полной среды RPMI-1640.

**[0430]** После добавления антител против ИЛ-27 в каждую лунку добавляли по 50 мкл рекомбинантного ИЛ-27 человека (R&D Systems, № по каталогу: 2526-IL), разведенного до концентрации 80 нг/мл в полной среде RPMI-1640 (за исключением контрольных лунок, которые содержали бессывороточную среду или только антитело), для получения конечной концентрации 20 нг/мл. В контрольные лунки добавляли по 100 мкл бессывороточной среды RPMI-1640. Планшет инкубировали в течение 3 суток при температуре 37°C с минимальным вмешательством.

[0431] После 3-суточной инкубации планшет вынимали из инкубатора и встряхивали на шейкере для планшетов в течение 30 секунд при 600 об/мин. Планшет центрифугировали при 1800 об/мин в течение 5 минут. Среду удаляли путем встряхивания и планшет промывали с помощью 150 мкл ФСБД (Gibco, № по каталогу: 14190-144). Промывку повторяли дважды. Клеточный осадок окрашивали с помощью 50 мкл на лунку смеси для окрашивания, как описано в **таблице 9** ниже:

Таблица 9

№ по каталогу (Biolegend)	Мишень антитела	Цвет	Разведение
345006	TIM3	PE	1:100
301310	CD11b	APC	1:100
329714	PD-L1	BV421	1:100

[0432] Планшет встряхивали на шейкере в течение 30 секунд при 600 об/мин и инкубировали в течение 30 минут температуре 4°C в темноте.

[0433] После 30-минутной инкубации планшет центрифугировали и удаляли надосадочную жидкость путем встряхивания. Планшет промывали 2 раза, как описано ранее. После последней промывки клеточный осадок фиксировали добавлением 50 мкл 4% ПФА (Pierce, № по каталогу: 28906) в деионизированной (ДИ) воде при комнатной температуре в течение 10 минут. В каждую лунку добавляли по 100 мкл буфера для FACS и центрифугировали планшет при 1800 об/мин в течение 5 минут. Клетки ресуспендировали в 100 мкл буфера для FACS и анализировали с помощью проточной цитометрии.

[0434] Как показано на **фиг. 6А** и **6В**, антитела против ИЛ-27 активно ингибируют опосредованную ИЛ-27 экспрессию PD-L1 и TIM3 в объединенных образцах моноцитов человека.

[0435] Антитела против ИЛ-27 дополнительно исследовали на предмет их способности ингибировать опосредованную ИЛ-27 экспрессию PD-L1 в покоящихся Т-клетках (инактивированных), по существу так, как описано для **фиг. 6А** и **6В**. Покоящиеся выделяли из лейкоцитарной пленки человека с использованием смеси для обогащения Т-клеток человека ROSETTESEP™ (Stemcell, № по каталогу: 15061).

[0436] В конечной стадии анализа клеточные осадки окрашивали с помощью 50 мкл на лунку смеси для окрашивания, как описано в **таблице 10** ниже:

Таблица 10

№ по каталогу (Biolegend)	Мишень антитела	Цвет	Разведение
345006	TIM3	PE	1:100
555349	CD4	APC	1:100
329714	PD-L1	BV421	1:100
555366	CD8	FITC	1:100

[0437] Планшет встряхивали на шейкере для планшетов в течение 30 секунд при 600 об/мин и инкубировали в течение 30 минут температуре 4°C в темноте.

**[0438]** После 30-минутной инкубации планшет центрифугировали и удаляли надосадочную жидкость путем встряхивания. Планшет промывали 2 раза, как описано ранее. После последней промывки клеточный осадок фиксировали добавлением 50 мкл 4% ПФА (Pierce, № по каталогу: 28906) в ДИ-воде при комнатной температуре в течение 10 минут. В каждую лунку добавляли по 100 мкл буфера для FACS и центрифугировали планшет при 1800 об/мин в течение 5 минут. Клетки ресуспендировали в 100 мкл буфера для FACS и анализировали с помощью проточной цитометрии. Как показано на **фиг. 6С**, антитела против ИЛ-27 активно ингибируют опосредованную ИЛ-27 экспрессию PD-L1 в объединенных образцах покоящихся Т-клеток человека.

#### **Пример 7. Эффективность антитела против ИЛ-27 *in vivo* в модели диссеминированной меланомы B16F10**

**[0439]** Модель метастазирования меланомы в легкие использовали для оценки противоопухолевой активности блокады ИЛ-27 с использованием клинического кандидатного антитела Ab1 против ИЛ-27. Известно, что рост диссеминированных метастазов B16F10 в легкие значительно снижен у мышей с дефицитом EB13 и P27ra (Wsx-1) (Sauer et al., *J. Immunology* 181: 6148 - 6157). Поскольку размер узелков в легких и кинетика роста зависят от количества перенесенных клеток B16F10 и могут развиваться вариабельно и быстро, комбинация антитела против PD-1 и антитела против CTLA-4 изучалась в качестве референсной терапевтической активности. Предварительное воздействие антителом Ab1 против ИЛ-27 привело к значительному снижению общей массы опухоли.

**[0440]** Кратко, самкам мышей C57BL/6 (n = 10/группу) в возрасте от шести до восьми недель инокулировали внутривенно (в/в) либо  $2,5 \times 10^5$  клеток B16F10, либо  $1 \times 10^5$  клеток B16-Luc через хвостовую вену в 200 мкл фосфатно-солевого буфера (ФСБ). Животным вводили внутрибрюшинной инъекцией (в/бр) антитело Ab1 против ИЛ-27 (в дозе 1 мг) (Wuxi; лот № 2108SD170316K01X01I01) или поликлональный изотипический контроль IgG человека (в дозе 1 мг) (Bioxcell; № по каталогу: BE0092; лот № 658417D1). Антитела вводили один раз в неделю, начиная с 7-х суток до инъекции опухоли, всего вводили четыре дозы (сутки -7, 0, 7 и 14). Для визуального подсчета метастазов в легких мышей с опухолями B16F10 подвергали эвтаназии путем асфиксии в CO<sub>2</sub> через 18 суток после инъекции опухолевых клеток, а легкие перфузировали ФСБ посредством сердечной пункции, удаляли и фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине на протяжении 24 часов. Затем фиксированные легкие переносили в 70% этанол и визуально подсчитывали поверхностные метастазы в легких. Для иммуногистохимического анализа фиксированные формалином легкие (n = 5/группу) заливали в парафин, делали срезы и окрашивали их гематоксилином и эозином для количественного определения общей площади опухоли в процентах от общей площади ткани в каждом срезе. Для визуализации метастазов опухоли в легких *in vivo* животным с опухолью B16-Luc вводили в/в через хвостовую вену по 3 мг VivoGlo D-люциферина в 200 мкл ФСБ (Promega) два раза в неделю. Через пять минут после инъекции люциферина животных анестезировали и проводили биолюминесцентную визуализацию с использованием устройства для визуализации IVIS Lumina LT Series III. Изображения анализировали с помощью программного обеспечения Living Image (версия 4.5.5) и данные отображали в виде измерений общего потока в фотонах в секунду (фотоны/секунду).

**[0441]** Как показано на **фиг. 7А – 7G**, воздействие на мышей с опухолями B16F10 антителом против ИЛ-27 – антителом Ab1 против ИЛ-27 приводило к значительному снижению общей опухолевой массы, измеренному на основании как общего числа поверхностных метастазов в легких (число легочных узелков, **фиг. 7А**), так и уменьшения площади опухоли в срезах легочной ткани с помощью иммуногистохимического

(ИГХ) анализа (**фиг. 7С – 7F** и **фиг. 7G**). Блокада p28 с помощью антитела Ab1 против ИЛ-27 привела к снижению числа легочных узелков В16 на 42% по сравнению с воздействием изотипическим контролем. Воздействие антителом Ab1 против ИЛ-27 значительно ингибировало ( $p = 0,0079$ ) рост легочных метастазов В16F10 по сравнению с воздействием изотипическим контролем ( $21,6 \pm 8,4$  по сравнению  $37,6 \pm 10,9$  легочных узелков, соответственно). Воздействие антителом Ab1 против ИЛ-27 привело к уменьшению общей площади метастазов опухоли в легких на 83% по данным ИГХ ( $16,43 \pm 1,39\%$  в группе изотипического контроля по сравнению с  $2,83 \pm 1,45\%$  в группе воздействия антителом Ab1 против ИЛ-27). Подобным образом биолюминесцентная визуализация показала, что воздействие антителом Ab1 против ИЛ-27 значительно ( $p = 0,0062$ ) задерживает рост метастазов В16-Luc в легких (**фиг. 7B**). Сходное снижение числа поверхностных метастазов в легких и общей площади опухоли наблюдалось при блокаде, опосредованной антителами против ИЛ-27РА (WSX-1), и при применении комбинированной терапии антителом против PD-1 и антителом против CTLA-4, как показано в **фиг. 7G**. Указанные данные получены в 2 независимых экспериментах, в которых референсная комбинация антитела против PD-1 и антитела против CTLA-4 продемонстрировала противоопухолевую активность. Клетки В16F10 (по  $2,5 \times 10^5$ ) вводили внутривенно мышам С57BL/6 ( $n = 10/\text{группу}$ ). Мышам внутрибрюшинно вводили 1 мг либо антитела Ab1 против ИЛ-27, либо антитела против ИЛ-27РА (WSX-1), либо изотипического контрольного антитела IgG человека (сутки - 7, 0, 7, 14). Некоторым животным внутрибрюшинно вводили антитело против PD-1 и антитело против CTLA-4 (сутки 0, 4, 7 и 11). Легкие получали из животных ( $n = 5/\text{группу}$ ) с метастазами В16F10 в легких, на которых воздействовали так, как описано выше, делали срезы и окрашивали гематоксилином и эозином. Опухолевую ткань В16F10 отличали от нормальной легочной ткани на основании окрашивания гематоксилином и эозином срезов легких обработанных животных (**фиг. 7A**). Площадь опухоли рассчитывали как процент от общей площади легких (**фиг. 7G**). Статистический анализ выполняли на основании парного t-критерия. В совокупности эти данные указывают на то, что антитело Ab1 против ИЛ-27 может фенокопировать дефицит ИЛ-27РА (WSX-1) и EB13 в модели опухоли и проявляет активность, сходную с комбинированной блокадой PD-1 и CTLA-4.

**[0442]** Указанные данные демонстрируют, что воздействие антителом против ИЛ-27 (антителом Ab1 против ИЛ-27) приводит к противоопухолевым эффектам, уменьшая как рост опухоли, так и метастазирование в большей степени, чем лечение контрольным изотипическим антителом, которое не связывает ИЛ-27.

#### **Пример 8. Определение профилей экспрессии генов в спленоцитах, полученных от мышей, гидродинамически трансфицированных миникольцами ИЛ-27 человека**

**[0443]** Чтобы изучить влияние ИЛ-27 на фенотип Т-клеток *in vivo*, миникольца ДНК, кодирующие ИЛ-27, использовали для сверхэкспрессии ИЛ-27 у мышей, а ответы Т-клеток оценивали с помощью секвенирования РНК и проточной цитометрии. Известно, что ИЛ-27 человека представляет собой перекрестно-реактивный иммуноглобулин и может индуцировать передачу сигналов pSTAT1 и PD L1 в спленоцитах мыши *in vitro*. Данную видовую перекрестную реактивность использовали для изучения эффектов сверхэкспрессии ИЛ-27 человека на мышах и ее ингибирования антителом Ab1 против ИЛ-27. Для этого миникольца ДНК-плазмиды, кодирующие ИЛ-27 человека (p28, связанный с EB13 глицин-сериновым линкером), вводили мышам с помощью гидродинамической трансфекции, как описано ниже, что приводило к высоким системным уровням ИЛ-27.

*Гидродинамическая трансфекция миникольца ИЛ-27 человека*

**[0444]** Шестинедельным самкам мышей BALB/c вводили по 20 мкг либо пустого вектора, либо связанной миникольцевой ДНК ИЛ-27 человека (System Biosciences, г. Пало-Альто, штат Калифорния, США) в 2 мл 0,9% физиологического раствора через хвостовую вену в течение 5 секунд. После инъекции животных перемещали в пустую клетку с грелкой для восстановления в течение 5 минут. Цельную кровь собирали в пробирки с K2-EDTA для отделения плазмы через 24 часа после инъекции миникольца, и уровни ИЛ-27 в плазме подтверждали с помощью ТИФА. МКПК и общие спленоциты собирали через 5 суток после трансфекции, клетки окрашивали и анализировали с помощью проточной цитометрии. Экспрессию указанных маркеров анализировали на CD4+ Т-клетках и на CD8+ Т-клетках. Анализ проводили с помощью программного обеспечения FlowJo.

*Определение профилей экспрессии генов*

**[0445]** Спленоциты мышей получали путем механической диссоциации целых селезенок с последующим лизисом эритроцитов аммоний – хлоридно – натриевым буфером (AXN, англ. «ACK»). Общую РНК экстрагировали из спленоцитов с помощью набора реактивов RNEASY<sup>®</sup> Mini Kit (Qiagen, № по каталогу: 74104) и доводили до 20 нг/мкл в воде, не содержащей нуклеаз (Qiagen, № по каталогу: 19101). Определение профилей экспрессии генов проводили на чипах GENECHIP<sup>™</sup> Mouse Gene 2.0 ST Arrays (Applied Biosystems, № по каталогу: 902118). Обработку образцов РНК, гибридизацию и сканирование чипов проводили с использованием стандартных протоколов Affymetrix GENECHIP<sup>™</sup> в Ресурсе микрочипов и секвенирования Бостонского университета (BUMSR). Все файлы CEL нормализовали с помощью метода Robust Multi-array Average (RMA) (Irizarry et al., 2003), а данные об экспрессии генов предварительно обрабатывали путем удаления неэкспрессированных зондов и отбрасывания транскриптов с высоким межповторным коэффициентом дисперсии. Последующие анализы (средняя экспрессия, кратность изменения, t-критерий) выполняли в программе R (версия R 3.6.2).

*Проточный цитометрический анализ*

**[0446]** Цельную кровь и селезенку получали из мышей через пять суток после инъекции миникольца. Спленоциты получали из мышей, экспрессирующих ИЛ 27, через 5 суток после трансфекции. Суспензии одиночных спленоцитов готовили путем механической диссоциации через нейлоновый клеточный фильтр с размером ячеек 40 мкм с последующим лизисом эритроцитов в буфере AXN. Цельные клетки крови окрашивали напрямую с последующим лизисом и фиксацией эритроцитов в буфере BD Phosflow Lyse/Fix в соответствии с инструкциями производителя (BD Biosciences, г. Сан-Хосе, штат Калифорния, США). FcγRIII/II блокировали путем предварительной инкубации клеток с моноклональным антителом (mAb) крысы против CD16/CD32 мыши (1 мкг на миллион клеток; Biolegend, г. Сан-Диего, штат Калифорния, США) в ФСБ с 2% ФБС и 2 мМ ЭДТА. Клетки окрашивали с помощью APC-, PE-, Brilliant Violet 510- и Brilliant Violet 711-конъюгированных mAb против CD4 (клон GK1.5), CD8 (53-6.7), PD-L1 (10F.9G2), TIM3 (RMT3-23), LAG3 (C9B7W) и TIGIT (1G9) мыши (Biolegend). Связанную с клетками флуоресценцию измеряли с использованием проточного цитометра LSRFortessa X-20 (BD Biosciences), а анализ данных выполняли с использованием программного обеспечения FlowJo (Tree Star, г. Ашленд, штат Орегон, США).

*Статистический анализ*

**[0447]** Статистическую значимость определяли с помощью программного обеспечения GraphPad Prism с использованием парного, непарного критерия Стьюдента или отношения Стьюдента, как указано. Когда использовался критерий отношения t, к нулевым значениям добавляли 0,1, чтобы сделать их ненулевыми. Значения p меньше чем 0,05 считали значимыми.

*ИЛ-27 способствует экспрессии ингибиторных рецепторов Т-клетками in vivo*

**[0448]** Экспрессия более чем 400 генов изменилась в  $\geq \text{Log}_2$  раза в ответ на введение ИЛ-27, как показано на **фиг. 8А**. Подмножество данных генов показано в **таблицах 11А – 11В**. Среди данных генов были те, которые кодируют иммуоингибиторные рецепторы, играющие ключевую роль в иммунном ответе. Как показано на **фиг. 8В**, экспрессия *Luba* (кодирует *Sca-1*), *Lag3*, *Tigit* и *ИЛ-10* повысилась на спленоцитах в ответ на ИЛ-27. Также наблюдалась тенденция к опосредованному ИЛ-27 повышению экспрессии *Ctla4* и *Cd274* (кодирует PD-L1), которое представляло собой индукцию в меньше чем 1 раз (данные не показаны). Для проверки указанных данных об экспрессии использовали проточную цитометрию для оценки экспрессии белков PD-L1, LAG-3, TIGIT и TIM-3 на Т-клетках указанных мышей. Введение миниколец ИЛ-27 приводило к повышению экспрессии PD-L1, LAG-3 и TIGIT в CD4<sup>+</sup> Т-клетках селезенки и периферической крови (МКПК). В CD8<sup>+</sup> Т-клетках миниколец ИЛ-27 повышали PD-L1, LAG-3, TIGIT и TIM-3. Как показано на **фиг. 8С – 8F**, введение миниколец ИЛ-27 приводило к повышению PD-L1, Lag-3 и Tigit в CD4<sup>+</sup> Т-клетках селезенки и периферической крови. В CD8<sup>+</sup> Т-клетках миниколец ИЛ-27 повышали PD-L1, Lag-3, Tigit и Tim-3. Указанные данные свидетельствуют о том, что ИЛ-27 может играть ключевую роль в управлении экспрессией иммунорегуляторных рецепторов *in vivo*.

**[0449]** Чтобы исследовать способность антитела Ab1 блокировать ИЛ-27 человека, полученный из миниколец, *in vivo*, изучали как взаимодействие с целевой молекулой с помощью твердофазного иммуоферментного анализа (ТИФА), так и экспрессию иммунорегуляторного рецептора в спленоцитах. Через пять суток после трансфекции ИЛ-27 и воздействия антителом Ab1 против ИЛ-27 (50 мг/кг) у мышей собирали плазму для анализа уровней гетеродимера ИЛ-27 и EB13 с помощью технологии Meso Scale Discovery (MSD). В анализе гетеродимера ИЛ-27 использовали захватывающее антитело против p28, которое перекрестно блокирует антитело Ab1 против ИЛ-27, и специфичное для человека детектирующее антитело против EB13; следовательно, если антитело Ab1 против ИЛ-27 связано с ИЛ-27, то его обнаружение будет замаскировано. В анализе EB13 использовали как захватывающие, так и детектирующие антитела, специфичные к 2 различным эпитомам EB13 человека, и, поскольку полученный из миниколец ИЛ-27 представляет собой связанный гетеродимер, данный анализ позволяет обнаруживать общий ИЛ-27 независимо от связывания с антителом Ab1 против ИЛ-27.

**[0450]** Кратко, самкам мышей Balb/c возрастом 6 недель вводили пустой вектор (контроль) или ИЛ-27 человека. На мышей воздействовали 1 мг либо антитела Ab1 против ИЛ-27, либо изотипического контрольного антитела IgG1 против DNP за 7 суток до и в день трансфекции миниколец (сутки -7 и 0). Собирали цельную кровь и анализировали плазму крови на наличие ИЛ-27 (**фиг. 8G**) с помощью технологии Meso Scale Discovery. На **фиг. 8G** показано, что воздействие антителом Ab1 против ИЛ-27 полностью ингибирует обнаружение ИЛ-27 в плазме с помощью MSD. Похожие данные получили при исследовании антитела Ab1 против ИЛ-27 в дозе 25 мг/кг. Указанные данные свидетельствуют о том, что антитело Ab1 против ИЛ-27 в дозе 25 мг/кг или выше может полностью насыщать ИЛ-27, полученный из миниколец, *in vivo*. Данное полное взаимодействие с целевой молекулой также подтвердили в функциональном анализе pSTAT1.

**[0451]** Для оценки способности антитела Ab1 против ИЛ-27 блокировать активность ИЛ-27 *in vivo* анализировали экспрессию PD L1, Tim-3, Lag-3 и Tigit в МКПК и спленоцитах мыши с помощью проточной цитометрии. Антитело Ab1 против ИЛ-27 значительным образом блокировало индуцированную ИЛ-27 экспрессию PD-L1 и Lag 3 в CD4<sup>+</sup> МКПК и экспрессию PD-L1, Tim-3, Lag-3 и TIGIT в CD8<sup>+</sup> МКПК.

Воздействие антителом Ab1 против ИЛ-27 также блокировало индуцированную ИЛ-27 экспрессию PD-L1, Lag-3 и TIGIT в CD4+ спленocyтaх и экспрессию PD-L1 и Lag 3 в CD8+ спленocyтaх. Указанные данные свидетельствуют о том, что антитело Ab1 против ИЛ-27 может как взаимодействовать, так и блокировать активность ИЛ-27 человека *in vivo*.

[0452] Данные результаты демонстрируют, что эктопическая экспрессия ИЛ-27 *in vivo* приводит к повышению Т-клетками множества ингибирующих рецепторов и некоторых других молекул с иммуномодулирующей активностью в спленocyтaх. Указанные данные свидетельствуют о том, что антагонизм в отношении ИЛ-27 (например, вызванный путем лечения антителом против ИЛ-27) будет снижать экспрессию ингибиторных рецепторов на Т-клетках, тем самым усиливая иммунный ответ.

Таблица 11А. Активация генов в ответ на введение ИЛ-27

Обозначение гена	Кратность изменения	р-значение	Обозначение гена	Кратность изменения	р-значение
GM4841	3,824228667	0,012331653	SLC26A3	2,286	0,3487
LY6A	3,568709	0,000991642	DPCR1	2,285	0,0653
PIGP1	3,294783	0,000455248	GM11844	2,279	0,1054
TUBB1	3,145617	0,002782618	CYP4A32	2,269	0,2133
MPO	3,112051333	0,026667968	MIR1928	2,267	0,0134
CTSG	2,954178333	0,018177934	GKN3	2,266	0,3840
PPBP	2,878417333	0,006623845	KRT4	2,264	0,1539
ELANE	2,845762333	0,024770656	PGC	2,262	0,2583
MT2	2,757525667	0,004548988	HIST1H2BA	2,260	0,0390
MUC13	2,696042667	0,018195326	SPRR2A3	2,254	0,1974
F830016B08RIK	2,603319667	0,011330985	IGKV12-41	2,235	0,3548
GM4951	2,583066667	0,01529863	PAR3BOS3	2,227	0,1149
APOL11B	2,565688667	0,006885943	CLCA4B	2,225	0,4177
GZMB	2,515642667	0,004012308	GM23744	2,208	0,1217
PRTN3	2,450033	0,028785527	VMN2R-PS129	2,200	0,0021
CLCA3A1	2,345778333	0,018175529	GM23241	2,194	0,1644
GM11505	2,331628667	0,023451392	MYOZ2	2,191	0,2091
ИЛ-10	2,324278	0,008857442	MIR192	2,191	0,0553
GBP11	2,307386	0,005204674	MYH1	2,188	0,1653
PF4	2,270045	0,016210658	5033403H07RIK	2,187	0,1231
IRG1	2,269440667	0,003861367	MIRLET7F-2	2,186	0,1617
CES2G	2,252403333	0,033921335	GM25009	2,185	0,1243
OASL2	2,243393	0,00470682	MUC13	2,182	0,4412
LAG3	2,203067	0,002539095	PPP1R3A	2,178	0,1968
HIST1H2AG	2,197938	0,03499933	OLFR798	2,172	0,0036
OAS1G	2,184084667	0,007645573	SERPINA12	2,154	0,0309
MFSD2B	2,179382333	0,030664254	GM25864	2,152	0,0404
RHAG	2,146212667	0,072130267	N-R5S155	2,151	0,0691

TIGIT	2,145155	0,005421349	CYP2C65	2,142	0,1438
SLC6A4	2,121439	0,009945773	GM14750	2,141	0,0525
SHCBP1	2,092208667	0,038685767	GM23026	2,134	0,0863
BC023105	2,079652	0,002582842	HAMP2	2,125	0,2675
PKLR	2,045597333	0,053459171	GM24527	2,125	0,0777
TFR2	2,037887333	0,033394313	OLFR891	2,125	0,0731
F13A1	2,010803333	0,010612157	OLFR68	2,125	0,1746
HIST1H2AB	2,002687333	0,025241	TRAV6-2	2,123	0,1684
SERPINA3F	1,991916	0,002220854	CYP4F40	2,119	0,1848
ERMAP	1,940590333	0,042680673	TRDN	2,119	0,2396
MCPT8	1,930212667	0,018921256	CFTR	2,117	0,3208
SLC26A1	1,926420667	0,025126602	XIRP2	2,109	0,2031
PRKAR2B	1,924056667	0,016881189	CYP8B1	2,107	0,0912
BIRC5	1,914826333	0,032959509	GM23629	2,105	0,0590
FADS2	1,91223	0,013830993	GM25076	2,104	0,0980
TOP2A	1,88339	0,034852729	1700080G11RIK	2,103	0,1621
NCAPG	1,881082333	0,036612626	N-R5S96	2,100	0,0493
A730089K16RIK	1,870258667	0,061491704	GM11027	2,097	0,3009
MNS1	1,860366	0,014834618	SLC22A29	2,089	0,2663
GP9	1,859234333	0,002956835	GSTT2	2,082	0,2372
GFI1B	1,852962	0,0291761	GM23911	2,081	0,1903
NUF2	1,850953	0,032872517	OLFR724	2,079	0,0925
CHIL3	1,848470667	0,001494932	GM23277	2,078	0,0912
KIF11	1,83252	0,040535377	A4GNT	2,076	0,2431
ALOX12	1,823174	0,006931665	MUP21	2,074	0,1149
ADGRG7	1,822065	0,017542834	GM24147	2,074	0,2669
KLF1	1,820262333	0,060689421	MYBPC1	2,067	0,1392
E2F8	1,817455333	0,069143254	CYP3A59	2,063	0,2628
ATP1B2	1,811274333	0,024016123	ACTN2	2,063	0,1471
KIF2C	1,811223333	0,061246458	MIR29A	2,062	0,0340
FADS3	1,803859667	0,050197663	TFF1	2,061	0,0803
MS4A6D	1,801871667	0,01036878	PLA2G1B	2,060	0,4477
SLC25A21	1,801518667	0,048282826	GM23021	2,060	0,1111
HIST1H1B	1,800434	0,037242995	GM22607	2,045	0,1383
CKAP2L	1,783850333	0,061646634	RPL10L	2,044	0,0692
SAMD14	1,782388333	0,02384128	ACE2	2,038	0,3505
CAR1	1,770098667	0,025511071	PRAMEL3	2,038	0,1490
DEPDC1A	1,765839667	0,03875749	SULT1B1	2,032	0,2495
CENPE	1,765095667	0,039288425	ARL14	2,026	0,0952
ASPM	1,753558	0,054145246	GM11337	2,024	0,0270
CCNB2	1,751291667	0,036336189	CNN1	2,020	0,0217

RYK	1,749673	0,035413093	LRIT2	2,019	0,0533
MMP14	1,747348667	0,010510984	ACOT4	2,015	0,2120
BUB1	1,738322667	0,02139336	LOC100125594	2,014	0,0208
MYO1D	1,734508	0,006655486	GLBIL2	2,012	0,0396
PARVB	1,733820333	0,010799396	GM25605	2,008	0,1329
GM5593	1,728317	0,008578526	GM15384	2,002	0,0255
CCNA2	1,724975667	0,026630845	GM94	1,997	0,1095
PRR11	1,724352667	0,04875805	OLFR1113	1,997	0,1277
AQP1	1,719081667	0,064562051	G630018N14RIK	1,997	0,3017
CASP3	1,709594333	0,009087444	GM23232	1,994	0,0672
KIF15	1,708689667	0,026782535	GM16378	1,994	0,0357
ASNS	1,708074333	0,037928738	GM22838	1,994	0,0875
CPOX	1,706113	0,030298001	HSD3B5	1,992	0,2019
MT1	1,699002667	0,010159345	OLFR746	1,989	0,0331
CDC6	1,694586667	0,049970924	GM24254	1,988	0,1301
GBP2B	1,694018	0,000929009	GM24232	1,986	0,2212
GBP2	1,689558667	0,004961011	PRAP1	1,986	0,3720
HMMR	1,687253333	0,063769534	ALPI	1,986	0,4192
KIF20A	1,686718333	0,020639142	MIR3964	1,983	0,0301
GSTM5	1,681807333	0,04316743	GM22787	1,983	0,0183
REEP6	1,677204667	0,056071877	GM26081	1,982	0,1771
GM12250	1,675485	0,003251181	GM22242	1,980	0,3169
GBP10	1,673458	0,009333312	IGHV1-77	1,980	0,4742
ATP7B	1,671614	0,029798535	OLFR740	1,980	0,2191
GM22973	1,663495667	0,004472758	OLFR1201	1,979	0,0339
CASC5	1,659578	0,044333895	GM22654	1,976	0,5101
ADD2	1,659553667	0,053938067	OLFR747	1,975	0,0719
CAMP	1,659111667	0,066745225	GM22521	1,973	0,1073
CLEC5A	1,654882667	0,00665055	VMN1R172	1,972	0,0731
MUP-PS12	6,332	0,0021	GM13773	1,971	0,2179
GM26184	5,617	0,0850	CLEC2H	1,970	0,2041
GKN2	4,822	0,0378	OLFR714	1,967	0,0816
MYH8	3,854	0,3190	GM22284	1,965	0,1376
MIR101B	3,695	0,0111	GM26342	1,962	0,0242
GKN1	3,485	0,0451	OLFR190	1,961	0,0184
CJH	3,473	0,1822	CCDC152	1,960	0,0375
MUC5AC	3,341	0,0628	GM26048	1,959	0,1807
2310057J18RIK	3,041	0,4100	GM24410	1,959	0,1844
PSCA	3,027	0,1219	LGALS4	1,957	0,0215
GM25623	2,948	0,0133	OLFR969	1,956	0,0946
FAM83B	2,905	0,0202	GM6222	1,956	0,0950

GM23852	2,882	0,0763		OLFR913	1,953	0,3111
SPTSSB	2,873	0,0952		4930557A04RIK	1,953	0,0645
MIRLET7F-1	2,794	0,0447		GM24750	1,950	0,2385
MUP-PS16	2,778	0,0114		GM23043	1,948	0,0490
ANXA10	2,689	0,1047		STFA1	1,946	0,0803
LGALS2	2,685	0,1337		SUCNR1	1,942	0,1078
CHIA1	2,672	0,4078		MYOM1	1,941	0,1753
AKP3	2,660	0,3665		KLK1B22	1,938	0,1263
SLC13A1	2,622	0,2936		GM23917	1,934	0,1949
GM766	2,621	0,4035		GM15949	1,932	0,0450
GM24537	2,617	0,1649		OLFR709-PS1	1,930	0,0722
GM24138	2,606	0,0374		OBP1A	1,928	0,3421
SIS	2,585	0,3777		SULT2A1	1,927	0,3528
2210407C18RIK	2,584	0,0600		GM24786	1,923	0,2103
S100G	2,580	0,3877		SGK2	1,916	0,1567
GM26354	2,540	0,1097		MIRLET7C-1	1,911	0,0725
CKMT2	2,538	0,2680		VMN1R90	1,910	0,1018
GM26055	2,525	0,2157		GM23342	1,909	0,0298
GM5885	2,479	0,0305		REG3G	1,908	0,1599
AGR2	2,458	0,1845		GM24839	1,906	0,2631
VMN1R167	2,454	0,0932		N-R5S157	1,905	0,1167
GM25167	2,444	0,0264		GM25023	1,905	0,0253
ATP5C1-PS	2,437	0,0477		CES2B	1,902	0,1386
GM24470	2,434	0,1676		IGHV8-11	1,901	0,1555
MYH2	2,403	0,1632		GM25982	1,899	0,0542
MIR326	2,375	0,0059		ATP4A	1,899	0,3968
MIR122	2,375	0,0242		GM26162	1,898	0,0147
MCPT9	2,375	0,0623		PNPLA3	1,898	0,0031
PSG18	2,359	0,0115		AU015336	1,893	0,0794
MUC6	2,358	0,3108		GM24621	1,891	0,0840
VMN2R115	2,352	0,1111		CYP2C40	1,891	0,4000
GM25498	2,351	0,0086		GM25602	1,891	0,1527
2010106E10RIK	2,339	0,4607		ADGRG7	1,889	0,3205
ERBB4	2,328	0,0350		SLC30A10	1,888	0,1288
LYPD8	2,320	0,1374		GM25836	1,888	0,1934
CYP2A5	2,305	0,2330		GM25629	1,887	0,1192
BTNL5-PS	2,301	0,1684		GM24861	1,886	0,0396
GM24549	2,289	0,1138		GM21057	1,884	0,0850
GM24465	2,287	0,2356				

Таблица 11В. Подавление генов в ответ на введение ИЛ-27

Обозначение гена	Кратность изменения	p-значение	Обозначение гена	Кратность изменения	p-значение
DEFB44-PS	0,187	0,1696	1700049E17RIK2	0,380	0,0045
C1S2	0,187	0,0076	IGH-VJ558	0,382	0,4348
HIST1H1B	0,204	0,1347	PRRG4	0,382	0,1000
GM15114	0,205	0,1127	GM7391	0,383	0,0206
GM2005	0,205	0,0169	CD109	0,384	0,0892
KHDC1C	0,211	0,0820	TMEM173	0,385	0,0912
GM2005	0,224	0,0023	CDH17	0,385	0,0338
SERPINB7	0,224	0,1389	KITL	0,385	0,0287
SERPINB11	0,225	0,0594	SKA3	0,388	0,1991
CXCL3	0,230	0,1516	PRC1	0,390	0,0796
CDH10	0,230	0,0466	MBOAT1	0,390	0,0339
MIR1949	0,235	0,1307	TOP2A	0,394	0,0659
SLC7A11	0,236	0,0195	1700049E17RIK2	0,395	0,0084
LUZP4	0,249	0,0952	SPEER4D	0,396	0,0119
IGHV1-81	0,252	0,5116	HIST1H3I	0,396	0,3818
PTPRTOS	0,252	0,0338	TUBA1A	0,396	0,0139
RP1	0,254	0,1538	GM22265	0,396	0,0909
GM15127	0,254	0,0500	TRBJ1-7	0,397	0,1567
CRISP1	0,255	0,0865	KIF20B	0,398	0,0922
GM15107	0,255	0,0591	SERPINB2	0,398	0,0259
SERPINB5	0,256	0,0402	GM14402	0,398	0,2496
GM7665	0,256	0,0034	PLK4	0,399	0,0728
TMEM252	0,259	0,0173	C330027C09RIK	0,400	0,1046
PNMA5	0,262	0,0922	GM15091	0,401	0,0763
CXCL15	0,263	0,1037	NDC80	0,401	0,0773
CLEC2G	0,265	0,0388	MYBL1	0,401	0,1659
MMP13	0,267	0,1687	KIF2C	0,401	0,0703
GM15093	0,269	0,0741	GM12603	0,401	0,0856
VMN1R53	0,270	0,0648	CYP11A1	0,403	0,2635
GM14409	0,276	0,1558	FANCI	0,403	0,1782
GM11884	0,278	0,1682	CCNA2	0,404	0,0598
SLC16A4	0,278	0,1159	RACGAP1	0,406	0,0734
MMP12	0,280	0,0786	NCAPH	0,406	0,1125
KIF5C	0,281	0,1003	GM16094	0,407	0,0317
APELA	0,283	0,0601	CH25H	0,407	0,3075
AFP (АФП)	0,283	0,0424	GM15398	0,408	0,1043
IGKV1-122	0,286	0,0090	KNTC1	0,409	0,1335
A630095E13RIK	0,292	0,0905	BST1	0,409	0,0928
GM15109	0,297	0,0058	KIF11	0,412	0,0752

OLFR111	0,299	0,2107		GM23576	0,412	0,2618
TNS4	0,301	0,0381		SHCBP1	0,412	0,1361
PLEKHS1	0,301	0,0784		IGHV1-42	0,413	0,4474
LNCENC1	0,305	0,0939		GPRC5A	0,415	0,0333
THBS1	0,309	0,0243		TNFRSF10B	0,416	0,1047
PLATR14	0,313	0,0812		IL23A	0,418	0,1414
RASSF9	0,314	0,1125		ERICH2	0,419	0,1444
ITGA2	0,319	0,0699		ANLN	0,420	0,0409
LOC102634388	0,320	0,0213		CASC5	0,420	0,1178
LOC102634388	0,320	0,0213		GM17689	0,421	0,2773
GM15093	0,320	0,0380		SOX4	0,422	0,0795
CEP55	0,321	0,1007		GM22069	0,422	0,0494
A630038E17RIK	0,321	0,1334		PRR11	0,423	0,0750
GM25552	0,323	0,1261		SEMA3C	0,423	0,0208
RPS26	0,327	0,1840		RETNLA	0,423	0,0429
STRA6	0,330	0,0498		FRMD7	0,424	0,0211
GM15093	0,331	0,0403		TNFRSF11B	0,425	0,0592
PSAT1	0,332	0,0926		RAD54L	0,426	0,1604
AKR1C18	0,332	0,0983		GM10488	0,426	0,0074
DEPDC1A	0,333	0,1814		PLAT	0,427	0,0647
GM10439	0,335	0,0694		GM13790	0,427	0,1161
GM24916	0,335	0,2031		DTL	0,427	0,1700
STC1	0,337	0,0829		SERPINB9B	0,429	0,1064
DPPA2	0,337	0,0887		ASNS	0,430	0,0471
E030011O05RIK	0,337	0,0486		GM15097	0,430	0,1722
GM20756	0,337	0,0218		TMED6	0,432	0,2648
GM22771	0,339	0,2897		SERPINE1	0,433	0,0345
IGKV6-32	0,340	0,4435		TPX2	0,433	0,0588
AIM2	0,340	0,0091		CENPK	0,433	0,1772
C920009B18RIK	0,341	0,0220		2810429I04RIK	0,434	0,2171
BUB1	0,349	0,0755		4930461G14RIK	0,434	0,1799
TICRR	0,350	0,1772		HIST1H2AG	0,435	0,1874
MIS18BP1	0,353	0,0909		IER3	0,435	0,1414
MAGEA6	0,353	0,2067		CHRNA1	0,436	0,0500
CHIL3	0,354	0,0651		GM5431	0,437	0,1300
IGHV1-78	0,357	0,2850		GM13247	0,438	0,2035
STIL	0,358	0,1413		AI506816	0,438	0,0773
GM26735	0,360	0,0654		GM7942	0,438	0,0432
REG2	0,360	0,4969		CCNB1	0,440	0,0362
SPRR1A	0,361	0,0056		ZFP345	0,440	0,2490
PARBP	0,362	0,1471		IGHV8-8	0,440	0,4507

PADI4	0,366	0,0975	ATAD5	0,442	0,1143
GM14139	0,367	0,0423	KDELR3	0,444	0,0873
GPC3	0,368	0,2139	CDC25C	0,445	0,0353
MS4A6D	0,370	0,0176	IGKV4-72	0,445	0,1803
ATP10A	0,371	0,0977	OLFR99	0,447	0,1622
KIF23	0,371	0,0432	GM25544	0,448	0,1385
GM20757	0,371	0,2248	MIR101C	0,448	0,0818
GM2318	0,372	0,0136	HYDIN	0,448	0,1499
GM2318	0,372	0,0136	IGHV5-16	0,449	0,3210
GM2318	0,372	0,0136	NOP58	0,449	0,1379
GM2318	0,372	0,0136	CEL	0,449	0,5062
IGHV1-9	0,372	0,3585	MS4A4A	0,449	0,1126
CPB1	0,374	0,5445	BCL2A1B	0,450	0,0035
TNFSF4	0,374	0,1420	IGKV4-59	0,450	0,4975
RNASE1	0,375	0,2935	CCL3	0,450	0,1070
TIMP1	0,376	0,0765	GM2933	0,451	0,1650
GM6020	0,379	0,4836	FAM102B	0,451	0,1330

Таблица 12: ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID NO	Описание	Последовательность
		<b>Антитело Ab2-A против ИЛ-27</b>
9	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYS
10	HCDR2 (IMGT)	ISSSSSYI
11	HCDR3 (IMGT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP
12	HCDR1 (NT)	FTFSSYSMN
13	HCDR2 (NT)	SISSSSYIYYADSVKG
14	HCDR3 (NT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP
15	VH	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYTATAHNWFDPWGQGLTVTVSS
16	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTCAGTAGC TATAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTACATATACTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGA CACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGAAGAACGTCCTACACCGCCACA

		GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCA
17	LCDR1 (IMGT)	QSVLFSSNNKNY
18	LCDR2 (IMGT)	WAS
19	LCDR3 (IMGT)	QQHASAPPT
20	LCDR1 (NT)	KSSQSVLFSSNNKNYLA
21	LCDR2 (NT)	WASTRES
22	LCDR3 (NT)	QQHASAPPT
23	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHA SAPPTFGGGTKVEIK
24	ДНК VL	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGAATACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG TCAGCAGCACGCCAGTCCCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAA
25	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYATAHNWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCQSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
26	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGC TATAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTTACATATACTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGA CACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGGGAAGAACGTCCTACACCGCCACA GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCAGCGAGCACCAAGGCCCGAGCGTGTTCGCTGGCGCCGA GCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGT GAAAGATTATTTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGC GCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGCGGCTGCTGCAGAGCA

		GCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAG CCTGGGCACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAACCATAAACCGAGC AACACCAAAGTGGATAAAAAAGTGGAAACCGAAAAGCTGCGATAAA ACCCATACCTGCCCGCCGTGCCGGCGCCGGAAGTGTGGGCGGCC GAGCGTGTTCCTGTTCCGCCGAAACCGAAAGATACCCTGATGATTA GCCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGA AGATCCGGAAGTGAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTG CATAACGCGAAAACCAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAGCACCT ATCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAAC GGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGCGCTGCCGGCGC CGATTGAAAAACCATTAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACC GCAGGTGTATACCCTGCCGCCGAGCCGCGATGAACTGACCAAAAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGCTTTTATCCGAGCGATAT TGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGGCCAGCCGAAAACAACCTATAAA ACCACCCCGCCGGTGTGGATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTATAG CAAACCTGACCGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTT AGCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTATACCCAGA AAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCAA
27	Легкая цепь	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHA SAPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
28	ДНК легкой цепи	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGAATACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG TCAGCAGCACGCCAGTGCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCA CCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCCGCTCCGTGCTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTG GACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGC AGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACCCTG TCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGC GAGTGC
		<b>Антигено Ab2-B против ИЛ-27</b>
29	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRYSYATAHNWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST

		SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLG
30	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGC TATAGCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTACATATACTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGT CACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGGGAAGAACGTCCTACACCGCCACA GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTACCCGT CTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCTTG CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGA AGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGG CCTGTACTCCCTGTCCAGCGTGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGG GCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACAC CAAAGTGGACAAGCGGGTGGAAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTT CCTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTC CTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTT CAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGTGACAACGCCAAGACCAAG CCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCT CCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCC TCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGT CTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTC CAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGACTCTCGGCTGACCGTGGACAA GTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTG GGC
		<b>Антигено Ab3-A против ИЛ-27</b>
31	HCDR1 (IMGT)	GFTFRSYG
32	HCDR2 (IMGT)	ISSSSSYI
33	HCDR3 (IMGT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP

34	HCDR1 (NT)	FTFRSYGMN
35	HCDR2 (NT)	SISSSSSYIYYADSVKG
36	HCDR3 (NT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP
37	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYTATAHNWFDPPWGQGLVTVSS
38	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCCGGAGC TATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTACATATACTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACT CACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAAGAAGCTCCTACACCGCCACA GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCA
39	LCDR1 (IMGT)	QSVLFSSNNKNY
40	LCDR2 (IMGT)	WAS
41	LCDR3 (IMGT)	QQHASAPPT
42	LCDR1 (NT)	KSSQSVLFSSNNKNYLA
43	LCDR2 (NT)	WASTRES
44	LCDR3 (NT)	QQHASAPPT
45	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHA SAPPTFGGGTKVEIK
46	ДНК VL	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG TCAGCAGCACGCCAGTGCCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAA
47	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYTATAHNWFDPPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV

		EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
48	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCCGGAGC TATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTACATATACTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACT CACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAAGAACGTCCTACACCGCCACA GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCAGCGAGCACCAAAGGCCCGAGCGTGTTCGCTGGCGCCGA GCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGT GAAAGATTATTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGC GCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGGCGGTGCTGCAGAGCA GCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAG CCTGGGCACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAACCATAAACCGAGC AACACCAAAGTGGATAAAAAAGTGAACCGAAAAGCTGCGATAAA ACCCATACCTGCCCGCCGTGCCGGCGCCGGAACCTGCTGGGCGGCC GAGCGTGTTCGTTTCGCGCGAAACCGAAAGATACCCTGATGATTA GCCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGA AGATCCGGAAGTGAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTG CATAACCGGAAAACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAGCACCT ATCGCGTGGTGAGCGTGTGACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAAC GGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGCGCTGCCGGCGC CGATTGAAAAACCATTAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACC GCAGGTGTATACCCTGCCGCCGAGCCGCGATGAACTGACCAAAAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTAAAAGGCTTTTATCCGAGCGATAT TGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGGCCAGCCGAAAACAACCTATAAA ACCACCCCGCCGGTGTGGATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTATAG CAAACCTGACCGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTT AGCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTATACCCAGA AAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCAA
49	Легкая цепь	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHA SAPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
50	ДНК легкой цепи	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGAATACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT

		<p>CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG  TCAGCAGCACGCCAGTGGCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG  TTGAGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCA  CCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGCTGTGCCT  GCTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTG  GACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTCACCGAGC  AGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACCCTG  TCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA  CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGC  GAGTGC</p>
		<b>Антигено Ab3-B против ИЛ-27</b>
51	Тяжелая цепь	<p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMNWVRQAPGKGLEW  VSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC  ARDGGRTSYTATAHNWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST  SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSS  VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG  GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV  HNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI  EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW  ESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH  EALHNHYTQKSLSLGLG</p>
52	ДНК тяжелой цепи	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG  GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCCGGAGC  TATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT  GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTACATATACTACGCAGAC  TCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGT  CACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT  GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAAAGAACGTCCTACACCGCCACA  GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT  CTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTG  CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGA  AGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCC  CTGACCTCCGGCGTGCACACCTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGG  CCTGTAATCCCTGTCCAGCGTCTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGG  GCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACAC  CAAAGTGGACAAGCGGGTGGAAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTT  CCTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCC  CTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTG  ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTT  CAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG  CCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT  GACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC</p>

		AAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCT CCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCC TCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGT CTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTC CAACGGCCAGCCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGACAA GTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTG GGC
		<b>Антигено Ab4-A против ИЛ-27</b>
53	HCDR1 (IMGT)	GFTFSRTG
54	HCDR2 (IMGT)	ISSSSSYI
55	HCDR3 (IMGT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP
56	HCDR1 (NT)	FTFSRTGMN
57	HCDR2 (NT)	SISSSSYIYYADSVKG
58	HCDR3 (NT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP
59	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRTGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYTATAHNWFDPWGQGLVTVSS
60	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGG ACTGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAAT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTTACATATACTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGA ACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGGGAAGAACGTCTACACCGCCACA GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCA
61	LCDR1 (IMGT)	QSVLFSSNNKNY
62	LCDR2 (IMGT)	WAS
63	LCDR3 (IMGT)	QQHASAPPT
64	LCDR1 (NT)	KSSQSVLFSSNNKNYLA
65	LCDR2 (NT)	WASTRES
66	LCDR3 (NT)	QQHASAPPT
67	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLA WYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQHASAPPTFGGGTKVEIK
68	ДНК VL	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGA ACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG

		GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG TCAGCAGCACGCCAGTGGCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAA
69	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRTGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYTATAHNWFDWPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCQV MHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
70	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGG ACTGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGGCTGGAAT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTACATATACTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGT CACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAAGAACGTCCTACACCGCCACA GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCAGCGAGCACCAAGGCCCGAGCGTGTTCGCTGGCGCCGA GCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGT GAAAGATTATTTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGC GCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGCGGCTGCTGCAGAGCA GCGGCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAG CCTGGGCACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAACCATAAACCAGC AACACCAAAGTGGATAAAAAAGTGAACCGAAAAGCTGCGATAAA ACCCATACCTGCCC GCCGTGCCCGGCGCCGGAAGTGTGGCGGCC GAGCGTGTTCGTTCCGCCGAAACCGAAAGATACCCTGATGATTA GCCGCACCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGA AGATCCGGAAGTGAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTG CATAACGCGAAAACCAACCGCGCAAGAACAGTATAACAGCACCT ATCGCGTGGTGAGCGTGTGACCGTGTGCATCAGGATTGGCTGAAC GGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGCGCTGCCGGCGC CGATTGAAAAACCATTAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACC GCAGGTGTATACCCTGCCGCCGAGCCGCGATGAACTGACCAAAAAC CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGCTTTTATCCGAGCGATAT TGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGGCCAGCCGAAAACAACATAAAA ACCACCCCGCCGGTGTGGATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTATAG CAAACCTGACCGTGGATAAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTT

		AGCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAAACCATTATACCCAGA AAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCAAA
71	Легкая цепь	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHA SAPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
72	ДНК легкой цепи	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG TCAGCAGCACGCCAGTGGCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTCATCTTCCCA CCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCCGCTCCGTCTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTG GACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGC AGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACCCTG TCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGC GAGTGC
		<b>Антитело Ab4-B против ИЛ-27</b>
73	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFSRTGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSYIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYATAHNWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLG
74	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTCAGTAGG ACTGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAAT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTTACATATACTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACT CACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTAATACTGCGCCAGAGATGGTGGGAAGAACGTCTACACCGCCACA GCCACAAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTTG

		CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGA AGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCTCCGG CCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGG GCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACAC CAAAGTGGACAAGCGGGTGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTT CCTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCC CTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTT CAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCT CCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCC TCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGT CTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTC CAACGGCCAGCCCGAGAACAATAAGACCACCCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGACAA GTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTG GGC
		<b>Антигено Ab5-A против ИЛ-27</b>
75	HCDR1 (IMGT)	GFTFSRYG
76	HCDR2 (IMGT)	ISSSSAYI
77	HCDR3 (IMGT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP
78	HCDR1 (NT)	FTFSRYGMN
79	HCDR2 (NT)	SISSSAYILYADSVKG
80	HCDR3 (NT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP
81	VH	EVQLVESGGGLVKGPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSAYILYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYTATAHNWFDPWGQGLTVSS
82	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTCAGTAGG TATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTGCTTACATACTGTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGT CACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGAAGAAGCTCCTACACCGCCACA GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCA
83	LCDR1 (IMGT)	QSVLFSSNNKNY

84	LCDR2 (IMGT)	WAS
85	LCDR3 (IMGT)	QQHASAPPT
86	LCDR1 (NT)	KSSQSVLFSSNNKNYLA
87	LCDR2 (NT)	WASTRES
88	LCDR3 (NT)	QQHASAPPT
89	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHA SAPPTFGGGTKVEIK
90	ДНК VL	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG TCAGCAGCACGCCAGTGCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAA
91	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSAYILYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRSYTATAHNWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKLSLSLSPGK
92	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGG TATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTGCTTACATACTGTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACT CACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGGGAAGAACGTCCTACACCGCCACA GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCAGCGAGCACCAAAGGCCCGAGCGTGTTTCCGCTGGCGCCGA GCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGT GAAAGATTATTTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGC GCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGGCGGTGCTGCAGAGCA GCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAG CCTGGGCACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAACCATAAACCAGAGC AACACCAAAGTGGATAAAAAAGTGGAAACCGAAAAGCTGCGATAAA

		<p>ACCCATACCTGCCCGCCGTGCCCGGCGCCGGAACCTGCTGGGCGGCC  GAGCGTGTCTGTTCCGCCGAAACCGAAAGATACCCTGATGATTA  GCCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGA  AGATCCGGAAGTGAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTG  CATAACGCGAAAACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAGCACCT  ATCGCGTGGTGGAGCGTGTGACCGTGTGCATCAGGATTGGCTGAAC  GGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGCGCTGCCGGCGC  CGATTGAAAAAACATTAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACC  GCAGGTGTATACCCTGCCCGGAGCCGCGATGAACTGACCAAAAAC  CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTAAAAGGCTTTTATCCGAGCGATAT  TGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGGCCAGCCGAAAACAACATAAA  ACCACCCCGCCGGTGTGGATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTATAG  CAAACCTGACCGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTT  AGCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTATACCCAGA  AAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCAA</p>
93	Легкая цепь	<p>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP  PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHA  SAPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR  EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHK  VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
94	ДНК легкой цепи	<p>GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG  CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA  GCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG  ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG  GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT  CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG  TCAGCAGCACGCCAGTGGCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG  TTGAGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCA  CCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGCTGTGCCT  GCTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAGTG  GACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTCACCGAGC  AGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACCCTG  TCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA  CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGC  GAGTGC</p>
		<b>Антитело Ab5-B против ИЛ-27</b>
95	Тяжелая цепь	<p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYGMNWVRQAPGKGLEW  VSSISSSSAYILYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC  ARDGGRTSYATAHNWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST  SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSS  VVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG  GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEV</p>

		HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEV ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLG
96	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTCAGTAGG TATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCATCCATTAGTAGTAGTAGTGCTTACATACTGTACGCAGAC TCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACT CACTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGT GTACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAAAGAACGTCTACACCGCCACA GCCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCTTG CTCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGA AGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCC CTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGG CCTGTACTCCCTGTCCAGCGTCTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGG GCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACAC CAAAGTGGACAAGCGGGTGGAAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTT CCTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTC CTCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTT CAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAAGTGACAACGCCAAGACCAAG CCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCT CCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCC TCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGT CTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTC CAACGGCCAGCCCAGACAACAATAAGACCACCCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGACAA GTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTG GGC
		<b>Антитело Ab6-A против ИЛ-27</b>
97	HCDR1 (IMGT)	GFTFASYG
98	HCDR2 (IMGT)	ISSSSSYI
99	HCDR3 (IMGT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP
100	HCDR1 (NT)	FTFASYGMN
101	HCDR2 (NT)	SISSSSYIYYADSVKG
102	HCDR3 (NT)	ARDGGRTSYTATAHNWFDP

103	VH	EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFASYGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYTATAHNWFDPPWGQGLVTVSS
104	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCGCTAGCT ATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCATCCATTAGTAGTTCTAGTAGTTACATATACTACGCAGACT CAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTC ACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAAGAACGTCCTACACCGCCACAG CCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTC TCCTCA
105	LCDR1 (IMGT)	QSVLFSSNNKNY
106	LCDR2 (IMGT)	WAS
107	LCDR3 (IMGT)	QHASAPPT
108	LCDR1 (NT)	KSSQSVLFSSNNKNYLA
109	LCDR2 (NT)	WASTRES
110	LCDR3 (NT)	QHASAPPT
111	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQHA SAPPTFGGGTKVEIK
112	ДНК VL	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG GGGTCCCTGACCGATTAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG TCAGCAGCACGCCAGTGCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAA
113	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFASYGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYTATAHNWFDPPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
114	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCGCTAGCT

		<p>ATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG  GGTCTCATCCATTAGTAGTTCTAGTAGTTACATATACTACGCAGACT  CAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTC  ACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTG  TACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAAGAACGTCCTACACCGCCACAG  CCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTC  TCCTCAGCGAGCACCAAAGGCCCGAGCGTGTTCGCTGGCGCCGA  GCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGT  GAAAGATTATTTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGC  GCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGGCGGTGCTGCAGAGCA  GCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAG  CCTGGGCACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAACCATAAACCGAGC  AACACCAAAGTGGATAAAAAAGTGAACCGAAAAGCTGCGATAAA  ACCCATACCTGCCCGCCGTGCCCGGCGCCGGAAGTCTGGGCGGCC  GAGCGTGTCTGTTTCCGCCGAAACCGAAAGATACCCTGATGATTA  GCCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGA  AGATCCGGAAGTGAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTG  CATAACGCGAAAACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAGCACCT  ATCGCGTGGTGAGCGTGTGACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAAC  GGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGCGCTGCCGGCGC  CGATTGAAAAACCATTAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACC  GCAGGTGTATACCCTGCCCGGAGCCGCGATGAACTGACCAAAAAC  CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGCTTTTATCCGAGCGATAT  TGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGGCCAGCCGAAAACAACATAAAA  ACCACCCCGCCGGTGTGGATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTATAG  CAAACCTGACCGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTT  AGCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTATACCCAGA  AAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCAA</p>
115	Легкая цепь	<p>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP  PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSTDFLTISLQAEDVAVYYCQQA  SAPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPR  EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHK  VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
116	ДНК легкой цепи	<p>GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG  CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA  GCTCCAACAATAAGAATACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG  ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG  GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT  CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG  TCAGCAGCACGCCAGTGCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG  TTGAGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCA  CCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGCTGTGCCT</p>

		GCTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTG GACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGC AGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACCCTG TCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGC GAGTGC
		<b>Антитело Ab6-B против ИЛ-27</b>
117	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFASYGMNWVRQAPGKGLEW VSSISSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYATAHNWFDWPWGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLG
118	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCGCTAGCT ATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCATCCATTAGTAGTTCTAGTAGTTACATATACTACGCAGACT CAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAATC ACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAGAACGTCCTACACCGCCACAG CCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTC TCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGC TCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAA GGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCCC TGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGC CTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCTCCTCCAGCCTGGG CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACACC AAAGTGGACAAGCGGGTGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTTC CTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCCCTGTTCCC TCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTT CAATTGGTACGTGGACGGCGTGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCT CCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCC TCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGT CTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTC

		CAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCCCTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGACAA GTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTG GGC
		<b>Антитело Ab1-A против ИЛ-27</b>
119	HCDR1 (IMGT)	GFTFRSYG
120	HCDR2 (IMGT)	ISSSGSYI
121	HCDR3 (IMGT)	ARDGGRTSYTATAHNWFD
122	HCDR1 (NT)	FTFRSYGMN
123	HCDR2 (NT)	GISSSGSYIYYADSVKG
124	HCDR3 (NT)	ARDGGRTSYTATAHNWFD
125	VH	EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMNWVRQAPGKGLEW VSGISSSGSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYTATAHNWFDPWGQGLVTVSS
126	ДНК VH	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCCGTAGCT ATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCAGGTATTAGTAGTAGTGGTAGTTACATATACTACGCAGACT CAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTC ACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAGAGATGGTGAAGAACGTCCTACACCGCCACAG CCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTC TCCTCA
127	LCDR1 (IMGT)	QSVLFSSNNKNY
128	LCDR2 (IMGT)	WAS
129	LCDR3 (IMGT)	QHASAPPT
130	LCDR1 (NT)	KSSQSVLFSSNNKNYLA
131	LCDR2 (NT)	WASTRES
132	LCDR3 (NT)	QHASAPPT
133	VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQHA SAPPTFGGGTKVEIK
134	ДНК VL	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG TCAGCAGCACGCCAGTGGCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAA

135	Тяжелая цепь	<p>EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMNWVRQAPGKGLEW  VSGISSSGSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC  ARDGGRTSYTATAHNWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST  SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS  VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE  LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV  EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV  EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV  MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>
136	ДНК тяжелой цепи	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG  GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCCGTAGCT  ATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG  GGTCTCAGGTATTAGTAGTAGTGGTAGTTACATATACTACGCAGACT  CAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTC  ACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTG  TACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAAGAACGTCCTACACCGCCACAG  CCCACAATTGGTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTC  TCCTCAGCGAGCACCAAAGGCCCGAGCGTGTTTCCGCTGGCGCCGA  GCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGT  GAAAGATTATTTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGC  GCGCTGACCAGCGGCGTGACATACCTTTCCGGCGGTGCTGCAGAGCA  GCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAG  CCTGGGCACCCAGACCTATATTGCAACGTGAACCATAAACCAGC  AACACCAAAGTGGATAAAAAAGTGAACCGAAAAGCTGCGATAAA  ACCCATACCTGCCC GCCGTGCCCGGCGCCGGAAGTGTGGGCGGCC  GAGCGTGTCTGTCTCCGCCGAAACCGAAAGATACCCTGATGATTA  GCCGCACCCCGGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGA  AGATCCGGAAGTGAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTG  CATAACGCGAAAACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAGCACCT  ATCGCGTGGTGAGCGTGTGACCGTGTGCATCAGGATTGGCTGAAC  GGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGCGCTGCCGGCGC  CGATTGAAAAAACATTAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACC  GCAGGTGTATACCCTGCCGCCGAGCCGCGATGAAGTACCAAAAAC  CAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTAAAAGGCTTTTATCCGAGCGATAT  TGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGGCCAGCCGAAAACAATAAAA  ACCACCCCGCCGGTGTGGATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTATAG  CAAAGTACCGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTT  AGCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTATACCCAGA  AAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCAA</p>
137	Легкая цепь	<p>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLFSSNNKNYLAWYQQKPGQP  PKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQA</p>

		SAPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLKADYEEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
138	ДНК легкой цепи	GACATCGTGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGGG CGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATTCA GCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGG ACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTACTGGGCATCTACCCGGGAATCCG GGGTCCCTGACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTTCACT CTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTATTACTG TCAGCAGCACGCCAGTGCCCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGG TTGAGATCAAACGTACGGTGGCCGCTCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCA CCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTCTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCTCGCGAGGCCAAAGTGCAGTGGAAAGTG GACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTCACCGAGC AGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCCACCCTGACCCTG TCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGA CCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGC GAGTGC
		<b>Антигено Ab1-B против ИЛ-27</b>
139	Тяжелая цепь	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMNWVRQAPGKGLEW VSGISSSGSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDGGRTSYATAHNWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLG
140	ДНК тяжелой цепи	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTGGTCAAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCCGTAGCT ATGGGATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCAGGTATTAGTAGTAGTGGTAGTTACATATACTACGCAGACT CAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAATC ACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAGAGATGGTGGAAAGAACGTCCTACACCGCCACAG CCCACAATTGGTTTCGACCCCTGGGGACAGGGTACATTGGTCACCGTC TCCTCAGCTTCCACCAAGGGCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGC TCCCGGTCCACCTCCGAGTCTACCGCCGCTCTGGGCTGCCTCGTGAA GGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAGTCTGGCGCCC TGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCTCCGGC CTGTACTCCCTGTCCAGCGTCGTGACCGTGCCCTCCTCCAGCCTGGG

		CACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCCTCCAACACC AAAGTGGACAAGCGGGTGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTTC CTGCCCTGCCCTGAGTTCCTGGGCGGACCTTCCGTGTTCTGTTCCC TCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAAGTG ACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAAGATCCCGAAGTCCAGTT CAATTGGTACGTGGACGGCGTGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAG CCCAGAGAGGAACAGTTCAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAAGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCTCCAGCATCGAAAAGACCATCT CCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAGCCCCAAGTGTACACCCTGCC TCCCAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAAGTGTCCCTGACTTGT CTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTC CAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGTACTCTCGGCTGACCGTGGACAA GTCCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCTCTG GGC
141	FLAG	DYKDDDDK
142	6-HIS	HHHHHH
143	HA	YPYDVPDYA

Таблица 13: Последовательности Fc (=CH2+CH3)

Название	Псевдоним	Последовательность аминокислот
IgG1 человека	1.0	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 5)
IgG4 человека	4.0	ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 6)
IgG4 человека (S228P)	4.1	ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 7)

IgG4 человека (S228P / L235E)	4.2	ESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO: 8)
--	-----	--

### Пример 9. Свойства связывания антитела Ab1 против ИЛ-27 и блокада рецептора ИЛ-27

[0453] Определяли ассоциацию и диссоциацию рекомбинантного ИЛ-27 человека в диапазоне концентраций от 0 до 5,0 мкг/мл с антителом Ab1 против ИЛ-27 концентрацией 1 мкг/мл. Окончательные кинетические параметры связывания представлены в **таблице 14** вместе с параметрами соответствия модели связывания ( $R^2$  и  $\chi^2$ ), которые демонстрируют хорошее соответствие экспериментальных данных указанной модели.

[0454] ИЛ-27 человека продемонстрировал наиболее высокую аффинность связывания с антителом Ab1 против ИЛ-27 среди всех видов, протестированных в данном исследовании (3,86 пМ). Рекомбинантные ИЛ-27 крысы и яванской макаки также проявили высокую аффинность к антителу Ab1 против ИЛ-27, со значениями 80,9 пМ и 37,4 пМ, соответственно, хотя несколько более слабую, чем указанный белок человека. Рекомбинантный ИЛ-27 мыши имел наиболее низкую аффинность к антителу Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с соответствующим белком человека, со значением в наномолярном диапазоне (4,43 нМ), на что указывает его более низкая скорость ассоциации и более высокая скорость диссоциации.

**Таблица 14. Сводные данные о связывании ИЛ-27 с антителом Ab1 против ИЛ-27 и межвидовой перекрестной реактивности**

Аналит	$K_D$ (М)	$k_a$ (1/Мс)	$k_d$ (1/с)	Полный $\chi^2$	Полный $R^2$
ИЛ-27 человека	3,86E-12	5,10E+05	1,97E-06	0,4055	0,9991
ИЛ-27 мыши	4,43E-09	5,50E+04	2,44E-04	0,6732	0,9963
ИЛ-27 крысы	8,09E-11	2,34E+06	1,89E-04	0,4685	0,9945
ИЛ-27 яванской макаки	3,74E-11	3,18E+05	1,19E-05	1,3431	0,9979

Сокращения: ИЛ-27 = интерлейкин 27,  $k_a$  = константа ассоциации,  $k_d$  = константа диссоциации,  $K_D$  = аффинность связывания

Примечание: значения  $R^2 > 0,95$  и значения  $\chi^2 < 3,0$  свидетельствуют о том, что полученные данные точно соответствуют математической модели.

### Пример 10. Выравнивание последовательностей CDR

[0455] Ряд подгрупп антител против ИЛ-27 согласно данному изобретению имеет гомологию последовательностей в их областях CDR, обеспечивая разнообразие вариантов последовательностей CDR, которые, как подтверждено, сохраняют свою функциональность. В данном документе явным образом предусмотрено, что следующие консенсусные последовательности CDR полностью поддерживаются и, следовательно, входят в объем данного изобретения.

[0456] Для антитела Ab1 против ИЛ-27, антитела Ab3 против ИЛ-27, антитела Ab4 против ИЛ-27, антитела Ab5 против ИЛ-27, антитела Ab6 против ИЛ-27 и антитела Ab7 против ИЛ-27 выравнивание

последовательностей CDR каждого из данных антител против ИЛ-27 выявило обширную гомологию, перемежающуюся переменными остатками. В частности, выравнивание CDR1 тяжелой цепи выявило следующие переменные остатки:

HCDR1 (IMGT)

Программа множественного выравнивания последовательностей CLUSTAL O (1.2.4)

1 GFTFRSYG	8	(SEQ ID NO: 119)
5 GFTFRSYG	8	(SEQ ID NO: 31)
4 GFTFASYG	8	(SEQ ID NO: 97)
2 GFTFSRTG	8	(SEQ ID NO: 53)
3 GFTFSRYG	8	(SEQ ID NO: 75)
6 GFTFSSYS	8	(SEQ ID NO: 9)

\*\*\*\*

**[0457]** Таким образом, консенсусная последовательность CDR1 (IMGT) тяжелой цепи для данных гомологичных антител представляет собой последовательность N-GFTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]-C (SEQ ID NO: 144) и, соответственно, более обобщенная представленная в данном документе консенсусная последовательность CDR1 (IMGT) тяжелой цепи представляет собой последовательность N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), где X представляет собой любой аминокислотный остаток.

**[0458]** Выравнивание последовательностей CDR2 (IMGT) тяжелой цепи антитела Ab1 против ИЛ-27, антитела Ab3 против ИЛ-27, антитела Ab4 против ИЛ-27, антитела Ab5 против ИЛ-27, антитела Ab6 против ИЛ-27 и антитела Ab7 против ИЛ-27 выявило следующее:

HCDR2 (IMGT)

Программа множественного выравнивания последовательностей CLUSTAL O (1.2.4)

10 ISSSGSYI	8	(SEQ ID NO: 120)
11 ISSSSSYI	8	(SEQ ID NO: 98)
7 ISSSSSYI	8	(SEQ ID NO: 32)
9 ISSSSSYI	8	(SEQ ID NO: 54)
8 ISSSSAYI	8	(SEQ ID NO: 76)
12 ISSSSSYI	8	(SEQ ID NO: 10)

\*\*\*\*.\*\*

**[0459]** Таким образом, консенсусная последовательность CDR2 (IMGT) тяжелой цепи для данных гомологичных антител представляет собой последовательность N-ISS[S/G][S/A]YI-C (SEQ ID NO: 146) и, соответственно, более обобщенная представленная в данном документе консенсусная последовательность CDR2 (IMGT) тяжелой цепи представляет собой последовательность N-ISSXXYI-C (SEQ ID NO: 147), где X представляет собой любой аминокислотный остаток.

**[0460]** Выравнивание последовательностей CDR1 человека (NT) и CDR2 человека (NT) также выявило следующее:

## HCDR1 (NT)

Программа множественного выравнивания последовательностей CLUSTAL O (1.2.4)

```
13 FTFRSYGMN    9      (SEQ ID NO: 34)
16 FTFRSYGMN    9      (SEQ ID NO: 122)
17 FTFASYGMN    9      (SEQ ID NO: 100)
14 FTFSRTGMN    9      (SEQ ID NO: 56)
15 FTFSRYGMN    9      (SEQ ID NO: 78)
18 FTFSSYSMN    9      (SEQ ID NO: 12)
```

\*\*\* \*\*

## HCDR2 (NT)

Программа множественного выравнивания последовательностей CLUSTAL O (1.2.4)

```
23 GISSSGSYIYYADSVKG  17      (SEQ ID NO: 123)
19 SSSSSSYIYYADSVKG  17      (SEQ ID NO: 35)
20 SSSSSSYIYYADSVKG  17      (SEQ ID NO: 57)
22 SSSSSSYIYYADSVKG  17      (SEQ ID NO: 101)
21 SSSSSAYILYADSVKG  17      (SEQ ID NO: 79)
24 SSSSSSYIYYADSVKG  17      (SEQ ID NO: 13)
```

.\*\*\*\*.\*\*\* \*\*

**[0461]** Таким образом, консенсусные последовательности CDR1 (NT) и CDR2 (NT) тяжелых цепей для данных гомологичных антител представляют собой последовательность N-FTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]MN-C (SEQ ID NO: 148) и последовательность N-[G/S]ISS[S/G][S/A]YI[L/Y]YADSVKG-C (SEQ ID NO: 149), соответственно. Принимая во внимание указанные консенсусные последовательности, более обобщенные представленные в данном документе консенсусные последовательности CDR1 (NT) и CDR2 (NT) тяжелых цепей представляют собой последовательность N-FTFXXXXMN-C (SEQ ID NO: 150) и последовательность N-XISSXXXYIXYADSVKG-C (SEQ ID NO: 151), соответственно, где X представляет собой любой аминокислотный остаток.

**[0462]** Область CDR3 тяжелой цепи (IMGT или NT) и области CDR легкой цепи CDR1 (IMGT или NT), CDR2 (IMGT или NT) и CDR3 (IMGT или NT) были полностью консервативны между антителом Ab1 против ИЛ-27, антителом Ab3 против ИЛ-27, антителом Ab4 против ИЛ-27, антителом Ab5 против ИЛ-27, антителом Ab6 против ИЛ-27 и антителом Ab7 против ИЛ-27.

### Пример 11: кристаллизация и определение эпитопа комплекса ИЛ-27 – Fab антитела Ab1 против ИЛ-27

**[0463]** Первоначальные исследования кристаллизации проводили с комплексом ИЛ-27 человека – Fab антитела Ab1 против ИЛ-27 при концентрации 10,1 мг/мл в 25 mM Трис pH 7,5, около 30 mM хлорида натрия

и 5% глицерола. Предварительные условия кристаллизации определяли с помощью скрининга РАСТ (Newman et al., (2005) *Acta Cryst. D* 61: 1426).

[0464] Кристаллы получали в различных условиях, включая РАСТ А2 (0,1 М реактива SPG (янтарная кислота, дигидрофосфат натрия и глицин) рН 5 и 25% ПЭГ 1500). Указанные кристаллы использовали для создания нового материала засева и постановки эксперимента по микроматричному засеву (ММЗ, англ. «MMS») с использованием скрининга JCSG+ (D'Arcy et al., (2007) *Acta Cryst. D Biol Cryst.* 63: 550 - 54).

[0465] Наборы данных собирали при 100К на устройстве I04, Diamond Light Source, г. Дидкот, Великобритания ( $\lambda = 0,9795 \text{ \AA}$ ) с детектором Eiger2 XE 16M. Данные обрабатывали с помощью программы autoPROC (Kabash, (2010) *Acta. Cryst. D. Biol. Cryst.* 66: 125 - 32; Vonrhein et al., (2011) *Acta Cryst. Biol. Cryst.* 67: 292 - 302) и анизотропно усечены с использованием программного обеспечения STARANISO (Tickle et al., STRANISO. Cambridge, United Kingdom: Global Phasing Ltd. (2018)), также включенного в программу Aimless (Evans et al., (2013) *Acta Cryst. Biol. Cryst.* 69: 1204 - 14).

[0466] Структуру определяли с применением программного обеспечения для молекулярного замещения Phaser (McCoy et al., (2007) *J. Appl. Cryst.* 40: 658-74) и Molrep (Vagin et al., (1997) *J. Appl. Cryst.* 30: 1022-25) (FIG. 9). Как показано на фиг. 9, Fab антитела Ab1 против ИЛ-27 связан с молекулой р28 ИЛ-27. Электронная плотность для всей области эпитоп – паратоп является четко определенной. Взаимодействия между антителом Ab1 против ИЛ-27 и р28 показаны в таблице 15.

Таблица 15: карта взаимодействий антитела Ab1 против ИЛ-27 с р28 ( $\leq 4,0 \text{ \AA}$ )

ИЛ-27 (p28)		Fab антитела Ab1 против ИЛ-27			Расстояние (Å)	Тип
Остаток	Атом	Остаток	Атом	Петля CDR		
Gln37	O <sup>e1</sup>	Ser32	N	L1	3,0	Н-связь
	C <sup>b</sup>	Phe31	C <sup>d1</sup>	L1	3,6	Гидрофобные
Leu38	C <sup>g</sup>	Phe31	C <sup>z</sup>	L1	4,1	Гидрофобные
Glu42	O <sup>e1</sup>	Ser99	O <sup>g</sup>	L3	2,7	Н-связь
Glu46	O <sup>e2</sup>	Tyr59	O <sup>h</sup>	H2	2,7	Н-связь
Val49	C <sup>g1</sup>	Tyr57	C <sup>d1</sup>	H2	3,5	Гидрофобные
Ser50	O <sup>g</sup>	Tyr57	O <sup>h</sup>	H2	2,7	Н-связь
Leu142	C <sup>d2</sup>	Ser54	C <sup>a</sup>	H2	3,8	Гидрофобные
Asp146	O <sup>d1,2</sup>	Ser53	O <sup>g</sup>	H2	3,7	Н-связь
	O <sup>d2</sup>	Ser54	O <sup>g</sup>	H2	2,7	Н-связь
	O <sup>d2</sup>	Ser56	O <sup>g</sup>	H2	4,0	Н-связь
Arg149	N <sup>e</sup>	Thr103	O	H3	3,1	Н-связь
	N <sup>e</sup>	Thr106	O	H3	2,9	Н-связь
	NH <sup>2</sup>	Gly101	O	H3	3,0	Н-связь
His150	N <sup>e2</sup>	Thr108	O <sup>g1</sup>	H3	2,7	Н-связь

	N <sup>d1</sup> , C <sup>e1</sup>	Tyr57	C <sup>e2</sup> , C <sup>d2</sup>	H2	3,5-3,7	p-стэкинг
<b>Phe153</b>	C <sup>z</sup>	His110	N <sup>d1</sup>	H3	3,6	Гидрофобные
	C <sup>d2</sup>	Ala107	C <sup>b</sup>	H3	3,7	Гидрофобные
	C <sup>e1</sup>	Tyr38	C <sup>e2</sup>	L1	3,8	Гидрофобные
<b>Leu156</b>	O	Ser33	O <sup>g</sup>	L1	2,6	H-связь
	C <sup>d2</sup>	Tyr105	C <sup>d1</sup>	H3	3,9	Гидрофобные
	C <sup>d1</sup>	Ser33	C <sup>b</sup>	L1	3,9	Гидрофобные
<b>Leu162</b>	O	Tyr105	O <sup>h</sup>	H3	2,8	H-связь
<b>Glu164</b>	O <sup>e1</sup>	Thr103	O <sup>g</sup>	H3	2,6	H-связь
	O <sup>e2</sup>	Lys36	N <sup>z</sup>	L1	3,9	Ионные

### Пример 12. Дополнительные исследования по картированию эпитопов

**[0467]** Дальнейшие исследования по картированию эпитопов проводили с использованием кристаллической структуры комплекса ИЛ-27 – Fab антитела Ab1 против ИЛ-27. Области взаимодействия между молекулой Fab антитела Ab1 против ИЛ-27 и ИЛ-27 исследовали с помощью программ Qt-PISA и NCONT в программном пакете CCP4 (Winn, et al., (2011) *Acta Cryst. D Biol. Cryst.* 67: 235 - 42). Программу Coot (Emsley, et al., (2010) *Acta Cryst. D Biol. Cryst.* 66: 486 - 501) применяли для анализа данных.

**[0468]** Остатки эпитопов определяли как аминокислоты ИЛ-27, имеющие атомы в пределах 4 Å от атомов Fab, на основании оценки с использованием NCONT в CCP4. Кроме остатков, идентифицированных ранее и перечисленных в таблице 15, в данных исследованиях обнаружили дополнительные остатки эпитопов. Все взаимодействия между ИЛ-27p28 и Fab антитела Ab1 против ИЛ-27 в пределах 4 Å представлены в таблице 16А ниже.

**Таблица 16А**

CDR	Fab антитела Ab1 против ИЛ-27	Остаток ИЛ-27 (p28)
LC-CDR1	Leu 30	Gln 37
	Phe 31	Gln 37, Leu 38, Phe 153, Ala 157
	Ser 32	Gln 37
	Ser 33	Gln 37, Leu 156, Gly 159, Phe 160, Asn 161
	Asn 34	Leu 156
	Lys 36	Glu 164
	Tyr 38	Phe 153
LC-CDR3	Ala 98	Leu 38
	Ser 99	Leu 38, Glu 42
	Ala 100	Glu 42
HC-CDR1	Ser 31	Arg 145*
HC-CDR1	Ser 52	Asp 146, His 150

	Ser 53	Leu 142, Asp 146
	Ser 54	Leu 142, Asp 143, Asp 146
	Ser 56	Leu 53, Lys 56, Asp 146
	Tyr 57	Val 49, Ser 50, Leu 53, Asp 146, Leu 147, His 150
	Tyr 59	Glu 46
	Asn 74	Leu 142**
HC-CDR3	Gly 101	Arg 149
	Arg 102	Arg 149
	Thr 103	Arg 149, Glu 164
	Ser 104	Arg 149, Arg 152, Phe 153, Leu 156
	Tyr 105	Phe 153, Leu 156, Leu 162, Pro 163*, Glu 164
	Thr 106	Arg 149, Phe 153
	Ala 107	Arg 149, His 150, Phe 153
	Thr 108	His 150
	His 110	Glu 42, Glu 46, Phe 153
	Asn 111	Arg 149

[0469] Исследования связывания и блокирования проводили с помощью ППР как для WSX-1, так и для gp130 для гетеродимера ИЛ-27 человека. ИЛ-27 человека связывался с WSX-1 с высокой аффинностью, и антитело Ab1 против ИЛ-27 проявило способность полностью ингибировать связывание (фиг. 10А). ИЛ-27 человека связывался с gp130 с более низкой аффинностью, и антитело Ab1 против ИЛ-27 не ингибировало связывание ИЛ-27 с gp130 (фиг. 10В).

[0470] Антитело Ab1 против ИЛ-27 взаимодействует со спиралью  $\alpha A$  и  $\alpha C$  и начальной частью последовательности поли-Glu (фиг. 11). CDR 2 и 3 тяжелой цепи имеют наиболее протяженные контакты с p28 (таблица 16В).

Таблица 16В. Контакты между ИЛ27-p28 и антителом Ab1 против ИЛ-27.

ИЛ27 (p28)		Fab антитела Ab1 против ИЛ-27			Расстояние (Å)	Тип
Остаток	Атом	Остаток	Атом	Петля CDR		
<b>Gln37</b>	O <sup>e1</sup>	Ser32	O <sup>g</sup>	L1	3,0	Н-связь
	C <sup>b</sup>	Phe31	C <sup>d1</sup>	L1	3,6	Гидрофобные
<b>Leu38</b>	C <sup>g</sup>	Phe31	C <sup>z</sup>	L1	3,8	Гидрофобные
<b>Glu42</b>	O <sup>e1</sup>	Ser99	O <sup>g</sup>	L3	2,8	Н-связь
<b>Glu46</b>	O <sup>e1</sup>	Tyr59	O <sup>h</sup>	H2	2,8	Н-связь
<b>Val49</b>	C <sup>g1</sup>	Tyr57	C <sup>d2</sup>	H2	3,6	Гидрофобные
<b>Ser50</b>	O <sup>g</sup>	Tyr57	O <sup>h</sup>	H2	2,7	Н-связь
<b>Leu142</b>	C <sup>d2</sup>	Ser54	C <sup>a</sup>	H2	3,9	Гидрофобные

<b>Asp146</b>	O <sup>d1</sup>	Ser53	O <sup>g</sup>	H2	2,7	Н-связь
	O <sup>d2</sup>	Ser54	O <sup>g</sup>	H2	2,7	Н-связь
	O <sup>d2</sup>	Ser56	O <sup>g</sup>	H2	2,9	Н-связь
<b>Arg149</b>	N <sup>e</sup>	Thr103	O	H3	2,8	Н-связь
	N <sup>e</sup>	Thr106	O	H3	2,8	Н-связь
	NH <sup>2</sup>	Gly101	O	H3	3,0	Н-связь
<b>His150</b>	N <sup>e2</sup>	Thr108	O <sup>g1</sup>	H3	2,8	Н-связь
	N <sup>d1</sup> , C <sup>e1</sup>	Tyr57	C <sup>e1</sup> , C <sup>d1</sup>	H2	3,5-3,6	р-стэкинг
<b>Phe153</b>	C <sup>z</sup>	His110	N <sup>d1</sup>	H3	3,8	Гидрофобные
	C <sup>d2</sup>	Ala107	C <sup>b</sup>	H3	3,6	Гидрофобные
	C <sup>e1</sup>	Tyr38	C <sup>e2</sup>	L1	3,7	Гидрофобные
<b>Leu156</b>	O	Ser33	O <sup>g</sup>	L1	2,7	Н-связь
	C <sup>d1</sup>	Tyr105	C <sup>d1</sup>	H3	3,7	Гидрофобные
	C <sup>d2</sup>	Ser33	C <sup>b</sup>	L1	3,8	Гидрофобные
<b>Leu162</b>	O	Tyr105	O <sup>h</sup>	H3	3,1	Н-связь
<b>Glu164</b>	O <sup>e1</sup>	Thr103	O <sup>g</sup>	H3	2,7	Н-связь
	O <sup>e2</sup>	Lys36	N <sup>z</sup>	L1	3,9	Ионные

[0471] На **фиг. 12** показано наложение комплексов ИЛ-27 / антитело Ab1 против ИЛ-27 и ИЛ-23 / ИЛ-23Р с использованием р28 и ИЛ-6 для выравнивания в трехмерном пространстве. Сайт связывания gp130 на ИЛ-6 перекрывается с сайтом связывания антитела Ab1 против ИЛ-27 на р28. Тем не менее, сайт связывания ИЛ-23Р на р19 не перекрывается с сайтом связывания антитела Ab1 против ИЛ-27 на р28.

[0472] На **фиг. 13** показано наложение комплексов ИЛ-27 / антитело Ab1 против ИЛ-27 и ИЛ-6 / ИЛ-6Pa / gp130 с использованием р28 и ИЛ-6 для выравнивания в трехмерном пространстве. В данном случае сайт связывания gp130 на ИЛ-6 перекрывается с сайтом связывания антитела Ab1 против ИЛ-27 на р28. Кроме того, ИЛ-6Pa выравнивается с EB1-3.

[0473] Выравнивание последовательностей различных животных показывает, что остатки р28, которые участвуют в специфических взаимодействиях с EB13, являются высоко консервативными, и то же самое верно для остатков EB13, участвующих в специфических взаимодействиях с р28 (**фиг. 14А – 15В**). Сюда входят несколько консервативных аминокислотных остатков солевых мостиков и несколько консервативных гидрофобных аминокислотных остатков, отмеченных стрелками.

[0474] Структурное выравнивание гетеродимера ИЛ-27 с ИЛ-6/ИЛ-6РА показывает, что вторичная структура, домены и альфа-углеродный остов хорошо совпадают у обоих гетеродимеров (**фиг. 16А – 16D**), и несколько взаимодействий р28 с EB13 потенциально консервативны для ИЛ-6РА (**фиг. 16D**).

[0475] Данные об аффинности связывания для ИЛ-27 человека показывают, что р28 имел слабое связывание или не вовсе связывался ни с gp130, ни с WSX-1 по отдельности (**фиг. 17**). EB13 не связывался с gp130 отдельно, но обладал умеренной аффинностью связывания с WSX-1. Высокоаффинное связывание с ИЛ27

человека наблюдалось только при наличии собранного гетеродимера. Аффинность EB13 к p28 составляла 5 нМ.

[0476] Аминокислоты в p28 человека, взаимодействующие с антителом Ab1 против ИЛ-27, в основном консервативны в мышинной последовательности (фиг. 18А.); однако антитело Ab1 против ИЛ-27 взаимодействует как с Gln37, так и с Leu162 для p28 человека, и Gln37 отсутствует в мышинной последовательности, а Leu162 соответствует Cys в мышинной последовательности (фиг. 18В). Дополнительные дисульфидные связи в p28 мыши также могут нарушать локальный структурный эпитоп, по которому связывается ЛЦ антитела Ab1 против ИЛ-27.

[0477] Также имелась неразрешенная петля CD с последовательностью поли-Glu, включающая в себя большую область положительных зарядов от остатков Arg в спирали  $\alpha$ C (фиг. 19А – 19В).

### Пример 13. Нацеливание на экспрессию ИЛ-27 при почечно-клеточной карциноме

[0478] Экспрессия ИЛ-27 повышена при почечно-клеточной карциноме (ПКК) с повышенными уровнями EB13, ИЛ-27p28 и ИЛ-27РА в опухолевой ткани ПКК по сравнению с экспрессией каждого из них в нормальной ткани почки (фиг. 20А). Высокая экспрессия каждого из EB13 (фиг. 20В), ИЛ-27РА (фиг. 20С) и ИЛ-27p28 (фиг. 20D) коррелирует со сниженной вероятностью выживания у субъектов-людей по сравнению с низкой экспрессией каждого из указанных транскриптов.

[0479] ИЛ-27 индуцирует воспроизводимый профиль экспрессии генов в активированных CD4<sup>+</sup> Т-клетках человека. Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) от отдельных доноров активировали с помощью антитела против CD3 ± рекомбинантным ИЛ-27 человека (рИЛ-27) в течение 3 суток. CD4<sup>+</sup> Т-клетки сортировали с помощью FACS и экспрессию генов анализировали с помощью микрочипа. В Т-клетках, активированных с помощью CD3 и рИЛ-27, наблюдалось повышение или снижение уровней многочисленных генов, включая повышенную экспрессию PDCD1, HAVCR2, CD274, LGALS9, GBP5, LAMP3, RGS1, IL12RB2, RSAD2, IFIT3 и IFI44L, уровни которых были повышены, а экспрессия GZMA и CD200 была снижена (фиг. 21А). 31 основной ген в профиле экспрессии ИЛ-27 в CD4<sup>+</sup> Т-клетках перечислен на фиг. 21В. Примечательно, что 15 из 31 гена были связаны с неблагоприятным исходом, а именно AIM2, ALPK1, APOL1, GBP5, IFI44, IRF1, LAMP3, LOC400696, PARP3, RGS1, SAMD9L, SOCS1, STAT1, TNFSF13B и XAF1. Двенадцать основных генов профиля экспрессии (включая STAT1, GBP5, IFI44, XAF1 и SOCS1) были связаны с неблагоприятными исходами при ПКК (фиг. 22А), но эти же гены не были связаны с неблагоприятными исходами при раке молочной железы (РМЖ) (фиг. 22В).

[0480] Кроме того, уровни EB13 в плазме крови у пациентов с ПКК могут предсказывать исход данного заболевания. У пациентов с ПКК собирали образцы сыворотки крови во время операции по удалению почки и измеряли уровни EB13 с помощью пары антител, специфичных в отношении EB13. Средние уровни EB13 были повышены в сыворотке крови пациентов с ПКК по сравнению с сывороткой крови здоровых доноров (фиг. 23А). В качестве положительного контроля использовали сыворотку крови от беременных доноров. Уровни EB13 были наиболее высокими у субъектов с ПКК стадии 4 по сравнению со стадией 2 или стадией 3 (фиг. 23В.); общая выживаемость (фиг. 23С) и выживаемость без признаков заболевания (фиг. 23D) были выше у пациентов с ПКК с низкими уровнями EB13 в сыворотке крови.

[0481] Для проверки эффективности лечения антителом Ab1 против ИЛ-27 *in vivo* в мышинной модели ПКК клетки Ренса ортотопически имплантировали в левую почку. Через трое суток после имплантации мышам внутрибрюшинно вводили антитело Ab1 против ИЛ-27 или изотипический контроль IgG1 человека (по 50 мг/кг два раза в неделю) в течение 2 недель. Через 21 сутки ткани собирали, обе почки взвешивали для

расчета чистой массы опухоли и визуально подсчитывали метастазы в легких. Несмотря на то, что средняя масса опухоли оставалась в значительной степени постоянной (фиг. 24А), метастазирование в легкие было значительно снижено у мышей, получавших антитело Ab1 против ИЛ-27, по сравнению с мышами, получавшими изотипический контроль (фиг. 24В).

[0482] Указанные данные показывают, что повышенные уровни транскриптов ИЛ-27p28, EB13 и ИЛ-27РА в опухолях пациентов с ПКК связаны с неблагоприятным прогнозом. Антитело Ab1 против ИЛ-27 демонстрирует моноактивность в ортотопической модели ПКК in vivo, а блокада ИЛ-27 с помощью антитела Ab1 против ИЛ-27 представляет собой многообещающую стратегию для пациентов с ПКК, которые имеют высокие уровни циркулирующего EB13.

#### **Пример 14. Нацеливание in vivo на ИЛ-27 с использованием антитела Ab1 против ИЛ-27 в мышинной модели ортотопической ГЦК Нера1-6**

[0483] Для изучения эффективности антитела Ab1 против ИЛ-27 in vivo на модели рака печени опухолевые клетки Нера1-6-Luc путем инъекции вводили в печень мыши, и на 5, 8, 12 и 15 сутки после имплантации животным вводили антитело Ab1 против ИЛ-27 в дозе 50 мг/кг путем в/бр инъекции (фиг. 25А). Общий поток фотонов был снижен почти до исходного уровня у мышей, получавших антитело Ab1 против ИЛ-27, по сравнению с мышами, получавшими изотипический контроль  $\text{cIgG1}$  (фиг. 25В).

[0484] Ответ на антитело Ab1 против ИЛ-27 в данной мышинной модели был дозозависимым. Мышам вводили изотипический контроль, 5 мг/кг антитела Ab1 против ИЛ-27, 25 мг/кг антитела Ab1 против ИЛ-27 или 50 мг/кг антитела Ab1 против ИЛ-27 на 5, 8, 12 и 15 сутки после имплантации (фиг. 26А). Рост опухоли был наиболее медленным, близким к базовому уровню, у мышей, получавших 25 или 50 мг/кг антитела Ab1 против ИЛ-27 (фиг. 26В – 26Г).

[0485] Чтобы определить, имеют ли значение в данной модели ранее определенные доклинические изменения в экспрессии генов, индуцированные антителом Ab1 против ИЛ-27, анализировали экспрессию ряда биомаркерных генов после введения антитела Ab1 против ИЛ-27 (фиг. 27А – 27С). 200 основных генов с наибольшей репрессией показаны в таблице 17А, а 200 основных генов с наибольшей индукцией показаны в таблице 17В. Полные списки генов с повышенной и пониженной экспрессией представлены выше в таблицах 11А – 11В.

[0486] Таблица 17А. 200 генов в печени мышей Нера1-6 с наибольшей репрессией после введения антитела Ab1 против ИЛ-27.

Ген	Кратность изменения	p-значение	Ген	Кратность изменения	p-значение
DEFB44-PS	0,18731	0,16963	GM7391	0,38252	0,02063
C1S2	0,18735	0,00760	GM7391	0,38252	0,02063
HIST1H1B	0,20429	0,13468	GM7391	0,38252	0,02063
GM15114	0,20467	0,11272	GM7391	0,38252	0,02063
GM2005	0,20501	0,01692	GM7391	0,38252	0,02063
KHDC1C	0,21082	0,08196	GM7391	0,38252	0,02063
GM2005	0,22434	0,00235	CD109	0,38422	0,08923
SERPINB7	0,22443	0,13886	TMEM173	0,38467	0,09117
SERPINB11	0,22512	0,05938	CDH17	0,38479	0,03381

CXCL3	0,22982	0,15165	KITL	0,38506	0,02871
CDH10	0,23008	0,04656	SKA3	0,38794	0,19907
MIR1949	0,23543	0,13071	PRC1	0,38977	0,07960
SLC7A11	0,23650	0,01951	MBOAT1	0,39032	0,03388
LUZP4	0,24896	0,09520	TOP2A	0,39357	0,06590
IGHV1-81	0,25160	0,51163	1700049E17RIK2	0,39548	0,00842
PTPRTOS	0,25229	0,03379	SPEER4D	0,39557	0,01189
RP1	0,25355	0,15378	HIST1H3I	0,39572	0,38176
GM15127	0,25399	0,05002	TUBA1A	0,39616	0,01385
CRISP1	0,25472	0,08655	GM22265	0,39624	0,09085
GM15107	0,25489	0,05910	TRBJ1-7	0,39684	0,15669
SERPINB5	0,25593	0,04019	KIF20B	0,39753	0,09225
GM7665	0,25600	0,00338	SERPINB2	0,39766	0,02587
TMEM252	0,25889	0,01729	GM14402	0,39768	0,24963
PNMA5	0,26178	0,09220	PLK4	0,39883	0,07277
CXCL15	0,26260	0,10373	C330027C09RIK	0,40017	0,10461
CLEC2G	0,26543	0,03883	GM15091	0,40058	0,07631
MMP13	0,26736	0,16866	NDC80	0,40091	0,07729
GM15093	0,26907	0,07413	MYBL1	0,40096	0,16592
VMN1R53	0,27031	0,06485	KIF2C	0,40131	0,07030
GM14409	0,27619	0,15580	GM12603	0,40134	0,08558
GM11884	0,27767	0,16819	CYP11A1	0,40271	0,26346
SLC16A4	0,27777	0,11590	FANCI	0,40316	0,17817
MMP12	0,27973	0,07864	CCNA2	0,40376	0,05984
KIF5C	0,28118	0,10032	RACGAP1	0,40619	0,07336
APELA	0,28255	0,06005	NCAPH	0,40648	0,11248
AFP (AΦΠ)	0,28256	0,04236	GM16094	0,40657	0,03168
IGKV1-122	0,28592	0,00900	CH25H	0,40668	0,30753
A630095E13RIK	0,29162	0,09055	GM15398	0,40844	0,10428
GM15109	0,29701	0,00582	KNTC1	0,40858	0,13345
OLFR111	0,29889	0,21068	BST1	0,40915	0,09282
TNS4	0,30067	0,03812	KIF11	0,41151	0,07520
PLEKHS1	0,30148	0,07842	GM23576	0,41226	0,26181
LNCENC1	0,30470	0,09388	SHCBP1	0,41247	0,13607
THBS1	0,30908	0,02429	IGHV1-42	0,41274	0,44744
PLATR14	0,31317	0,08123	GPRC5A	0,41537	0,03331
RASSF9	0,31383	0,11251	TNFRSF10B	0,41617	0,10473
ITGA2	0,31895	0,06993	IL23A	0,41843	0,14139
LOC102634388	0,32002	0,02127	ERICH2	0,41910	0,14436
LOC102634388	0,32002	0,02127	ANLN	0,41967	0,04088
GM15093	0,32036	0,03800	CASC5	0,41996	0,11775

CEP55	0,32092	0,10073	GM17689	0,42053	0,27734
A630038E17RIK	0,32118	0,13340	SOX4	0,42211	0,07946
GM25552	0,32317	0,12614	GM22069	0,42215	0,04943
RPS26	0,32662	0,18403	PRR11	0,42277	0,07500
STRA6	0,33040	0,04984	SEMA3C	0,42285	0,02076
GM15093	0,33144	0,04030	RETNLA	0,42307	0,04289
PSAT1	0,33163	0,09265	FRMD7	0,42356	0,02106
AKR1C18	0,33224	0,09827	TNFRSF11B	0,42500	0,05920
DEPDC1A	0,33251	0,18136	RAD54L	0,42591	0,16039
GM10439	0,33495	0,06941	GM10488	0,42650	0,00744
GM24916	0,33509	0,20312	PLAT	0,42677	0,06470
STC1	0,33666	0,08291	GM13790	0,42685	0,11605
DPPA2	0,33711	0,08874	DTL	0,42697	0,16996
E030011O05RIK	0,33714	0,04863	SERPINB9B	0,42886	0,10643
GM20756	0,33749	0,02179	ASNS	0,42974	0,04714
GM22771	0,33862	0,28971	GM15097	0,42977	0,17217
IGKV6-32	0,33990	0,44350	TMED6	0,43183	0,26485
AIM2	0,34040	0,00912	SERPINE1	0,43312	0,03450
C920009B18RIK	0,34064	0,02201	TPX2	0,43325	0,05879
BUB1	0,34878	0,07548	CENPK	0,43347	0,17724
TICRR	0,34960	0,17718	2810429I04RIK	0,43385	0,21706
MIS18BP1	0,35250	0,09094	4930461G14RIK	0,43432	0,17990
MAGEA6	0,35303	0,20666	HIST1H2AG	0,43516	0,18735
CHIL3	0,35389	0,06510	IER3	0,43524	0,14140
IGHV1-78	0,35720	0,28499	CHRNB1	0,43554	0,04999
STIL	0,35848	0,14130	GM5431	0,43690	0,13001
GM26735	0,36001	0,06537	GM13247	0,43774	0,20349
REG2	0,36041	0,49690	AI506816	0,43795	0,07730
SPRR1A	0,36134	0,00562	GM7942	0,43806	0,04319
PARPBP	0,36204	0,14708	CCNB1	0,44021	0,03617
PADI4	0,36592	0,09746	ZFP345	0,44040	0,24896
GM14139	0,36657	0,04225	IGHV8-8	0,44047	0,45075
GPC3	0,36787	0,21392	ATAD5	0,44240	0,11428
MS4A6D	0,37021	0,01764	KDEL3	0,44372	0,08725
ATP10A	0,37100	0,09774	CDC25C	0,44462	0,03533
KIF23	0,37107	0,04316	IGKV4-72	0,44464	0,18026
GM20757	0,37125	0,22483	OLFR99	0,44744	0,16218
GM2318	0,37176	0,01361	GM25544	0,44759	0,13854
GM2318	0,37176	0,01361	MIR101C	0,44785	0,08179
GM2318	0,37176	0,01361	HYDIN	0,44832	0,14992
GM2318	0,37176	0,01361	IGHV5-16	0,44859	0,32098

IGHV1-9	0,37183	0,35845	NOP58	0,44866	0,13787
CPB1	0,37389	0,54454	CEL	0,44913	0,50615
TNFSF4	0,37410	0,14201	MS4A4A	0,44926	0,11256
RNASE1	0,37521	0,29355	BCL2A1B	0,44968	0,00346
TIMP1	0,37633	0,07652	IGKV4-59	0,44969	0,49749
GM6020	0,37895	0,48362	CCL3	0,45007	0,10701
1700049E17RIK2	0,37958	0,00452	GM2933	0,45077	0,16505
IGH-VJ558	0,38192	0,43479	FAM102B	0,45149	0,13304
PRRG4	0,38250	0,10001			

[0487] Таблица 17В. 200 генов в печени мышей Нера1-6 с наибольшей индукцией после введения антитела Ab1 против ИЛ-27.

Ген	Кратность изменения	р- значение	Ген	Кратность изменения	р- значение
MUP-PS12	6,33152	0,00215	OLFR724	2,07902	0,09250
GM26184	5,61658	0,08504	GM23277	2,07764	0,09120
GKN2	4,82174	0,03776	A4GNT	2,07584	0,24306
MYH8	3,85386	0,31903	MUP21	2,07390	0,11490
MIR101B	3,69523	0,01108	GM24147	2,07383	0,26694
GKN1	3,48462	0,04511	MYBPC1	2,06732	0,13917
SLN	3,47316	0,18221	СYP3A59	2,06303	0,26277
MUC5AC	3,34061	0,06276	ACTN2	2,06253	0,14714
2310057J18RIK	3,04114	0,41002	MIR29A	2,06200	0,03405
PSCA	3,02691	0,12186	TFF1	2,06146	0,08032
GM25623	2,94838	0,01329	PLA2G1B	2,05956	0,44772
FAM83B	2,90452	0,02016	GM23021	2,05954	0,11112
GM23852	2,88192	0,07627	GM22607	2,04477	0,13834
SPTSSB	2,87259	0,09524	RPL10L	2,04430	0,06920
MIRLET7F-1	2,79416	0,04469	ACE2	2,03841	0,35049
MUP-PS16	2,77768	0,01138	PRAMEL3	2,03798	0,14902
ANXA10	2,68901	0,10472	SULT1B1	2,03237	0,24951
LGALS2	2,68519	0,13369	ARL14	2,02633	0,09522
CHIA1	2,67246	0,40779	GM11337	2,02394	0,02702
AKP3	2,66042	0,36655	CNN1	2,02048	0,02173
SLC13A1	2,62180	0,29356	LRIT2	2,01905	0,05334
GM766	2,62086	0,40345	ACOT4	2,01479	0,21202
GM24537	2,61729	0,16494	LOC100125594	2,01433	0,02079
GM24138	2,60556	0,03739	GLB1L2	2,01156	0,03963
SIS	2,58535	0,37774	GM25605	2,00818	0,13287
2210407C18RIK	2,58374	0,06005	GM15384	2,00171	0,02548
S100G	2,58040	0,38773	GM94	1,99674	0,10946

GM26354	2,54047	0,10968	OLFR1113	1,99669	0,12774
CKMT2	2,53798	0,26801	G630018N14RIK	1,99666	0,30168
GM26055	2,52487	0,21572	GM23232	1,99430	0,06721
GM5885	2,47858	0,03053	GM16378	1,99415	0,03571
AGR2	2,45816	0,18450	GM22838	1,99362	0,08752
VMN1R167	2,45428	0,09317	HSD3B5	1,99243	0,20188
GM25167	2,44373	0,02641	OLFR746	1,98892	0,03312
ATP5C1-PS	2,43743	0,04767	GM24254	1,98755	0,13006
GM24470	2,43383	0,16763	GM24232	1,98629	0,22120
MYH2	2,40309	0,16324	PRAP1	1,98616	0,37196
MIR326	2,37544	0,00590	ALPI	1,98615	0,41922
MIR122	2,37543	0,02420	MIR3964	1,98298	0,03007
MCPT9	2,37520	0,06227	GM22787	1,98276	0,01829
PSG18	2,35852	0,01151	GM26081	1,98214	0,17707
MUC6	2,35850	0,31084	GM22242	1,98012	0,31686
VMN2R115	2,35187	0,11114	IGHV1-77	1,97991	0,47423
GM25498	2,35108	0,00863	OLFR740	1,97966	0,21907
2010106E10RIK	2,33919	0,46065	OLFR1201	1,97856	0,03392
ERBB4	2,32759	0,03502	GM22654	1,97558	0,51008
LYPD8	2,31999	0,13737	OLFR747	1,97523	0,07186
CYP2A5	2,30476	0,23296	GM22521	1,97342	0,10732
BTNL5-PS	2,30131	0,16835	VMN1R172	1,97211	0,07313
GM24549	2,28941	0,11379	GM13773	1,97144	0,21792
GM24465	2,28686	0,23556	CLEC2H	1,97034	0,20412
SLC26A3	2,28613	0,34866	OLFR714	1,96697	0,08163
DPCR1	2,28459	0,06528	GM22284	1,96490	0,13765
GM11844	2,27856	0,10541	GM26342	1,96171	0,02416
CYP4A32	2,26879	0,21331	OLFR190	1,96140	0,01845
MIR1928	2,26702	0,01338	CCDC152	1,96048	0,03753
GKN3	2,26609	0,38398	GM26048	1,95935	0,18068
KRT4	2,26351	0,15392	GM24410	1,95853	0,18441
PGC	2,26227	0,25834	LGALS4	1,95650	0,02146
HIST1H2BA	2,26012	0,03903	OLFR969	1,95620	0,09460
SPRR2A3	2,25406	0,19740	GM6222	1,95616	0,09501
IGKV12-41	2,23462	0,35478	OLFR913	1,95340	0,31106
PARD3BOS3	2,22662	0,11494	4930557A04RIK	1,95314	0,06455
CLCA4B	2,22470	0,41766	GM24750	1,95027	0,23848
GM23744	2,20755	0,12172	GM23043	1,94750	0,04897
VMN2R-PS129	2,20013	0,00212	STFA1	1,94574	0,08031
GM23241	2,19443	0,16439	SUCNR1	1,94177	0,10776
MYOZ2	2,19124	0,20907	MYOM1	1,94136	0,17534

MIR192	2,19083	0,05530	KLK1B22	1,93841	0,12634
MYH1	2,18765	0,16532	GM23917	1,93358	0,19490
5033403H07RIK	2,18709	0,12308	GM15949	1,93187	0,04498
MIRLET7F-2	2,18612	0,16167	OLFR709-PS1	1,93037	0,07218
GM25009	2,18474	0,12429	OBP1A	1,92773	0,34212
MUC13	2,18238	0,44121	SULT2A1	1,92697	0,35277
PPP1R3A	2,17804	0,19680	GM24786	1,92300	0,21032
OLFR798	2,17172	0,00360	SGK2	1,91561	0,15674
SERPINA12	2,15429	0,03094	MIRLET7C-1	1,91086	0,07251
GM25864	2,15155	0,04041	VMN1R90	1,90960	0,10180
N-R5S155	2,15090	0,06906	GM23342	1,90947	0,02984
CYP2C65	2,14174	0,14376	REG3G	1,90771	0,15987
GM14750	2,14105	0,05245	GM24839	1,90586	0,26313
GM23026	2,13427	0,08632	N-R5S157	1,90509	0,11667
HAMP2	2,12517	0,26750	GM25023	1,90492	0,02529
GM24527	2,12509	0,07768	CES2B	1,90228	0,13857
OLFR891	2,12488	0,07314	IGHV8-11	1,90067	0,15551
OLFR68	2,12477	0,17461	GM25982	1,89862	0,05418
TRAV6-2	2,12335	0,16838	ATP4A	1,89851	0,39680
CYP4F40	2,11940	0,18482	GM26162	1,89809	0,01472
TRDN	2,11902	0,23956	PNPLA3	1,89778	0,00313
CFTR	2,11685	0,32080	AU015336	1,89289	0,07944
XIRP2	2,10948	0,20311	GM24621	1,89139	0,08404
CYP8B1	2,10691	0,09121	CYP2C40	1,89106	0,40000
GM23629	2,10532	0,05899	GM25602	1,89074	0,15275
GM25076	2,10385	0,09801	ADGRG7	1,88894	0,32051
1700080G11RIK	2,10309	0,16206	SLC30A10	1,88809	0,12880
N-R5S96	2,09968	0,04925	GM25836	1,88784	0,19345
GM11027	2,09669	0,30087	GM25629	1,88723	0,11919
SLC22A29	2,08861	0,26634	GM24861	1,88583	0,03961
GSTT2	2,08187	0,23716	GM21057	1,88436	0,08496
GM23911	2,08111	0,19027			

[0488] Примечательно, было обнаружено, что антитело Ab1 против ИЛ-27 подавляет несколько ключевых ингибиторных генов, включая экспрессию PD-L1, TIGIT и АФП (фиг. 28B – 28D), без существенных изменений в экспрессии EB13, ИЛ-27 и ИЛ-27РА (фиг. 28А). Было также обнаружено, что путь ТФР-β подавляется после введения антитела Ab1 против ИЛ-27, при сниженной экспрессии TNFRSF10B, TNFRSF1a и PDGFA (фиг. 28С и фиг. 28Е).

[0489] Кроме того, воздействие антителом Ab1 против ИЛ-27 изменяет инфильтрацию опухолевых клеток иммунной системы. Антитело Ab1 против ИЛ-27 способствует повышению уровней транскриптов макрофагов и NK-клеток в микроокружении опухоли (МОО; фиг. 29А). В частности, антитело Ab1 против

ИЛ-27 повышает CD206 и CD163 (**фиг. 29В**), которые являются ключевыми маркерами, ассоциированными с макрофагами; и было обнаружено, что антитело Ab1 против ИЛ-27 модулирует специфические НК-ассоциированные рецепторы (**фиг. 30**). Неоднородность модуляции маркера НК предполагает, что антитела Ab1 против ИЛ-27 влияет на функцию НК, а не только на инфильтрацию в опухолях HEPА1-6. В дополнение к этому, различные другие маркеры клеточной поверхности демонстрировали модулированную экспрессию после обработки антителом Ab1 против ИЛ-27 (**фиг. 31**).

#### **Пример 15. TNFSF15 как биомаркер ингибирования ИЛ-27**

**[0490]** TNFSF15 (растворимый фактор фактора некроза опухоли 15), также известный как TL1A (ФНО-подобный лиганд 1А) или VEGFI (ингибитор фактора роста эндотелия сосудов), представляет собой цитокин из семейства факторов некроза опухоли, который, как известно, играет роль в ингибировании ангиогенеза (ссылка: VEGI, a novel cytokine of the tumor necrosis factor family, is an angiogenesis inhibitor that suppresses the growth of colon carcinomas in vivo. FASEB J.1999 Human Genome Sciences, Inc.) и может действовать как костимулятор Т-клеток, индуцируя выработку воспалительных цитокинов (см. Работы Migone et al., *Immunity* 16 (3): 479 - 92 (March 2002); Jin et al., *Mucosal Immunology* 6: 886 - 99 (December 19, 2012)). Было показано, что TNFSF15 активируется после блокирования ИЛ-27 после лечения ингибитором ИЛ-27, подтверждая его полезность в качестве биомаркера при оценке эффективности ингибирования ИЛ-27 после введения терапевтического средства, предназначенного для ингибирования ИЛ-27.

**[0491]** ИЛ-27 ингибировал продуцирование цитокинов ИЛ-17А, ИФН- $\gamma$  (или ИФН-гамма) и ФНО- $\alpha$  (или ФНО-альфа) в активированных МКПК. Объединенные образцы МКПК человека от 3 доноров стимулировали с помощью антитела против CD3 (0,25 мкг/мл) на протяжении 3 суток в присутствии или в отсутствие ИЛ-27 (100 нг/мл). Надосадочные жидкости собирали и исследовали на предмет влияния ИЛ-27 на ИЛ-17А, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-10 с помощью цитометрического анализа с микрогранулами; ИЛ-27 привел к снижению продуцирования ИЛ-17А, ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  и не влиял на продуцирование ИЛ-10 (**фиг. 32А – 32D**).

**[0492]** И наоборот, блокирование ИЛ-27 с помощью антитела Ab1 против ИЛ-27 в активированных МКПК привело к повышению продуцирования цитокинов. МКПК от 3-4 отдельных доноров стимулировали с помощью антитела против CD3 (0,25 мкг/мл) в течение 4 суток в присутствии или в отсутствие антитела Ab1 против ИЛ-27 (1 мкг/мл). Надосадочные жидкости собирали и исследовали на предмет влияния на ИЛ-17А, ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-10 с помощью цитометрического анализа с микрогранулами; антитело Ab1 против ИЛ-27 привело к повышению продуцирования ИЛ-17А, ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  (**фиг. 33А – 33D**).

**[0493]** Чтобы определить другие изменения в экспрессии генов, которые можно было бы отслеживать как фармакодинамические или биомаркерные показатели активности антитела Ab1 против ИЛ-27, провели определение профилей экспрессии генов путем анализа активированных МКПК с помощью микрочипов. МКПК от трех отдельных доноров стимулировали с помощью антитела против CD3 (0,25 мкг/мл) в присутствии или в отсутствие антитела Ab1 против ИЛ-27 (1 мкг/мл) в течение 24 часов. Из каждого образца выделяли РНК и обрабатывали ее для определения профиля экспрессии генов с помощью микрочипов для определения эффекта ингибирования ИЛ-27. Несколько генов были дифференциально экспрессированы, что видно на графиках рассеяния, после ингибирования ИЛ-27 антителом Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с изотипическим контролем, включая гены MMP1, MMP10 и TNFSF15, как показано в таблице 18. **Фиг. 34** представляет собой график рассеяния, отображающий  $\log_2$ -кратное изменение экспрессии генов после ингибирования ИЛ-27 по сравнению с контролем (ось x) в сравнении со значимостью (p-значение) изменений экспрессии генов после обработки антителом Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с контролем (ось y). Уровень транскрипта TNFSF15 значительно повысился после блокады ИЛ-27. Уровень экспрессии гена TNFSF15

воспроизводимым образом повысился после воздействия антителом Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с воздействием изотипическим контролем у всех 3 отдельных доноров, как показано на **фиг. 35**.

**Таблица 18. Профили транскрипции в МКПК *in vitro* после ингибирования ИЛ-27**

**200 генов с наибольшей индукцией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

Обозначение гена	Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]	p-значение: антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1
LOC105375002	1,645118	0,000457
OR2AG1	1,633194	0,02143
SNORD115-10	1,61366	0,042825
MIR548AK	1,594121	0,047753
VTRNA2-1	1,539071	0,018135
LOC105375837	1,528625	0,042765
MIR4540	1,506249	0,014019
TNFSF15	1,48874	0,00196
LOC105377950	1,474449	0,017305
LOC105375291	1,455875	0,037183
LOC392232	1,442977	0,034733
IFNA6	1,435639	0,032471
MIG7	1,433659	0,011024
LOC105369473	1,428921	0,045657
GAGE1	1,427557	0,025117
LOC100506098	1,426037	0,008256
LOC105377643	1,416114	0,011246
LOC105370479	1,414996	0,016319
LOC101927342	1,387702	0,001705

**200 генов с наибольшей репрессией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

Обозначение гена	Кратность изменения [Антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]	p-значение Антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1
MIR519B	0,542762	0,017631
MIR4272	0,633358	0,045813
MIR4712	0,662079	0,013235
MIR4738	0,666032	0,008113
MIR4668	0,676758	0,002044
MIR634	0,67895	0,010185
LINC01233	0,695199	0,03774
MIR19B2	0,706896	0,045961
LOC105378073	0,712528	0,010495
LOC105370770	0,716513	0,010176
KCCAT198	0,72041	0,040506
LOC101927552	0,721552	0,002026
MIR1302-1	0,72292	0,031298
APOH	0,729982	0,018512
OR56A3	0,731084	0,014148
SDIM1	0,73208	0,001115
LOC101928395	0,736856	0,03984
LCE1F	0,739268	0,025556
LOC100129476	0,740716	0,005034

**200 генов с наибольшей индукцией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение: антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
SPO11	1,384138	0,019734
LOC105374146	1,372296	0,042536
MMP10	1,35563	0,035631
MIR513A1	1,349552	0,003188
LOC105373187	1,33789	0,011411
MIR302E	1,329896	0,049451
LOC105374715	1,328902	0,039526
CRYGC	1,326275	0,002843
NR0B1	1,322219	0,03641
LOC105372823	1,322197	0,008592
KRT74	1,321165	0,032883
LOC105375538	1,319595	0,019808
LOC105378220	1,319239	0,004044
SNORD116-23	1,314349	0,035597
ROCK1P1	1,311881	0,009781
LOC105375734	1,310484	0,01621
MIR874	1,30894	0,00796
LOC102467216	1,306665	0,029327
MIR18B	1,305409	0,02179
LOC105378688	1,30501	0,005119
PIPSL	1,303637	0,013713
LOC105374484	1,302454	0,01914

**200 генов с наибольшей репрессией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения [Антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение Антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
C6orf10	0,741035	0,045023
DDX46	0,744975	0,031001
MIR544B	0,745497	0,000331
LOC105371152	0,745893	0,001107
HBZ	0,746633	0,032099
LINC00173	0,75377	0,046112
MIR95	0,754058	0,029894
LOC105369893	0,758578	0,042461
RNU6-58P	0,761545	0,022808
EPYC	0,763574	0,015155
WWC2-AS1	0,764054	2,67E-05
LOC105370359	0,766521	0,01068
MIR519A2	0,766808	0,045329
NSAP11	0,768519	0,020859
TDGF1	0,771131	0,010419
LOC646588	0,771593	0,022006
LOC101927281	0,773448	0,028332
LOC105374670	0,777386	0,028457
A2MP1	0,778456	0,001304
SLC7A11	0,779049	0,048778
PRH2	0,780025	0,029219
SNORD114-19	0,781894	0,040583

**200 генов с наибольшей индукцией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение: антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
LRRC46	1,299851	0,040688
SMG7-AS1	1,298713	0,039351
LOC105378749	1,295692	0,02812
CT55	1,295094	0,029095
MPDZ	1,288722	0,005299
HIST1H4B	1,288471	0,02363
LOC105379223	1,287376	0,007854
POM121L4P	1,28655	0,006754
HIST1H2AH	1,285763	0,045671
OR6C74	1,284028	0,021357
KRT33A	1,28161	0,041615
PLCE1-AS1	1,280197	0,023448
ALX1	1,279203	0,042523
KCNN3	1,274928	0,01882
LOC105377124	1,274321	0,01119
BMP15	1,272919	0,013839
RPLP0P2	1,271495	0,003828
LOC105374024	1,271237	0,040873
OR4C5	1,270368	0,008923
LOC105376234	1,269085	0,000332
LINC01591	1,268954	0,010567
LOC101928663	1,265242	0,003128
LOC105375890	1,264046	0,005132
IGHV3-16	1,2619	0,010831
TRIM55	1,260372	0,014182

**200 генов с наибольшей репрессией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения [Антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение Антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
LOC105373550	0,78246	0,003341
LOC101927413	0,785604	0,025946
MIR765	0,785901	0,027588
ALDH2	0,787067	0,03251
LOC105370607	0,787785	0,029023
ZNF717	0,788458	0,019536
MIR7-2	0,78937	0,024631
OR2Y1	0,791148	0,005362
FCGR1C	0,791398	0,036053
LOC102723879	0,792285	0,021851
LOC153910	0,793028	0,026202
MIR410	0,793302	0,007555
LOC102725105	0,794407	0,019386
LOC105373461	0,798351	0,021561
LOC105373109	0,799694	0,035357
LOC105376899	0,8002	0,011314
LOC105375857	0,800606	0,049069
LOC105371883	0,802577	0,001618
MIR3121	0,804293	0,01562
KRTAP19-2	0,805488	0,007923
LOC105370057	0,805791	0,036764
LOC105375969	0,806373	0,002891
TMED3	0,807779	0,049844
LOC105371856	0,809355	0,000543
EYA1	0,809515	0,008405

**200 генов с наибольшей индукцией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение: антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
LOC105371018	1,259721	0,026344
LOC105371976	1,256944	0,030406
LOC100129345	1,256654	0,011358
LOC105375875	1,254562	0,047657
TM4SF1	1,253654	0,008913
LOC105375273	1,25346	0,035173
LOC101928279	1,252743	0,015819
MIR4493	1,251366	0,046562
LOC105376425	1,249945	0,029786
LOC105376243	1,248505	0,004647
OR4K17	1,24847	0,035361
LINC00865	1,248322	0,007719
CAV3	1,246213	0,024171
LOC105369830	1,244553	0,000338
RS1	1,244259	0,009886
LOC101929284	1,243628	0,009664
SPATA17-AS1	1,243442	0,036463
C9orf129	1,241344	0,008005
TEX12	1,239195	0,039282
OLIG2	1,235907	0,016016
SRGAP1	1,232365	0,0168

**200 генов с наибольшей репрессией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения [Антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение Антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
LOC105372147	0,810403	0,018231
SNORD115-20	0,81087	0,01113
LOC105378424	0,812013	0,025289
LOC105379104	0,812998	0,026458
LOC105378078	0,815137	0,043079
PCAT18	0,815152	0,012051
CRYBA1	0,815488	0,008079
DOCK4-AS1	0,816945	0,003652
PFN4	0,817389	0,017892
LOC105373456	0,817412	0,047871
LOC105376207	0,817593	0,03227
RUFY4	0,817735	0,047204
PGM5P2	0,820132	0,047774
FLJ20712	0,822198	0,042585
LOC105378741	0,822688	0,023776
KIR3DL2	0,822791	0,017144
IRS4	0,824149	0,020883
RNF175	0,824277	0,040132
MIR4473	0,824601	0,01576
C21orf62-AS1	0,825875	0,029134
TPIIP3	0,826368	0,005535

**200 генов с наибольшей индукцией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение: антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
LOC105374323	1,23136	0,006316
MIR1283-1	1,230642	0,005018
GJD4	1,229305	0,016043
LOC105374770	1,229204	0,023076
IGFL2	1,226273	0,0209
LOC105376944	1,225754	0,017134
ALG1L	1,224177	0,002154
PCDHB18P	1,223959	0,009905
RIMBP2	1,223519	0,039249
OR52B4	1,22324	0,024734
ADGRL2	1,223099	0,02921
SCG5	1,222368	0,013456
LOC105376570	1,221999	0,007463
LOC654841	1,221214	0,016472
HAS2-AS1	1,221198	0,047307
SPATA24	1,220361	0,009933
LINC01538	1,218128	0,007969
CCDC85C	1,217577	0,040344
LOC105370571	1,216124	0,013425
LOC101927499	1,214266	0,029007
TFPI2	1,213888	0,020451
TSSK3	1,212747	0,003353
LOC105371818	1,21189	0,040895
NPY1R	1,211641	0,033039
LOC105376530	1,211121	0,008511

**200 генов с наибольшей репрессией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения [Антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение Антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
OR6K2	0,82656	0,027951
LOC105375971	0,827067	0,028154
LOC105377841	0,827522	0,046396
LOC105370772	0,828585	0,019601
OR5H6	0,828925	0,033792
LOC400958	0,829718	0,027201
KCNAB1-AS2	0,830199	0,046563
ANXA8L1	0,830719	0,017418
LOC102724520	0,831113	0,019589
ALS2CR11	0,831379	0,005442
LINC01052	0,831661	0,038213
MIR492	0,8348	0,041657
LOC101928119	0,835502	0,004564
SYT4	0,836312	0,025009
LOC101928421	0,836388	0,04031
CASC23	0,838526	0,026392
LOC105375855	0,838859	0,027901
LINC00366	0,839834	0,009281
DEPDC7	0,841512	0,035067
LOC102724330	0,842675	0,033285
PLA2G2D	0,843078	0,032033
LINC01166	0,844555	0,044378
RPE65	0,845494	0,005261
GLIS3	0,845755	0,047774
LINC01523	0,84612	0,021712

**200 генов с наибольшей индукцией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение: антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
EVX1-AS	1,208195	0,026851
NPAS3	1,207602	0,019453
OR51Q1	1,206806	0,037877
LOC101927418	1,206024	0,018913
SSTR2	1,20578	0,043155
LOC653653	1,205761	0,036703
LOC105372249	1,203904	0,010203
LOC102723639	1,203543	0,007388
LOC105375476	1,203038	0,015508
FKBP7	1,201988	0,042042
HRAT56	1,201942	0,020195
MIR4778	1,201939	0,017579
LOC105378180	1,201664	0,020417
SCARA3	1,200146	0,008278
LOC101930294	1,199177	0,022741
GUCY1A2	1,197934	0,000492
MGAM2	1,197312	0,042246
TEX14	1,197177	0,037082
OR2L13	1,19687	0,022817
IGSF10	1,195837	0,02574
SFRP2	1,194806	0,008784
GALNT16	1,194743	0,022064
TM4SF19	1,194237	0,042563
LOC101927055	1,194215	0,029334
XIRP2-AS1	1,194173	0,045563
KCNJ16	1,194028	0,018938

**200 генов с наибольшей репрессией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения [Антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение Антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
LOC105374787	0,84724	0,001573
IGLV3-32	0,84882	0,010713
LOC105373595	0,849597	0,020159
LOC728040	0,849791	0,01671
LINC00597	0,849976	0,037685
MIR3591	0,850417	0,045077
KRTAP10-3	0,851393	0,03041
ZC3H12B	0,853207	0,026583
LOC105370690	0,853241	0,001048
ZIC3	0,853712	0,039829
FGF10-AS1	0,853729	0,035366
PMS2P5	0,854195	0,048446
SUGT1P1	0,854792	0,034214
LOC105369293	0,855263	0,044491
DEFB119	0,85586	0,008256
LOC105369488	0,856419	0,018871
NRXN1	0,856769	0,047832
LVCAT8	0,856829	0,028297
KIZ-AS1	0,857975	0,033864
LOC105378283	0,858492	0,036091
MIR1290	0,858598	0,031938
GKAP1	0,858622	0,042287
LGR5	0,858793	0,01244
NUDT10	0,85898	0,015489
DSCAM-AS1	0,85983	0,003654
LOC105376640	0,86136	0,004118

**200 генов с наибольшей индукцией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение: антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
LOC105370561	1,194006	0,046886
ASIC2	1,193784	0,020987
LOC401191	1,19219	0,013408
INCA1	1,189251	0,007965
LOC105376161	1,188411	0,016143
ADAMTS3	1,188383	0,048302
LOC101928231	1,187861	0,031467
CMYA5	1,187321	0,024627
IGSF5	1,187268	0,046046
MIR3177	1,187017	0,041887
GPC4	1,186929	0,023815
OC90	1,186462	0,046711
ST8SIA6-AS1	1,185617	0,034159
SPDYE4	1,185393	0,007728
CHODL-AS1	1,185235	0,029759
USP17L17	1,184052	0,037856
LOC105376975	1,182382	0,011412
LOC101927109	1,180499	0,008781
CLCNKB	1,179758	0,033508
NR1I2	1,179102	0,020533
CASC17	1,179066	0,018346
FAM19A3	1,177994	0,002009
LOC105375586	1,177235	0,025561
SUMO1P3	1,176228	0,027566
FLJ44874	1,175661	0,037981
NACAP1	1,175123	0,02547

**200 генов с наибольшей репрессией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения [Антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение Антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
LOC105377693	0,862866	0,038576
SFTA3	0,863502	0,038347
CYYR1-AS1	0,864454	0,033992
C9orf3	0,864736	0,006764
LOC105373886	0,864772	0,012476
LOC105370060	0,865766	0,0341
CTBP2	0,866251	0,009633
LOC101927328	0,86679	0,033119
ZNF449	0,866794	0,036778
OGH	0,86879	0,02991
MAP1LC3B2	0,869085	0,00058
АСПН	0,87022	0,049977
LOC105370018	0,873226	0,033161
LOC105376347	0,87418	0,033977
OR52D1	0,874677	0,037917
SFTA1P	0,87492	0,012883
LOC105376658	0,877883	0,038524
LINC00092	0,878605	0,03258
ERVK3-2	0,878835	0,001504
LOC105379385	0,878896	0,02955
ATP8B3	0,879183	0,00631
CTRB2	0,880249	0,025135
LINC01527	0,880518	0,040258
KRTAP19-7	0,880746	0,030687
LOC105376244	0,881151	0,036515
LOC105376554	0,881259	0,022378

**200 генов с наибольшей индукцией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение: антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
PTPN3	1,175009	0,028207
SSX2B	1,174369	0,003748
SSX2B	1,174369	0,003748
LOXHD1	1,173847	0,008937
LINC01104	1,172936	0,038443
SERPINI1	1,172725	0,00357
LOC101928387	1,172215	0,007858
CDH12	1,171839	0,00615
LPIN3	1,171832	0,027473
LOC105369575	1,171058	0,022101
SHC3	1,170409	0,014611
AIFM3	1,170074	0,001628
LOC105370564	1,16947	0,031193
KCNJ14	1,169446	0,03716
LOC102723323	1,16941	0,005804
LOC101929608	1,169147	0,005278
LINC01039	1,168287	0,028847
LOC105374980	1,168286	0,039283
GAL	1,167357	0,013476
MIR107	1,1655	0,014498
SCGB1A1	1,165175	0,007183
LOC101927277	1,164914	0,022585
LMOD3	1,164303	0,013973
MIR520G	1,163434	0,033228
LINC01618	1,162641	0,049271

**200 генов с наибольшей репрессией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

<b>Обозначение гена</b>	<b>Кратность изменения [Антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]</b>	<b>p-значение Антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1</b>
ZNF30	0,8823	0,024368
LINC00894	0,88431	0,020883
MIR592	0,884366	0,023417
LOH12CR2	0,886427	0,036694
ZNF846	0,887147	0,019874
LINC01202	0,887201	0,036865
CACNG4	0,8877	0,031884
LOC642648	0,888364	0,019056
LOC105370526	0,888491	0,002669
TRIM45	0,889074	0,046329
AQP11	0,889428	0,005461
ANKEF1	0,889878	0,019532
PTGDR2	0,890525	0,042594
LOC100129869	0,891023	0,036875
RBM12B-AS1	0,892387	0,00632
LOC105378081	0,894442	0,029207
MIR365A	0,895999	0,04973
LINC00581	0,896004	0,048047
LYPD8	0,896025	0,042973
OR14I1	0,896295	0,007798
FAM217A	0,89866	0,019317
TMEM254-AS1	0,898681	0,049183
LARS2-AS1	0,898922	0,014049
CCDC150	0,899017	0,002703
GLI1	0,899604	0,00209

**200 генов с наибольшей индукцией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

Обозначение гена	Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]	p-значение: антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1
LOC101929528	1,16255	0,024828
LOC105375710	1,162468	0,036178
LOC102724732	1,162206	0,015044
GEM	1,161606	0,005818
HLX-AS1	1,161435	0,03007
LOC441239	1,160728	0,018365
LOC105373823	1,157242	0,000638
TINAG	1,157194	0,039893
MFAP2	1,155841	0,026956
TUB-AS1	1,154582	0,031326

**200 генов с наибольшей репрессией,  
вызванной ингибированием ИЛ-27**

Обозначение гена	Кратность изменения [Антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]	p-значение Антитело Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с IgG1
CD163L1	0,90077	0,019563
MAP2K2	0,901533	0,028712
DIRC3	0,901772	0,047553
IQCC	0,901863	0,009081
IRX6	0,901966	0,041501
TRIM63	0,903387	0,048605
SPATA18	0,90354	0,004953
LPEQ6126	0,903553	0,030286
RIPPLY3	0,905238	0,027728
ZNF192P1	0,905716	0,021822

[0494] В последующем эксперименте объединенные образцы МКПК человека либо стимулировали с помощью антитела против CD3 (0,25 мкг/мл) в течение 24 часов, либо оставляли без стимуляции, в присутствии двух разных лотов антитела Ab1 против ИЛ-27 (1 мкг/мл) или изотипического контроля. Собирали РНК и определяли относительное количество (ОК) TNFSF15 с помощью количественной ПЦР, измеряя транскрипты TNFSF15 с использованием геноспецифических зондов Taqman. Полученные результаты подтвердили повышение экспрессии TNFSF15 после ингибирования ИЛ-27, и было обнаружено, что оно зависит от активации клеток иммунной системы, поскольку экспрессия TNFSF15 не повышалась после воздействия антитела Ab1 против ИЛ-27 в покоящихся МКПК, как показано на **фиг. 36А – 36В**.

[0495] Относительное повышение уровня транскрипта TNFSF15 дополнительно усиливалось при добавлении моноцитов в культуры МКПК. Объединенные образцы МКПК человека либо оставляли в покоящемся состоянии (покоящиеся МКПК), либо в МКПК добавляли моноциты, выделенные из МКПК, в соотношении 1 : 2 (покоящиеся МКПК + моноциты), либо моноциты оставляли в покоящемся состоянии (покоящиеся моноциты), либо МКПК активировали с помощью антитела против CD3 (0,25 мкг/мл) (активированные МКПК), либо в МКПК добавляли моноциты, выделенные из МКПК, в соотношении 1 : 2, и активировали их с помощью антитела против CD3 (0,25 мкг/мл) (активированные МКПК + моноциты). Клетки культивировали в течение 24 часов, затем выделяли РНК для определения уровней TNFSF15 с помощью количественной ПЦР. Значения, представленные на **фиг. 37**, отображают кратность изменения транскрипта TNFSF15 после ингибирования ИЛ-27 антителом Ab1 против ИЛ-27 по сравнению с изотипическим контролем.

[0496] Эффект повышения уровней транскрипта TNFSF15 был специфичен для блокады ИЛ-27 и не наблюдался с другими антителами, нацеленными на CD39 или CD112R, как показано на **фиг. 38**. В данном случае объединенные образцы МКПК человека дополняли макрофагами, происходящими из моноцитов, и стимулировали с помощью антитела против CD3 (0,25 мкг/мл) в течение 24 часов в присутствии контрольного антитела IgG1, антитела против ИЛ-27 (антитела Ab1 против ИЛ-27 (1 мкг/мл), антитела IgG4 против CD39 (1 мкг/мл), антитела IgG1 против CD112R (1 мкг/мл) или антитела IgG4 против CD112R (1 мкг/мл). РНК собирали через 24 часа; транскрипт TNFSF15 измеряли в надосадочных жидкостях от клеточных культур с использованием набора для ТИФА Human TL1A/TNFSF15 DuoSet ELISA (R & D Systems).

[0497] Кроме того, как показано на **фиг. 39А** и **фиг. 39В**, также наблюдалось повышение уровня секретируемого белка TNFSF15 после блокирования ИЛ-27 антителом Ab1 против ИЛ-27 в активированных МКПК, что характеризовалось замедленной кинетикой по сравнению с транскриптом (**фиг. 39А – 39В**). Объединенные образцы МКПК человека дополняли макрофагами, происходящими из моноцитов, и стимулировали с помощью антитела против CD3 (0,25 мкг/мл) в присутствии контрольного IgG1 или антитела против ИЛ-27 (антитело Ab1 против ИЛ-27, 1 мкг/мл). РНК собирали в 1, 2 и 5 сутки и определяли количество транскриптов (ОК) TNFSF15 с помощью количественной ПЦР для каждой временной точки. Культуральные надосадочные жидкости собирали в разное время; белок TNFSF15 измеряли с помощью сэндвич-ТИФА.

**Формула изобретения**

1. Выделенное антитело, которое проявляет антагонизм в отношении ИЛ-27 человека, или антигенсвязывающая часть указанного антитела, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть специфически связываются с эпитопом, содержащим одну или большее число из следующих аминокислот: (i) аминокислот с 37 по 56 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28); (ii) аминокислот с 142 по 164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28); или (iii) как (i), так и (ii).
2. Антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 1, отличающиеся тем, что указанный эпитоп содержит одну или большее число из аминокислот Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 или Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).
3. Антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 1 или п. 2, отличающиеся тем, что указанный эпитоп содержит Asp146, Arg149 и (или) Phe153 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).
4. Антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 3, отличающиеся тем, что указанный эпитоп дополнительно содержит His150 и (или) Leu156 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).
5. Антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 3 или п. 4, отличающиеся тем, что указанный эпитоп дополнительно содержит Gln37, Leu38, Glu42, Leu142 и (или) Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).
6. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 3-5, отличающиеся тем, что указанный эпитоп дополнительно содержит Glu46, Val49, Ser50 и (или) Leu162 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).
7. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-6, отличающиеся тем, что указанный эпитоп состоит или по существу состоит из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu142, Asp146, Arg149, His150, Phe153, Leu156, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).
8. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-6, отличающиеся тем, что указанный эпитоп дополнительно содержит одну или большее число аминокислот Leu53, Lys56, Asp143, Leu147, Arg152, Ala157, Gly159, Phe160 или Asn161 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).
9. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-6, отличающиеся тем, что указанный эпитоп дополнительно содержит одну или большее число аминокислот Leu53, Lys56, Asp143, Arg145, Leu147, Arg152, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161 или Pro163 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).
10. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-6, отличающиеся тем, что указанный эпитоп состоит или по существу состоит из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56,

Leu142, Asp143, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

11. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-6, отличающиеся тем, что указанный эпитоп состоит или по существу состоит из Gln37, Leu38, Glu42, Glu46, Val49, Ser50, Leu53, Lys56, Leu142, Asp143, Arg145, Asp146, Leu147, Arg149, His150, Arg152, Phe153, Leu156, Ala157, Gly159, Phe160, Asn161, Leu162, Pro163 и Glu164 в соответствии с SEQ ID NO: 2 (ИЛ-27p28).

12. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-11, содержащие CDR1 тяжелой цепи, CDR2 тяжелой цепи, CDR3 тяжелой цепи, CDR1 легкой цепи, CDR2 легкой цепи и CDR3 легкой цепи, отличающиеся тем, что (i) указанная CDR1 легкой цепи состоит из N-XXXXXXLFSSNXKXYXX-C, указанная CDR3 легкой цепи состоит из N-XXXASAXXX-C, указанная CDR2 тяжелой цепи состоит из N-XXSSXSXYXXXXXXXXX-C и указанная CDR3 тяжелой цепи состоит из N-XXXXGRTSYTATXHNXXXX-C, где X представляет собой любые аминокислоты.

13. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-12, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из:

(i) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 9, 10 и 11, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 17, 18 и 19, соответственно;

(ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 31, 32 и 33, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 39, 40 и 41, соответственно;

(iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 53, 54 и 55, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 61, 62 и 63, соответственно;

(iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 75, 76 и 77, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 83, 84 и 85, соответственно;

(v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 97, 98 и 99, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 105, 106 и 107, соответственно; или

(vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 119, 120 и 121, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно.

14. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-12, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат CDR тяжелой и легкой цепей, выбранные из группы, состоящей из:

(i) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 12, 13 и 14, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 20, 21 и 22, соответственно;

(ii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 34, 35 и 36, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 42, 43 и 44, соответственно;

(iii) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 56, 57 и 58, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 64, 65 и 66, соответственно;

(iv) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 78, 79 и 80, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 86, 87 и 88, соответственно;

(v) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 100, 101 и 102, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 108, 109 и 110, соответственно; или

(vi) последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO: 122, 123 и 124, соответственно, и последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленных в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

15. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-14, отличающиеся тем, что указанная CDR1 тяжелой цепи не состоит из N-GFTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]-C (SEQ ID NO: 144) и (или) указанная CDR2 тяжелой цепи не состоит из N-ISSS[S/G][S/A]YI-C (SEQ ID NO: 146).

16. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-15, отличающиеся тем, что указанная CDR1 тяжелой цепи не состоит из N-FTF[S/A/R][S/R][T/Y][G/S]MN-C (SEQ ID NO: 148) и (или) указанная CDR2 тяжелой цепи не состоит из N-[G/S]ISSS[S/G][S/A]YI[L/Y]YADSVKG-C (SEQ ID NO: 149).

17. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-16, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат:

(i) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-ISSSXXYI-C (SEQ ID NO: 147), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 121; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 127, 128 и 129, соответственно; или

(ii) CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-FTFXXXXMN-C (SEQ ID NO: 150), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-XISSSXXYIXYADSVKG-C (SEQ ID NO: 151), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, представленную в SEQ ID NO: 124; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, представленные в SEQ ID NO: 130, 131 и 132, соответственно.

18. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-17, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть не содержат: CDR1 тяжелой цепи, состоящую из N-GFTFXXXX-C (SEQ ID NO: 145), CDR2 тяжелой цепи, состоящую из N-IXXXXXXX-C (SEQ ID NO: 152), и последовательность CDR3 тяжелой цепи, состоящую из N-AR[X]<sub>n=6-15</sub>DX-C (SEQ ID NO: 153); и CDR1 легкой

цепи, состоящую из N-QS[X]<sub>n=1-3</sub>SS[X]<sub>n=0-4</sub>Y-C (SEQ ID NO: 154), CDR2 легкой цепи, состоящую из N-XXS-C (SEQ ID NO: 155), и последовательность CDR3 легкой цепи, состоящую из N-QQXXXXP[X]<sub>n=0-1</sub>T-C (SEQ ID NO: 156), соответственно.

19. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-18, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть проявляют по меньшей мере одно или большее число из следующих свойств:

- (i) связываются с ИЛ-27 человека с равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ), равной 15 нМ или меньше;
  - (ii) блокируют связывание ИЛ-27 с рецептором ИЛ-27;
  - (iii) ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке;
  - (iv) ингибируют или снижают опосредованное ИЛ-27 ингибирование экспрессии CD161 в клетке;
  - (v) ингибируют или снижают опосредованную ИЛ-27 экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке;
- и
- (vi) индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки.

20. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-19, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть связываются с ИЛ-27 человека с равновесной константой диссоциации ( $K_D$ ), равной 15 нМ или меньше.

21. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-20, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке.

22. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 21, отличающиеся тем, что указанная клетка представляет собой клетку иммунной системы или раковую клетку.

23. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-22, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке.

24. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 23, отличающиеся тем, что указанная клетка представляет собой клетку иммунной системы.

25. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-24, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке.

26. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 25, отличающиеся тем, что указанная клетка представляет собой клетку иммунной системы.

27. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 26, отличающиеся тем, что указанная клетка представляет собой раковую клетку.
28. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 27, отличающиеся тем, что указанная клетка представляет собой раковую клетку, и отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 в раковой клетке.
29. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-28, отличающиеся тем, что указанные антитело или его антигенсвязывающая часть индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки.
30. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 29, отличающиеся тем, что указанные один или большее число цитокинов представляют собой ИФН- $\gamma$  (или ИФН-гамма), ИЛ-17 или ФНО- $\alpha$  (или ФНО-альфа).
31. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-30, отличающиеся тем, что указанное антитело выбрано из группы, состоящей из антитела IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE.
32. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по п. 31, отличающиеся тем, что указанное антитело представляет собой антитело IgG1 или антитело IgG4.
33. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1-32, отличающиеся тем, что указанное антитело содержит домен Fc, содержащий по меньшей мере одну мутацию.
34. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенное антитело или его антигенсвязывающую часть по любому из предшествующих пунктов и фармацевтически приемлемый носитель.
35. Нуклеиновая кислота, содержащая нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь, тяжелую цепь или как легкую, так и тяжелую цепи выделенного антитела, или его антигенсвязывающую часть, по любому из пп. 1-33.
36. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту, заявленную в п. 35.
37. Клетка, трансформированная вектором экспрессии, заявленным в п. 36.
38. Способ получения антитела, которое специфически связывает ИЛ-27 человека, или антигенсвязывающей части указанного антитела, включающий в себя культивирование клетки, заявленной в п. 37, в условиях, обеспечивающих экспрессию указанных моноклонального антитела или его антигенсвязывающей части.

39. Способ по п. 38, дополнительно включающий в себя получение указанных антитела или его антигенсвязывающей части.
40. Способ ингибирования или снижения фосфорилирования STAT1 и (или) STAT3 в клетке, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с выделенным антителом или его антигенсвязывающей частью, заявленными в любом из пп. 1-33, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке.
41. Способ ингибирования или снижения ингибирования экспрессии CD161 в клетке, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с выделенным антителом или его антигенсвязывающей частью, заявленными в любом из пп. 1-33, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке.
42. Способ ингибирования или снижения экспрессии PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с выделенным антителом или его антигенсвязывающей частью, заявленными в любом из пп. 1-33, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть ингибируют экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 в клетке.
43. Способ индукции или усиления секреции одного или большего числа цитокинов из клетки, включающий в себя приведение указанной клетки в контакт с выделенным антителом или его антигенсвязывающей частью, заявленными в любом из пп. 1-33, при этом указанные антитело или его антигенсвязывающая часть индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки.
44. Способ стимуляции иммунного ответа у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающей части, заявленных в любом из пп. 1-33, или фармацевтической композиции, заявленной в п. 34.
45. Способ лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающей части, заявленных в любом из пп. 1-33, или фармацевтической композиции, заявленной в п. 34.
46. Способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающей части, заявленных в любом из пп. 1-33, или фармацевтической композиции, заявленной в п. 34, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция ингибируют или снижают фосфорилирование STAT1 и (или) STAT3 в клетке, тем самым обеспечивая стимуляцию иммунного ответа или лечение онкологического заболевания.
47. Способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающей части, заявленных в любом из пп. 1-33, или фармацевтической композиции, заявленной

в п. 34, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция ингибируют или снижают ингибирование экспрессии CD161 в клетке, тем самым обеспечивая стимуляцию иммунного ответа или лечение онкологического заболевания.

48. Способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающей части, заявленных в любом из пп. 1-33, или фармацевтической композиции, заявленной в п. 34, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция ингибируют или снижают экспрессию PD-L1 и (или) TIM-3 на клетке, тем самым обеспечивая стимуляцию иммунного ответа или лечение онкологического заболевания.

49. Способ стимуляции иммунного ответа или лечения онкологического заболевания у субъекта, включающий в себя введение указанному субъекту эффективного количества выделенного антитела или его антигенсвязывающей части, заявленных в любом из пп. 1-33, или фармацевтической композиции, заявленной в п. 34, при этом указанные антитело, его антигенсвязывающая часть или фармацевтическая композиция индуцируют или усиливают опосредованную PD-1 секрецию одного или большего числа цитокинов из клетки, тем самым обеспечивая стимуляцию иммунного ответа или лечение онкологического заболевания.

50. Способ по любому из пп. 45-49, отличающийся тем, что онкологическое заболевание выбрано из рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого), саркомы, рака яичка, рака яичника, рака поджелудочной железы, рака молочной железы (например, трижды негативного рака молочной железы), меланомы, онкологического заболевания головы и шеи (например, плоскоклеточного рака головы и шеи), колоректального рака, рака мочевого пузыря, рака эндометрия, рака предстательной железы, рака щитовидной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака желудка, рака головного мозга, лимфомы (например, ДВКЛ), лейкоза (например, ОМЛ) или рака почки (например, почечно-клеточной карциномы, например, светлоклеточной почечно-клеточной карциномы).

51. Способ усиления одной или большего числа функций антитела против PD-1 (например, усиление опосредованной PD-1 секреции цитокинов; усиление опосредованной антителом против PD-1 секреции ФНО- $\alpha$ ; усиление опосредованной антителом против PD-1 секреции ИЛ-6 из клетки, подвергшейся воздействию антител против PD-1), включающий в себя воздействие на клетку антителом или его антигенсвязывающей частью, заявленными в любом из пп. 1-33, одновременно с или последовательно с антителом против PD-1, тем самым обеспечивая усиление одной или большего числа функций антител против PD1.

52. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело против PD-1 и содержащая антитело или его антигенсвязывающую часть, заявленные в любом из пп. 1-33, и фармацевтически приемлемый носитель.

53. Набор, содержащий антитело против PD-1 и содержащий антитело или его антигенсвязывающую часть, заявленные в любом из пп. 1-33, для одновременного или последовательного введения, и инструкции по его применению.

54. Способ по любому из пп. 44-50, отличающийся тем, что указанное выделенное антитело или его антигенсвязывающую часть вводят в комбинации с одним или большим числом дополнительных терапевтических агентов или процедур, при этом указанные второй терапевтический агент или процедура выбраны из группы, состоящей из: химиотерапии, нацеленной противораковой терапии, онколитического препарата, цитотоксического агента, иммунной терапии, цитокина, хирургической процедуры, лучевой процедуры, активатора костимулирующей молекулы, ингибитора ингибиторной молекулы, вакцины или клеточной иммунотерапии, или их комбинации.
55. Способ по п. 54, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист PD-1, ингибитор PD-L1, ингибитор TIM-3, ингибитор LAG-3, ингибитор TIGIT, ингибитор CD112R, ингибитор TAM, агонист STING, агонист 4-1BB или их комбинацию.
56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист PD-1.
57. Способ по п. 56, отличающийся тем, что указанный антагонист PD-1 выбран из группы, состоящей из: PDR001, ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, MEDI0680, REGN2810, TSR-042, PF-06801591 и AMP-224.
58. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанный ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из: FAZ053, атезолизумаба, авелумаба, дурвалумаба и BMS-936559.
59. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов выбраны из группы, состоящей из сунитиниба (SUTENT<sup>®</sup>), кабозантиниба (CABOMETYX<sup>®</sup>), акситиниба (INLYTA<sup>®</sup>), ленватиниба (LENVIMA<sup>®</sup>), эверолимуса (AFINITOR<sup>®</sup>), бевацизумаба (AVASTIN<sup>®</sup>), эпакадостата, NKTR-214 (агониста смещенной активности к CD-122), тивозаниба (FOTIVDA<sup>®</sup>), абексिनостата, ипилимумаба (YERVOY<sup>®</sup>), тремелимумаба, пазопаниба (VOTRIENT<sup>®</sup>), сорафениба (NEXAVAR<sup>®</sup>), темсиролимуса (TORISEL<sup>®</sup>), рамуцирумаба (CYRAMZA<sup>®</sup>), нирапариба, саволитиниба, вороланиба (X-82), регорафениба (STIVARGO<sup>®</sup>), донафениба (мультикиназного ингибитора), камрелизумаба (SHR-1210), пексастимогена девацирепвека (JX-594), рамуцирумаба (CYRAMZA<sup>®</sup>), апатиниба (YN968D1), инкапсулированного доксорубицина (THERMODOX<sup>®</sup>), тивантиниба (ARQ197), ADI-PEG 20, биниметиниба, апатиниба мезилата, нинтеданиба, лирилумаба, ниволумаба (OPDIVO<sup>®</sup>), пембролизумаба (KEYTRUDA<sup>®</sup>), атезолизумаба (TECENTRIQ<sup>®</sup>), авелумаба (BAVENCIO<sup>®</sup>), дурвалумаба (IMFIMZI<sup>®</sup>), цемиплимаба-gwlc (LIBTAYO<sup>®</sup>), тислелизумаба и спартализумаба.
60. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор TIM-3, необязательно при этом указанный ингибитор TIM-3 представляет собой MGB453 или TSR-022.

61. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор LAG-3, необязательно при этом указанный ингибитор LAG-3 выбран из группы, состоящей из LAG525, BMS-986016 и TSR-033.
62. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор TIGIT.
63. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор CD112R.
64. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор TAM (Axl, Mer, Tyro).
65. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой агонист 4-1BB.
66. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор тирозинкиназы (ИТК).
67. Применение выделенного моноклонального антитела или его антигенсвязывающей части, заявленных в любом из пп. 1-33, или фармацевтической композиции, заявленной в п. 34, для стимуляции иммунного ответа у субъекта или для лечения онкологического заболевания у субъекта, необязательно – для применения в комбинации с одним или большим числом дополнительных терапевтических агентов или процедур.
68. Набор, содержащий выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающую часть, заявленные в любом из пп. 1-33, или фармацевтическую композицию, заявленную в п. 34, и инструкции по применению для стимуляции иммунного ответа у субъекта или для лечения онкологического заболевания у субъекта, необязательно – с инструкциями по применению в комбинации с одним или большим числом дополнительных терапевтических агентов или процедур.
69. Набор, содержащий выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающую часть, заявленные в любом из пп. 1-33, и инструкции по применению для обнаружения ИЛ-27 в образце, взятом у субъекта, необязательно – с инструкциями по применению для обнаружения ИЛ-27-ассоциированного онкологического заболевания у субъекта.
70. Способ по п. 54, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор тирозинкиназы, антагонист CD39, антагонист CD73, антагонист A2AR, антагонист A2BR, двойной антагонист A2AR/A2BR, антагонист CCR8, антагонист CTLA4, ингибитор VEG-F или их комбинацию.

71. Способ по п. 54, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист PD-1, ингибитор PD-L1, ингибитор TIM-3, ингибитор LAG-3, ингибитор TIGIT, ингибитор CD112R, ингибитор TAM, агонист STING, агонист 4-1BB, ингибитор тирозинкиназы, антагонист CD39, антагонист CD73, антагонист A2AR, антагонист A2BR, двойной антагонист A2AR/A2BR, антагонист CCR8, антагонист CTLA4, ингибитор VEG-F или их комбинацию.

72. Способ по п. 71, отличающийся тем, что указанные один или большее число дополнительных терапевтических агентов представляют собой антагонист PD-1, ингибитор PD-L1, ингибитор VEG-F или их комбинацию.

73. Способ по любому из пп. 44-51, 54-66 и 70-72, дополнительно включающий в себя измерение экспрессии TNFSF15 после указанного введения.

74. Способ по п. 73, дополнительно включающий в себя измерение экспрессии TNFSF15 до указанного введения.

75. Способ по п. 74, включающий в себя введение дополнительной дозы субъекту, у которого экспрессия TNFSF15 не изменяется или наблюдается ее снижение после указанного введения по сравнению с экспрессией TNFSF15 до указанного введения.

76. Способ по п. 74, включающий в себя введение дополнительной дозы субъекту, у которого наблюдается повышение экспрессии TNFSF15 после указанного введения по сравнению с экспрессией TNFSF15 до указанного введения.

77. Способ определения эффективности агента, проявляющего антагонизм в отношении ИЛ-27 человека, включающий в себя измерение экспрессии TNFSF15 в образце, полученном от субъекта, введение указанному субъекту указанного агента, проявляющего антагонизм в отношении ИЛ-27 человека, и измерение экспрессии TNFSF15 в образце, полученном от указанного субъекта после введения.

78. Способ определения эффективности агента, проявляющего антагонизм в отношении ИЛ-27 человека, включающий в себя измерение экспрессии TNFSF15 в культуре клеток, приведение одной или большего числа клеток их указанной культуры клеток с контакт в указанным агентом, проявляющим антагонизм в отношении ИЛ-27 человека, и измерение экспрессии TNFSF15 в указанной культуре клеток после указанного приведения в контакт.

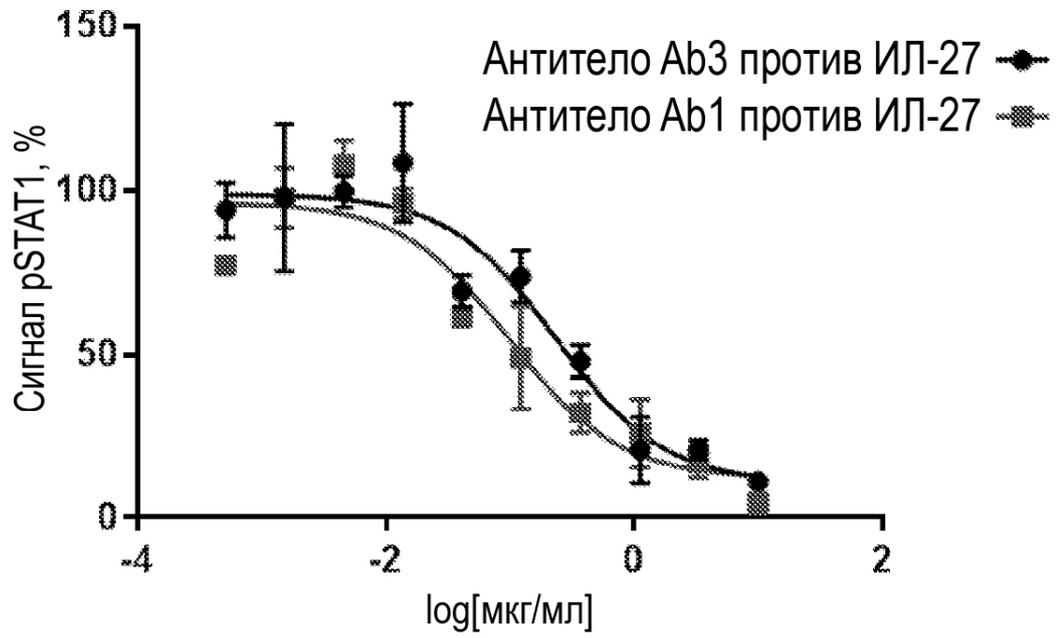
79. Способ по любому из пп. 73-78, отличающийся тем, что экспрессию TNFSF15 измеряют путем измерения уровня мРНК, уровня белка или любой их комбинации.

80. Способ по любому из пп. 73-79, отличающийся тем, что экспрессию TNFSF15 измеряют с помощью количественной ПЦР («кПЦР»), гибридизации *in situ*, иммуногистохимии или любой их комбинации.

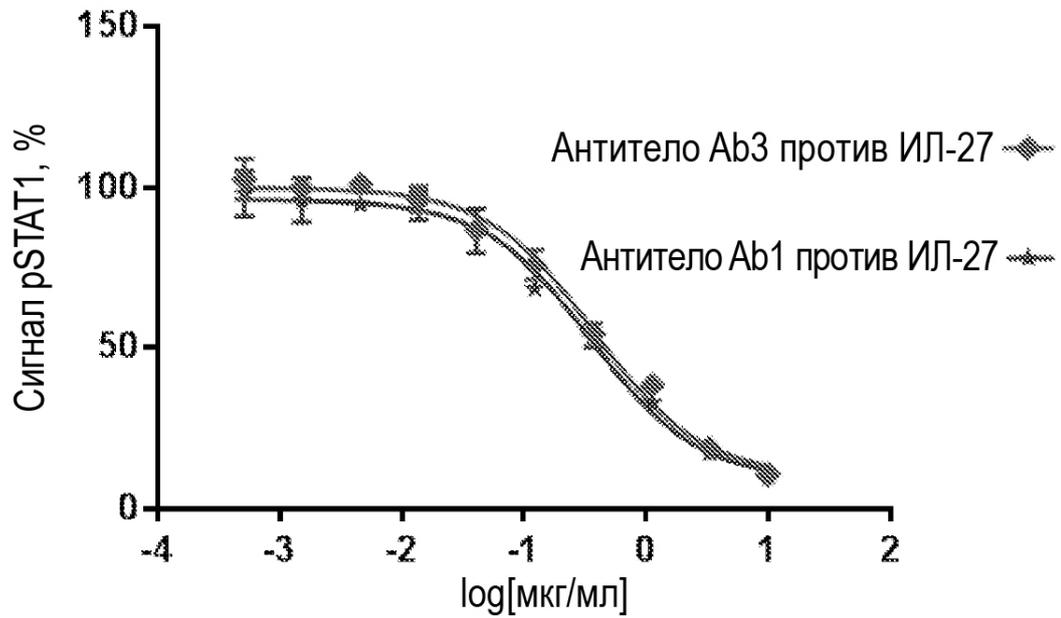
Фиг. 1

Антитело	Аффинность по Forte Bio (IgG $K_D$ ИЛ-27, моновалентная псевдоavidность)	Аффинность по MSD
Антитело Ab7 против ИЛ-27	3,93E-10	5,90E-12
Антитело Ab4 против ИЛ-27	5,94E-10	1,30E-12
Антитело Ab3 против ИЛ-27	3,02E-10	2,80E-12
Антитело Ab5 против ИЛ-27	2,50E-09	7,50E-12
Антитело Ab6 против ИЛ-27	4,05E-10	2,40E-12
Антитело Ab1 против ИЛ-27	1,75E-09	3,40E-12

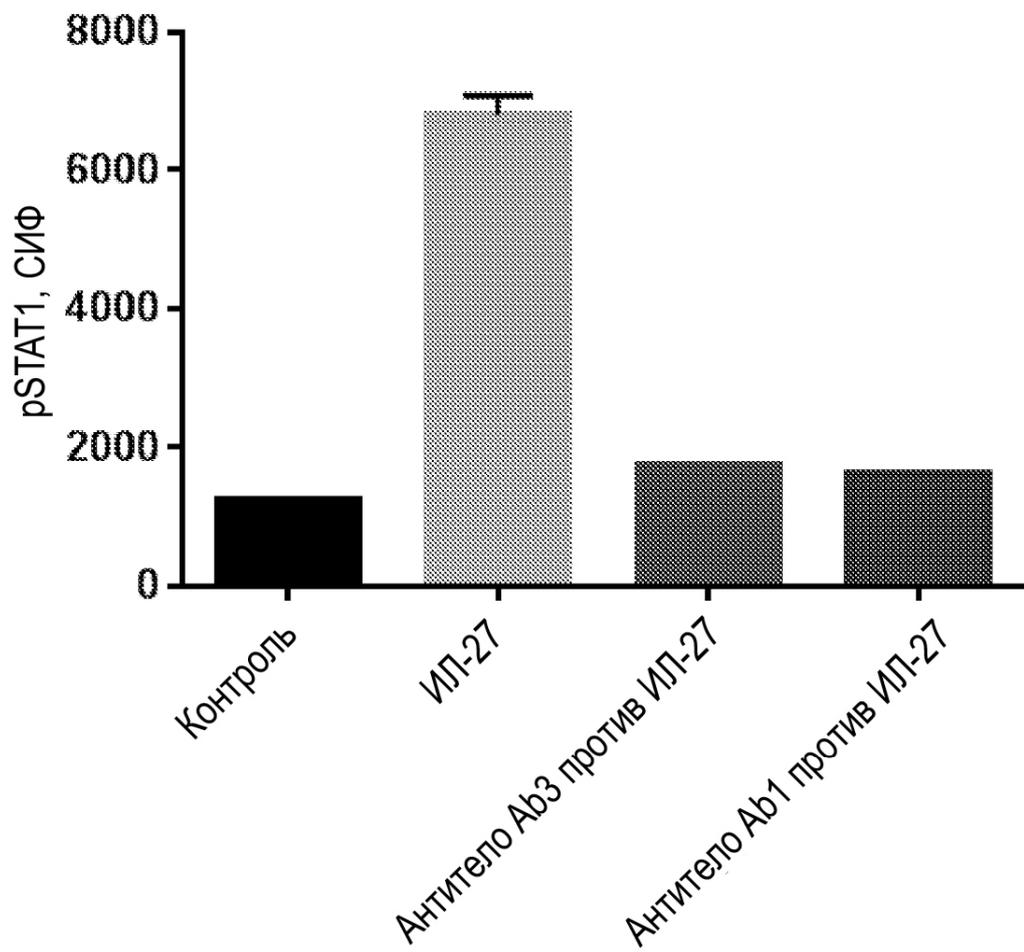
Фиг. 2А



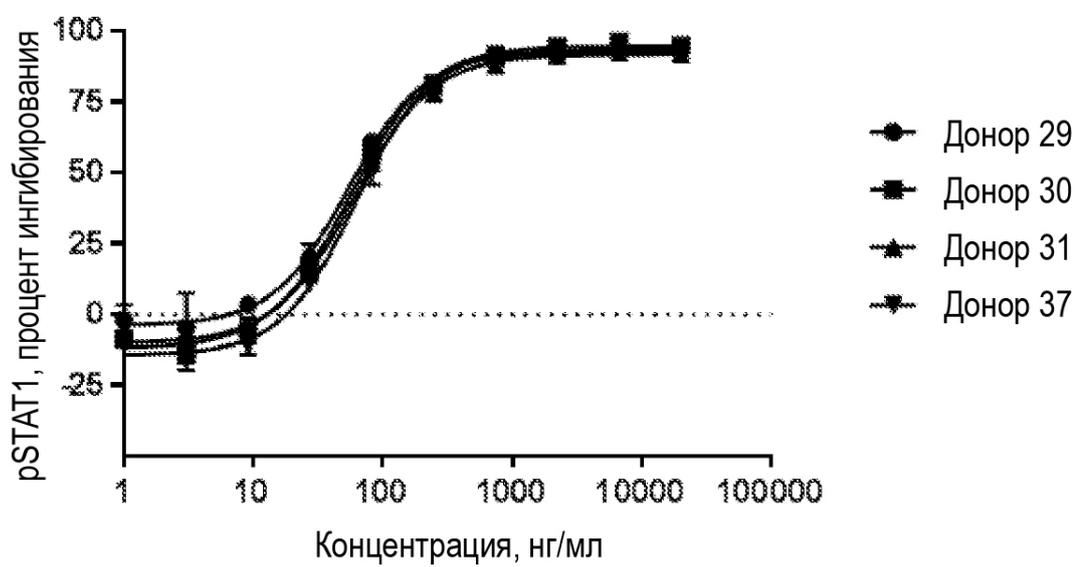
Фиг. 2В



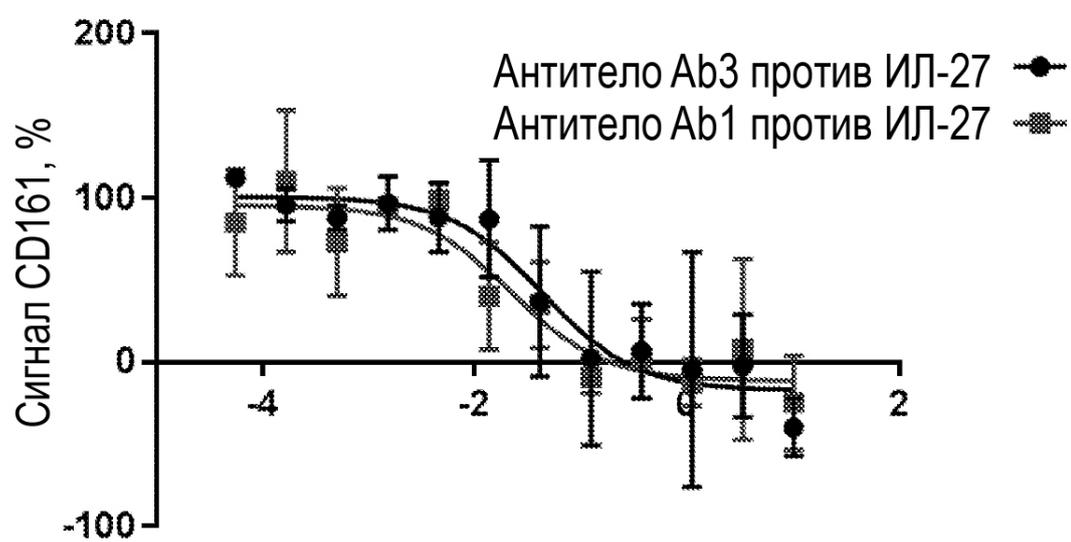
Фиг. 2С



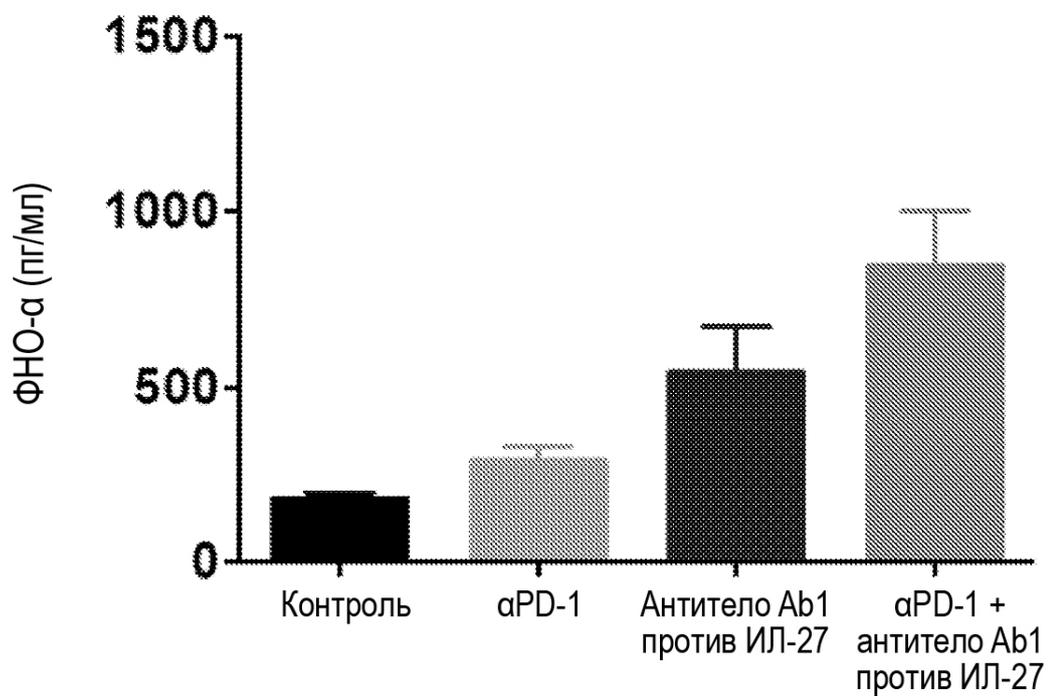
Фиг. 3



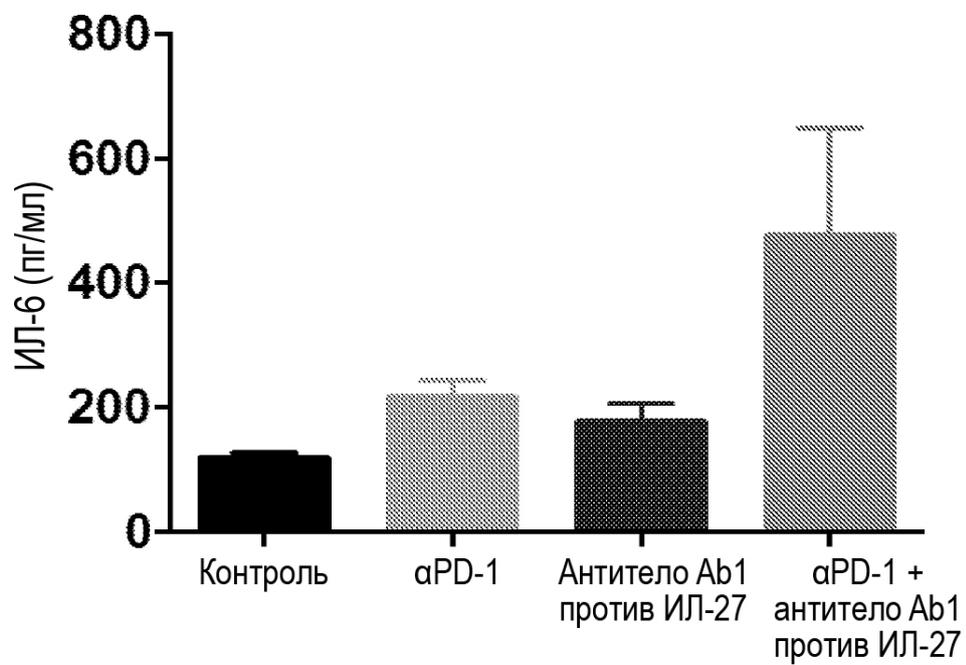
Фиг. 4



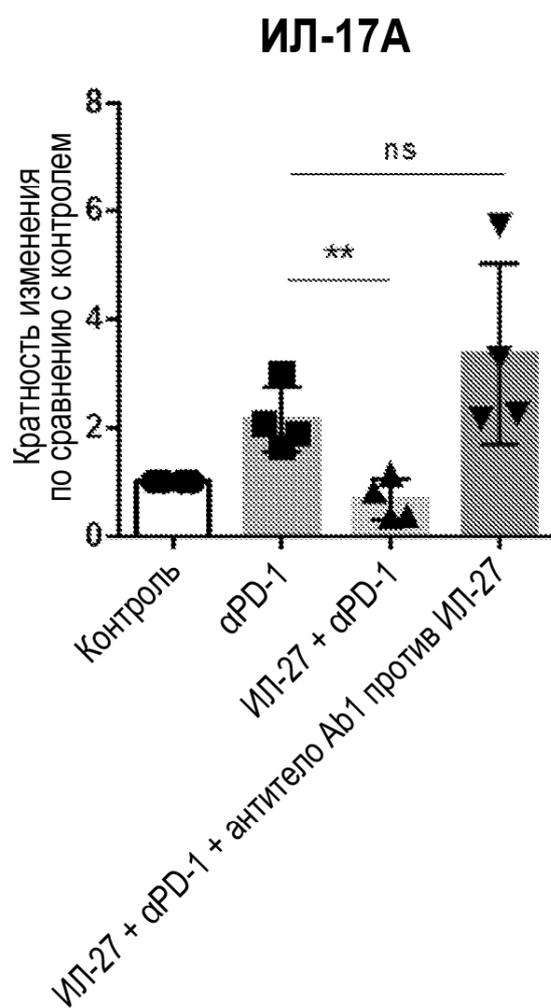
Фиг. 5А



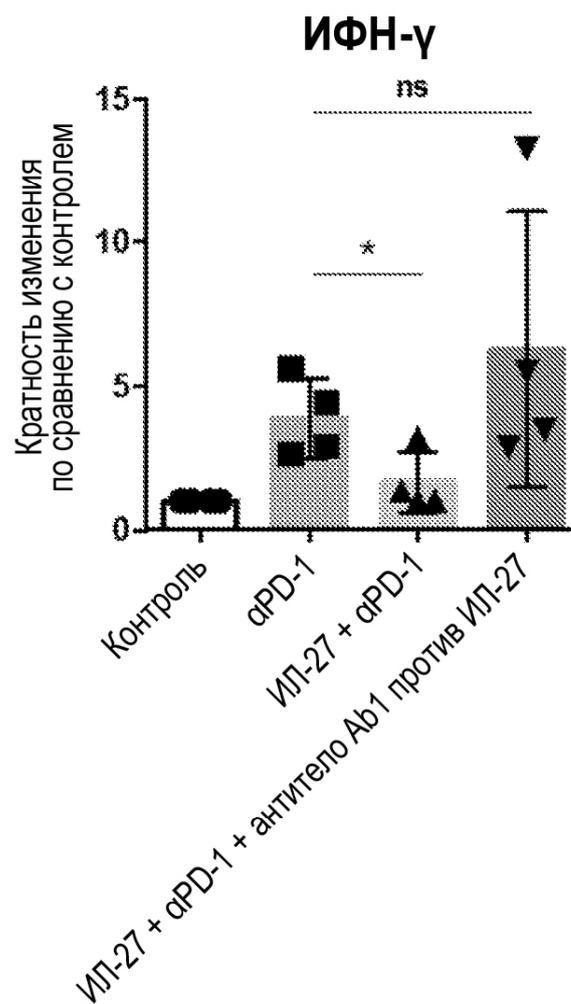
Фиг. 5В

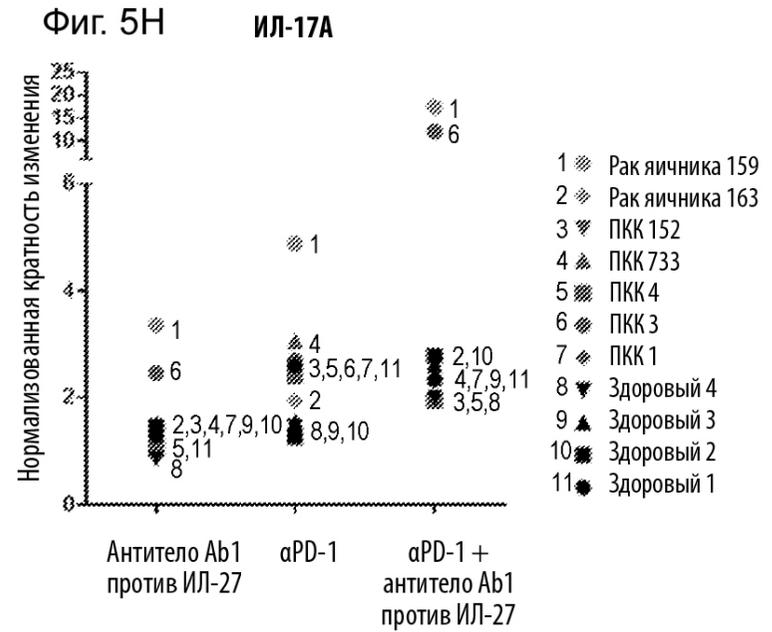
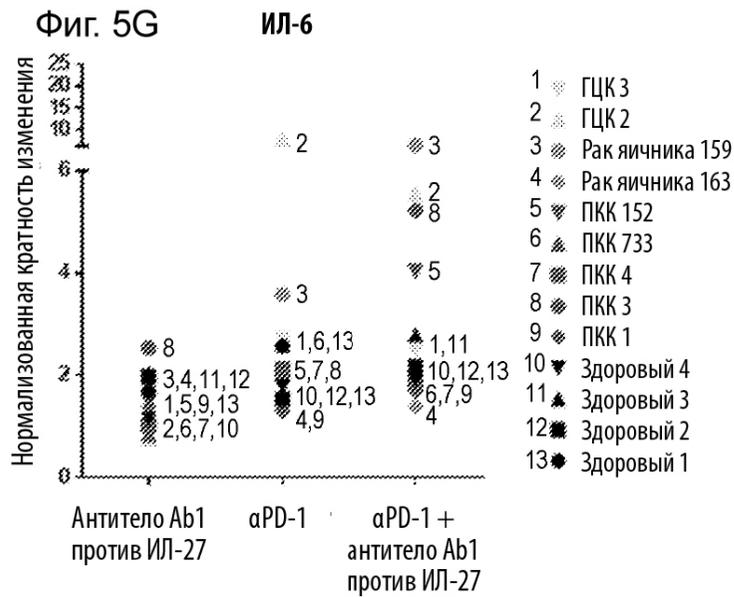
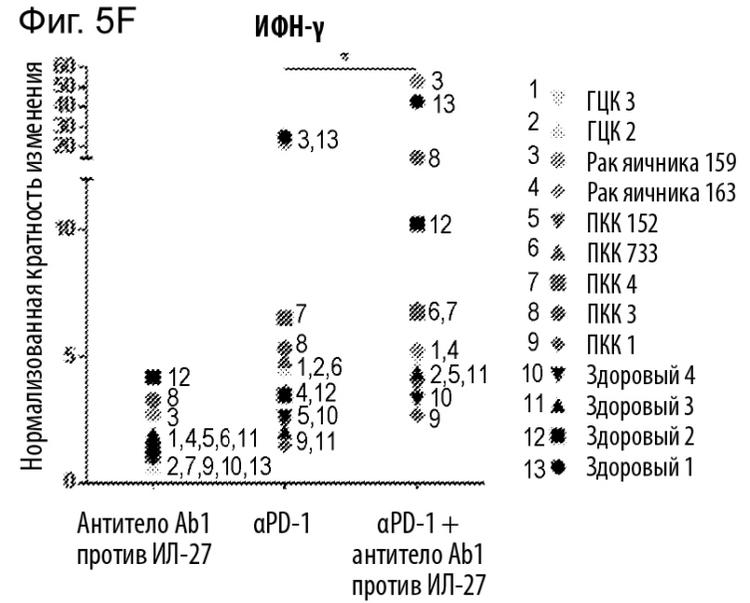
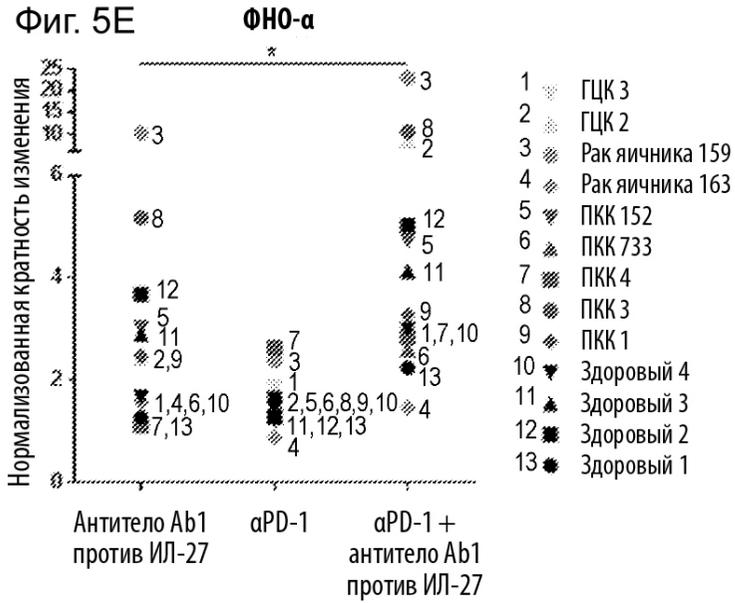


Фиг. 5С

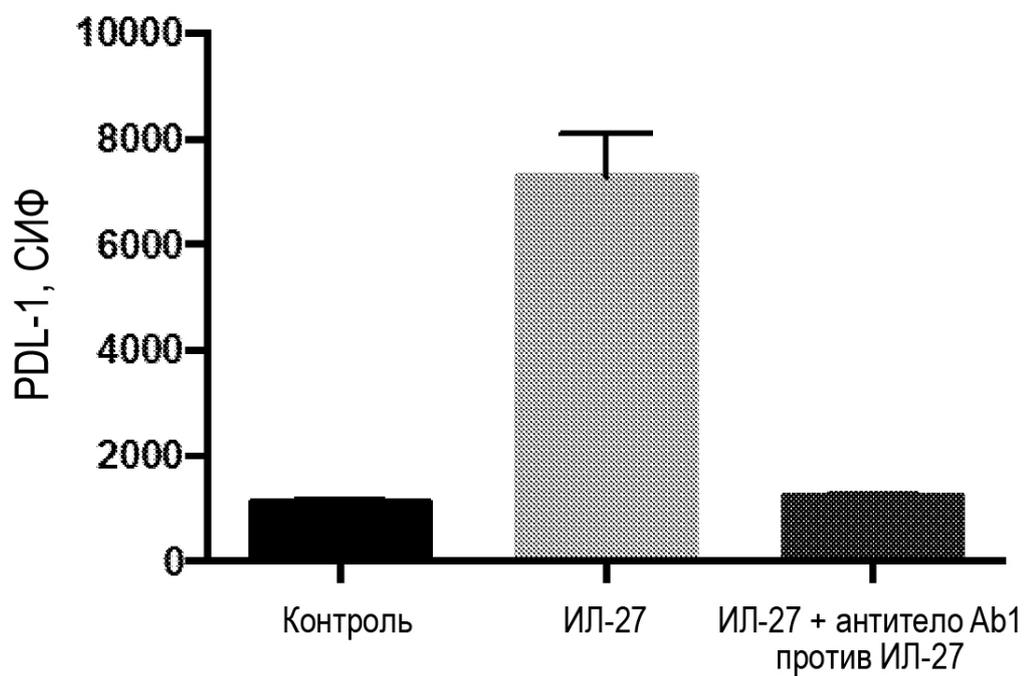


Фиг. 5D

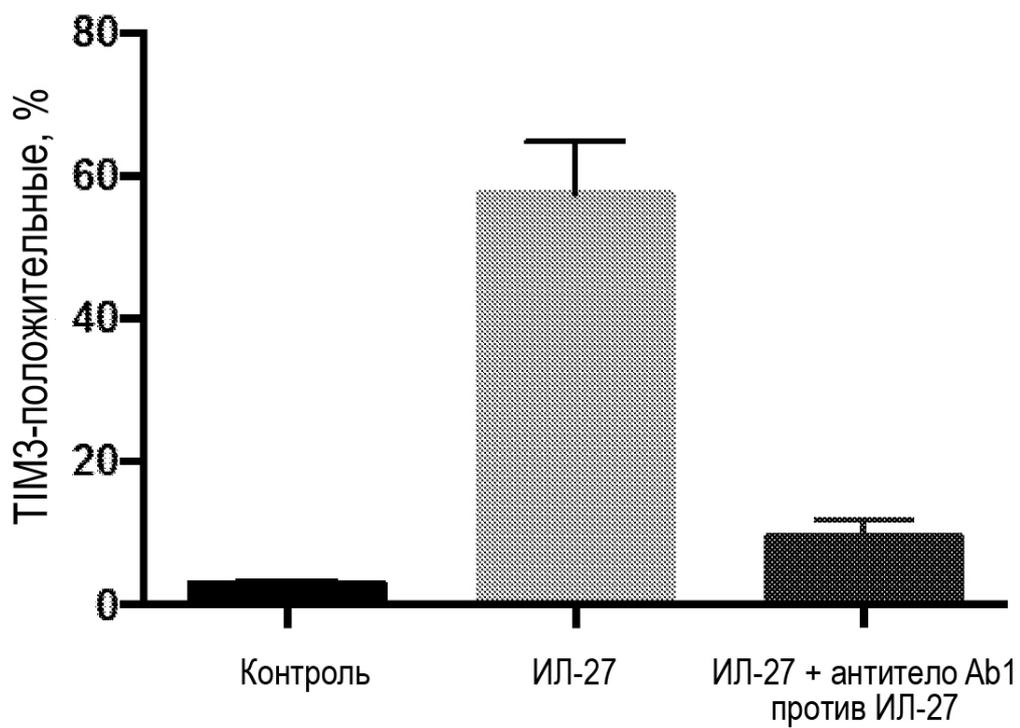




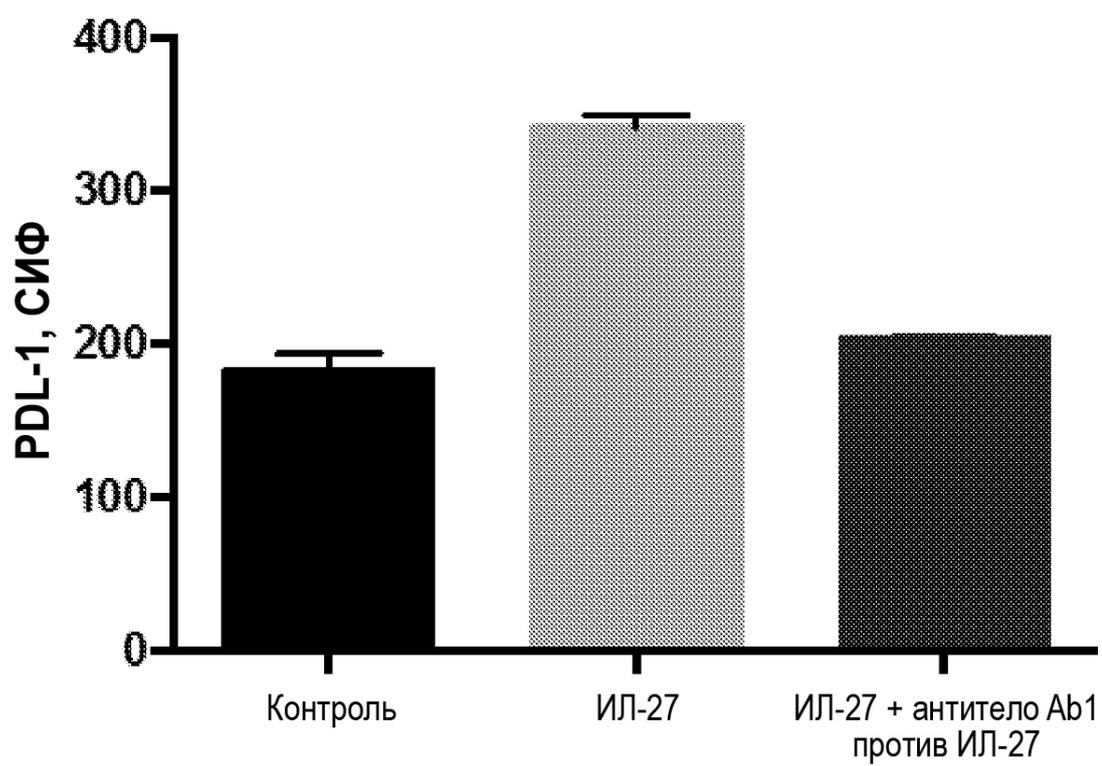
Фиг. 6А



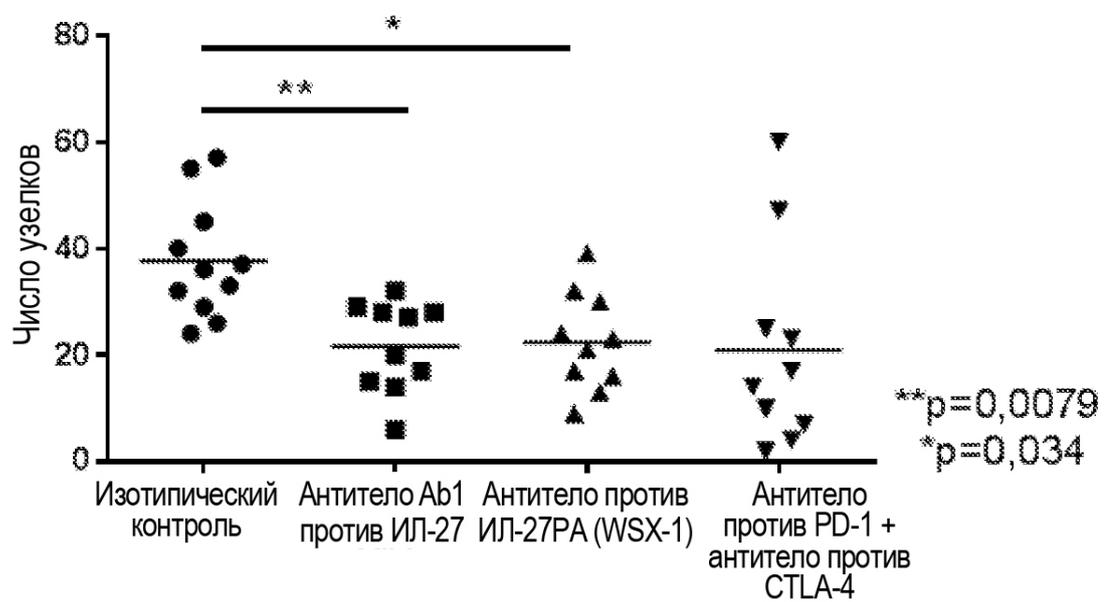
Фиг. 6В



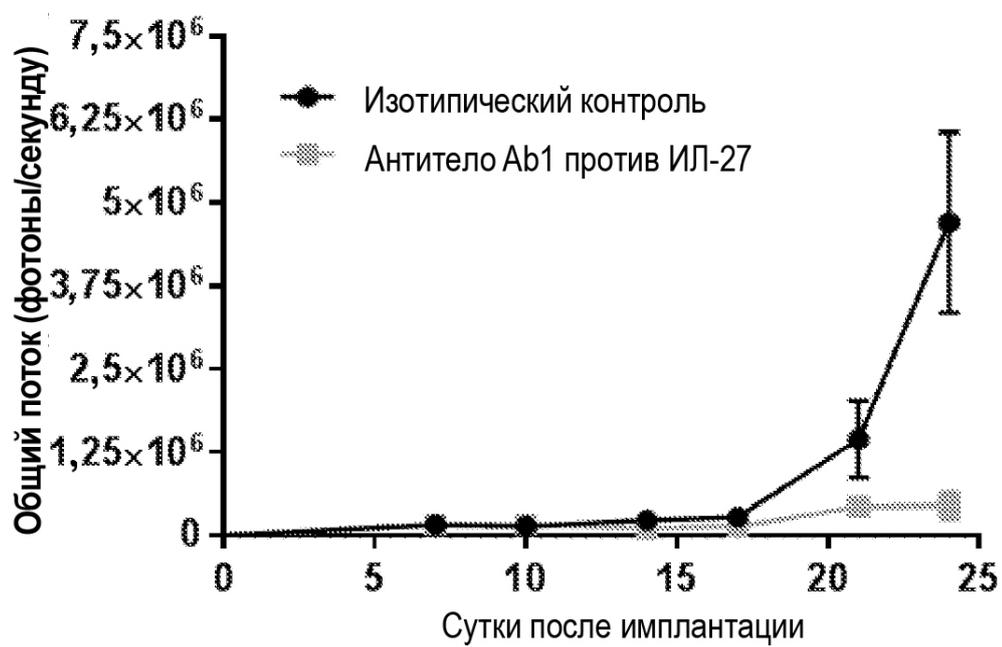
Фиг. 6С

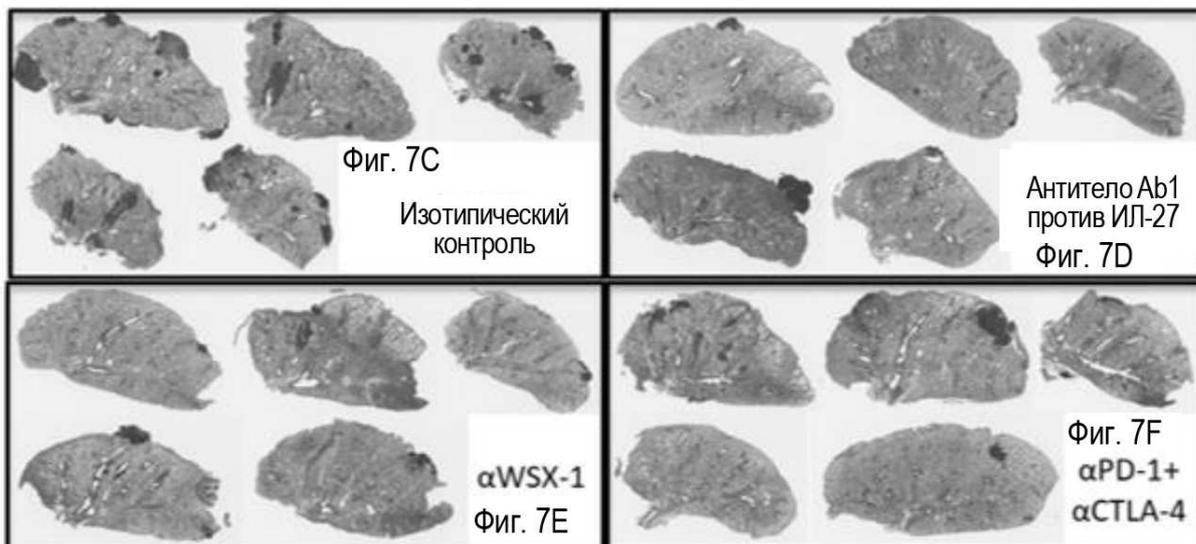


Фиг. 7А

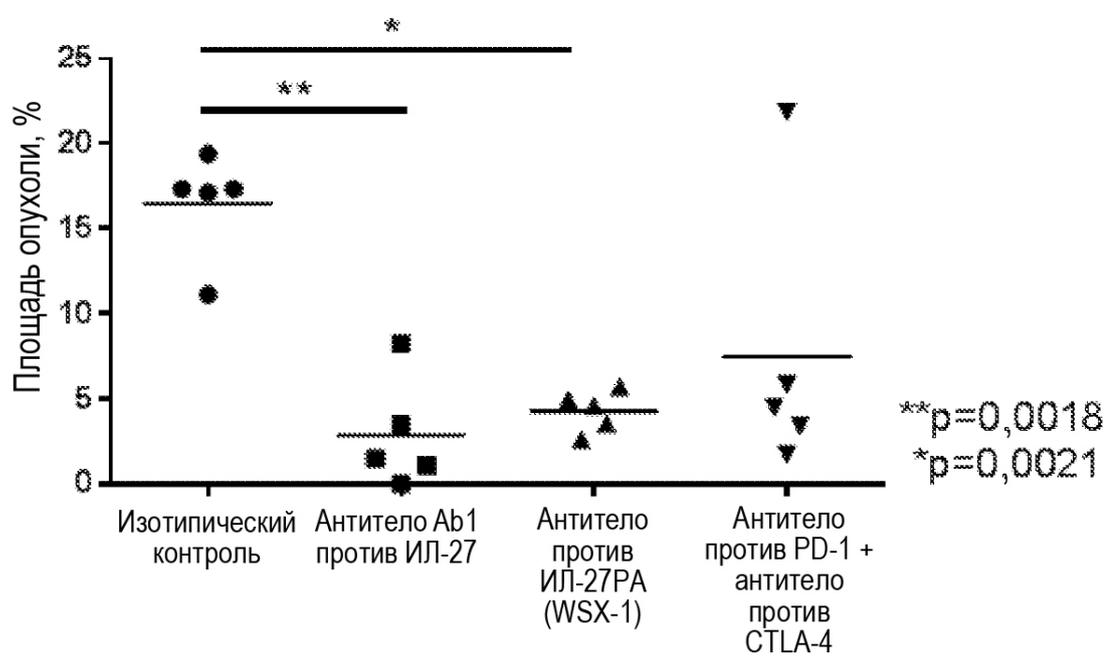


Фиг. 7В

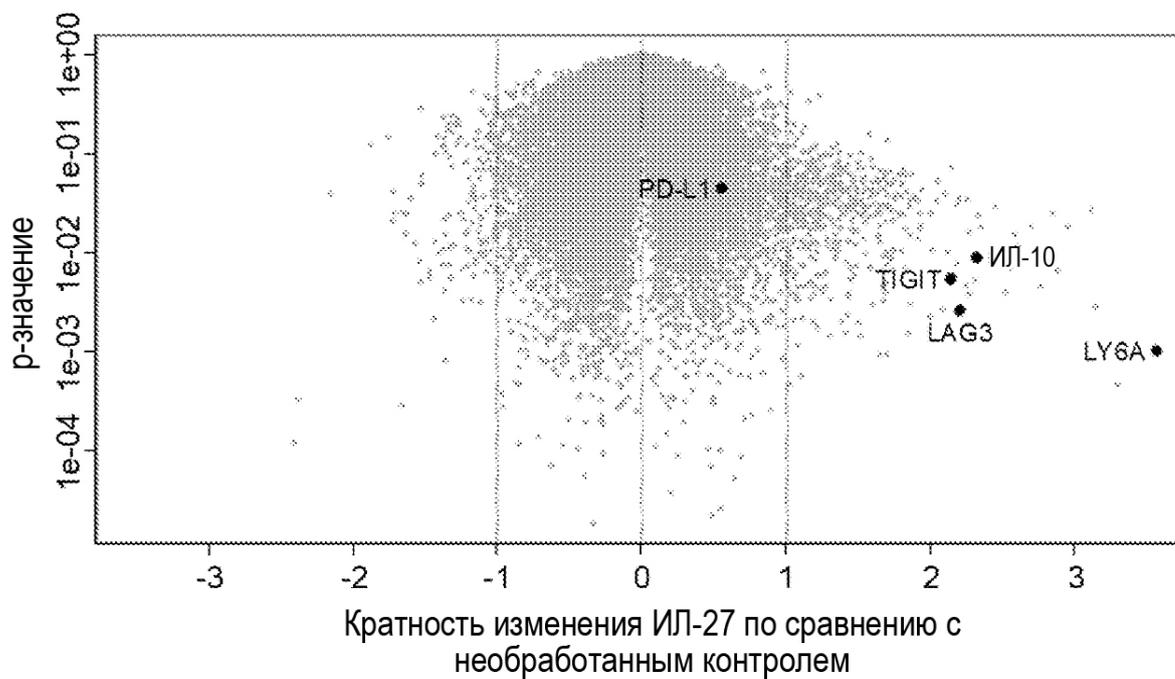




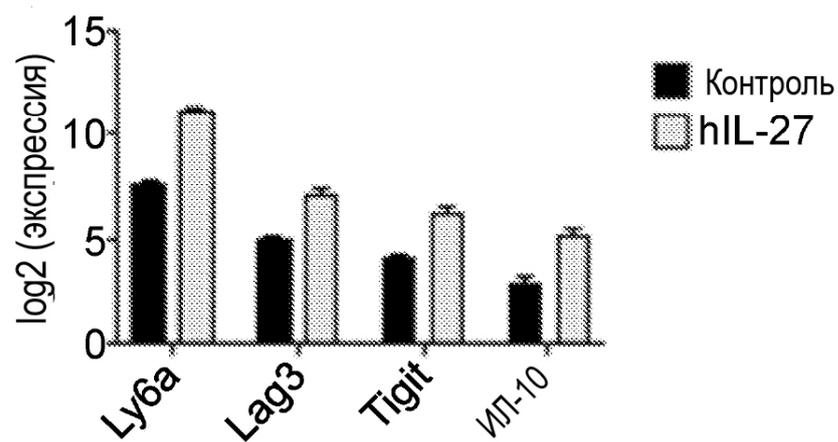
Фиг. 7G

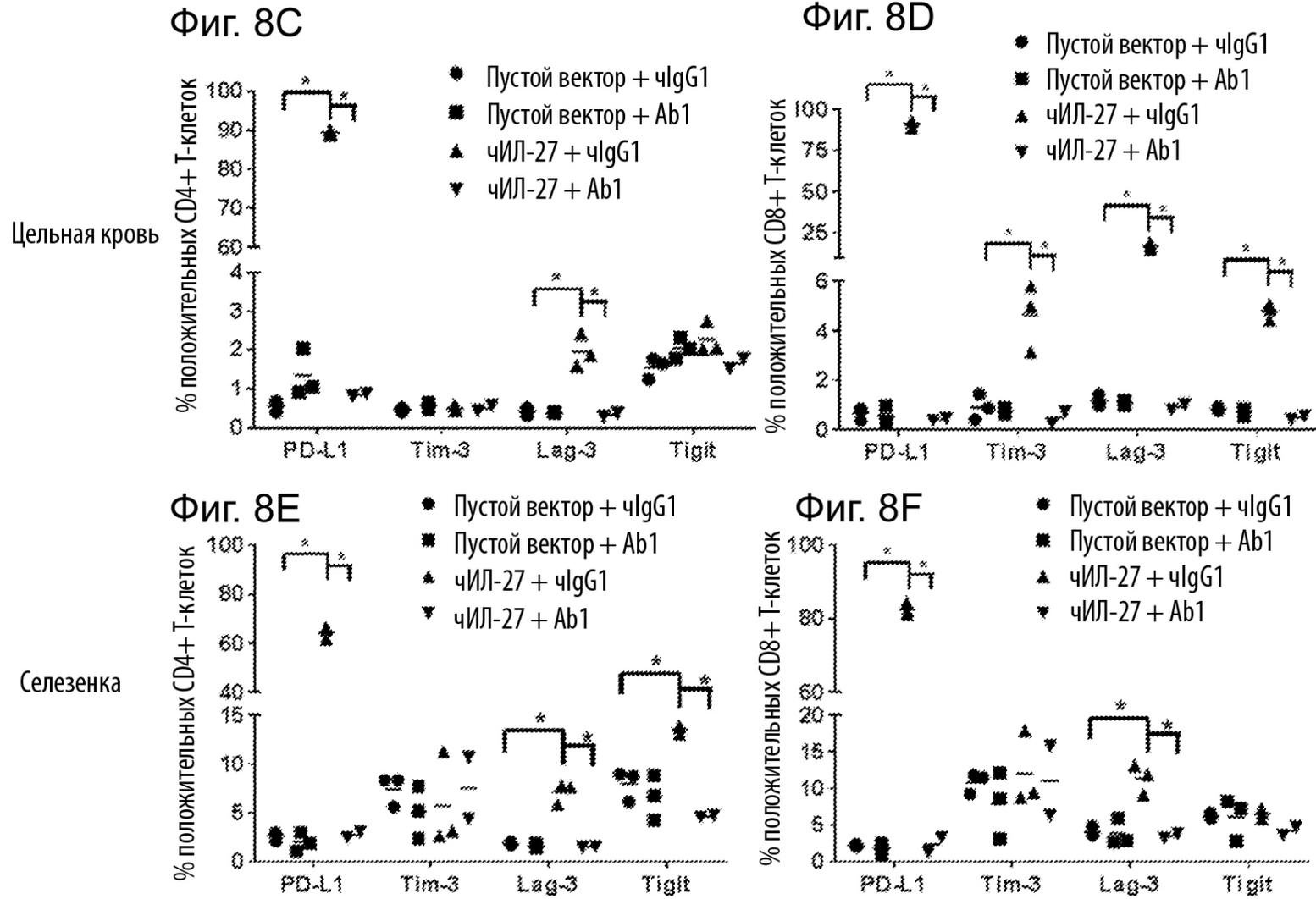


Фиг. 8А



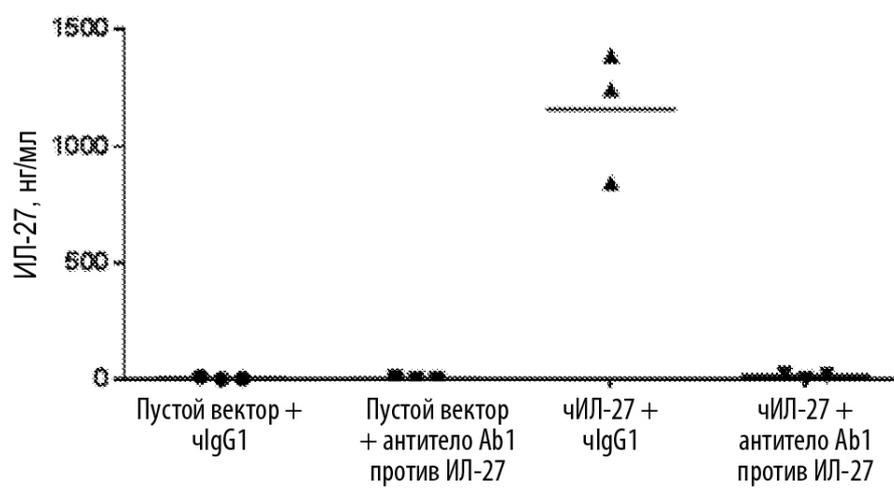
Фиг. 8В





Ab1 = Антитело Ab1 против ИЛ-27

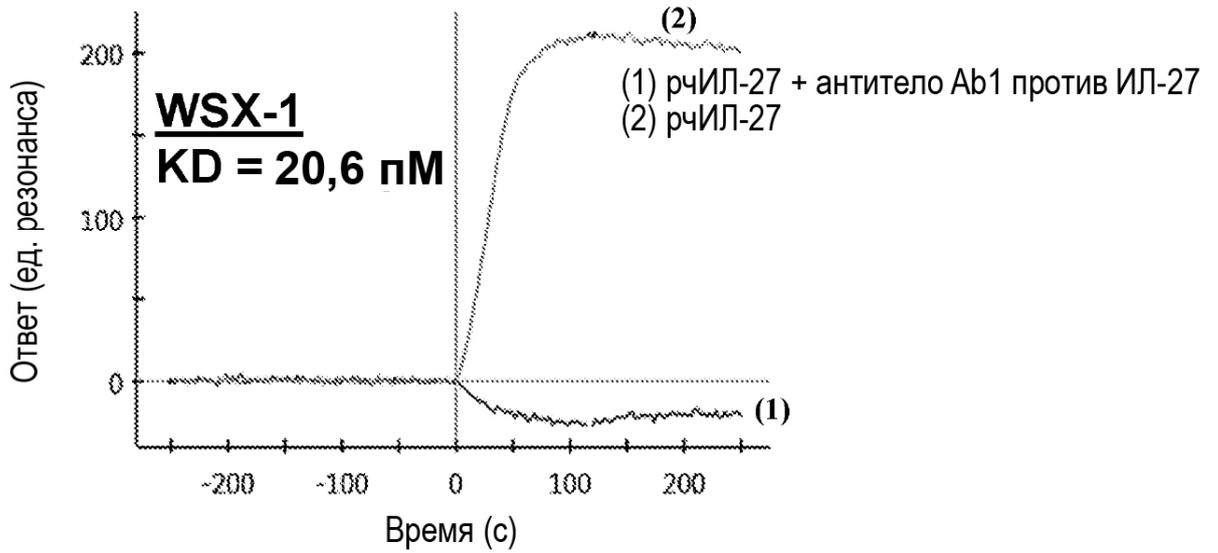
Фиг. 8G



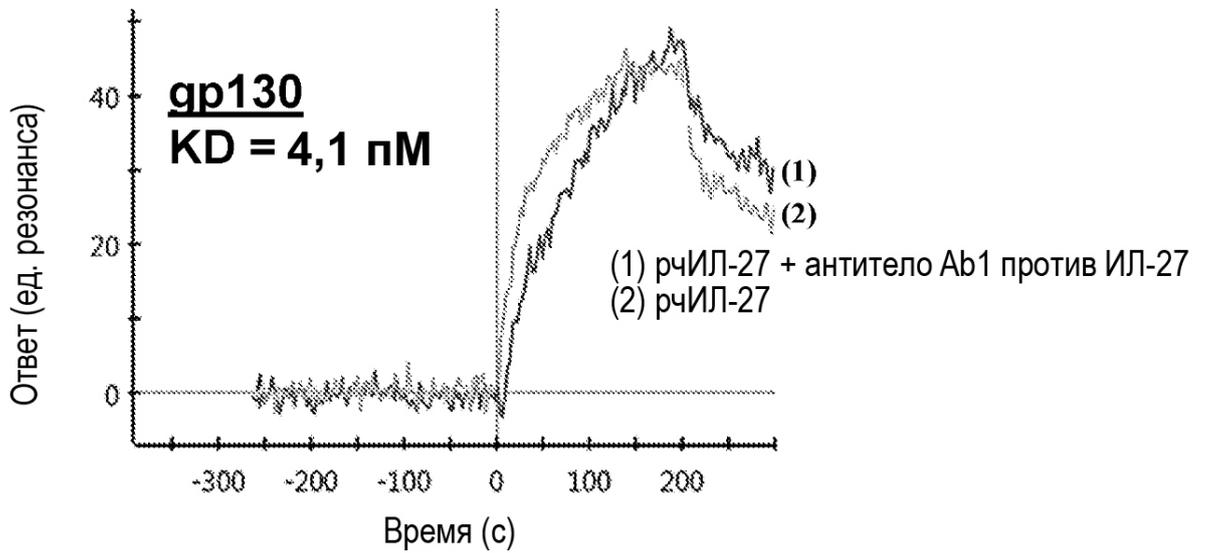
Фиг. 9



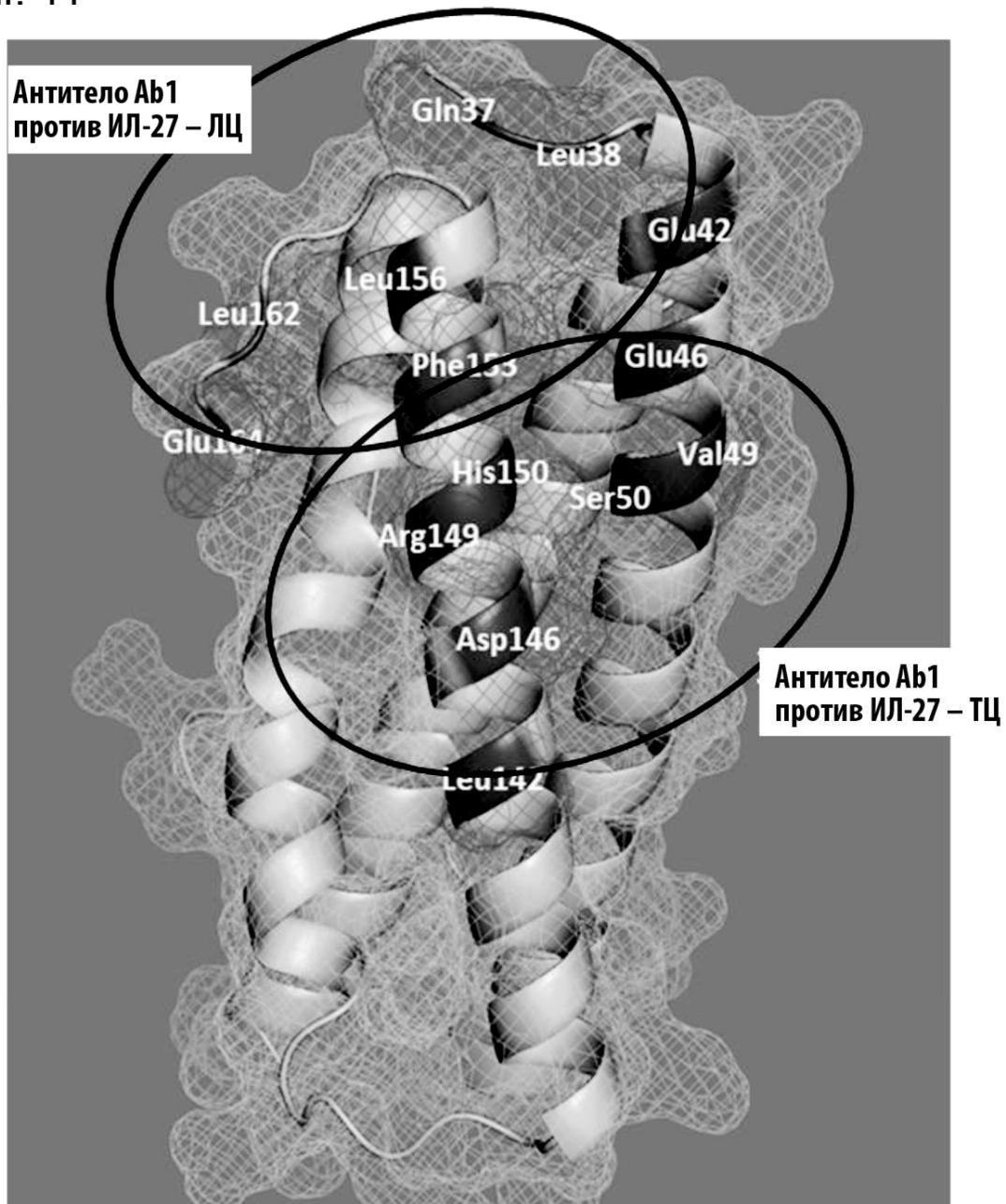
Фиг. 10А



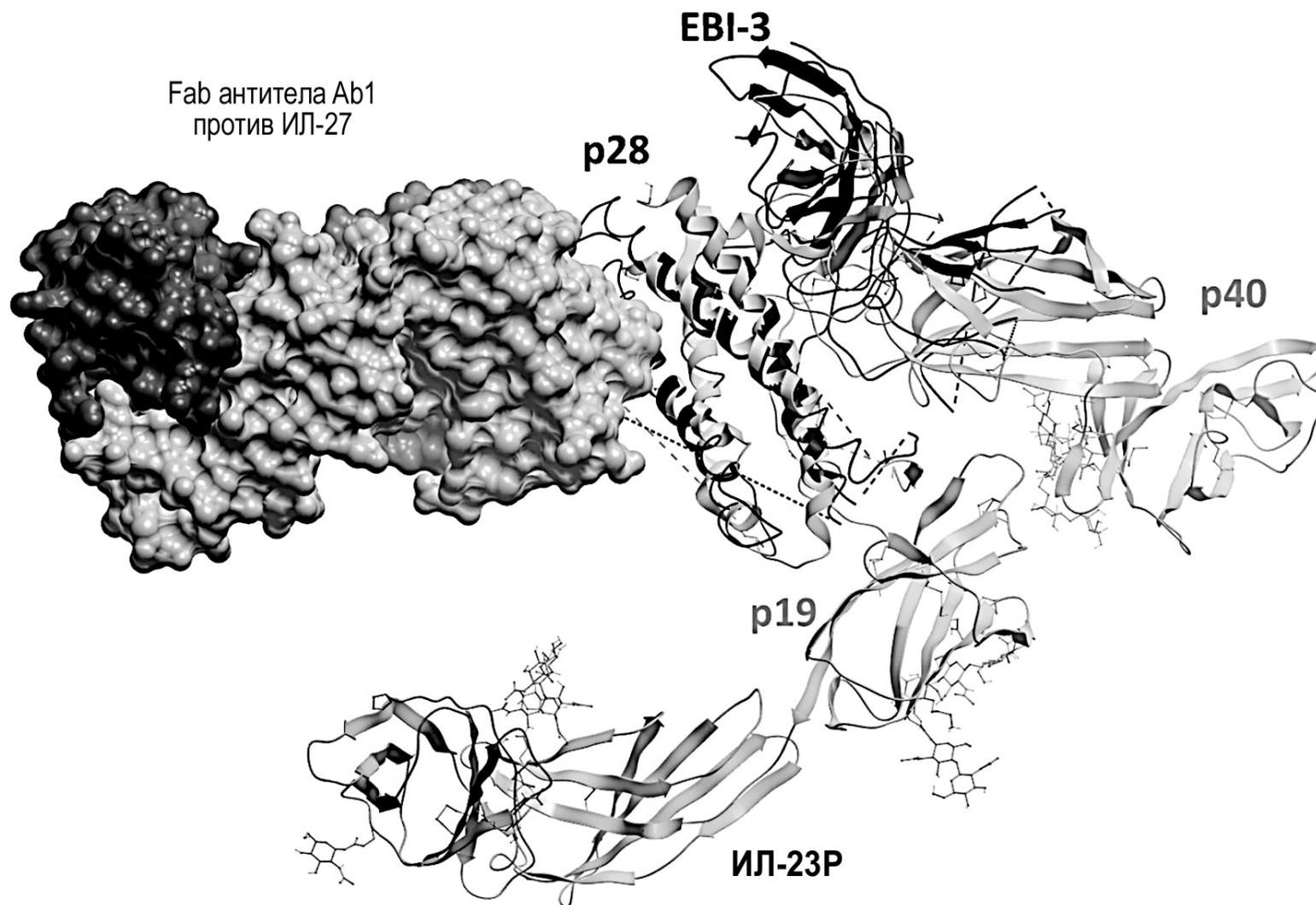
Фиг. 10В



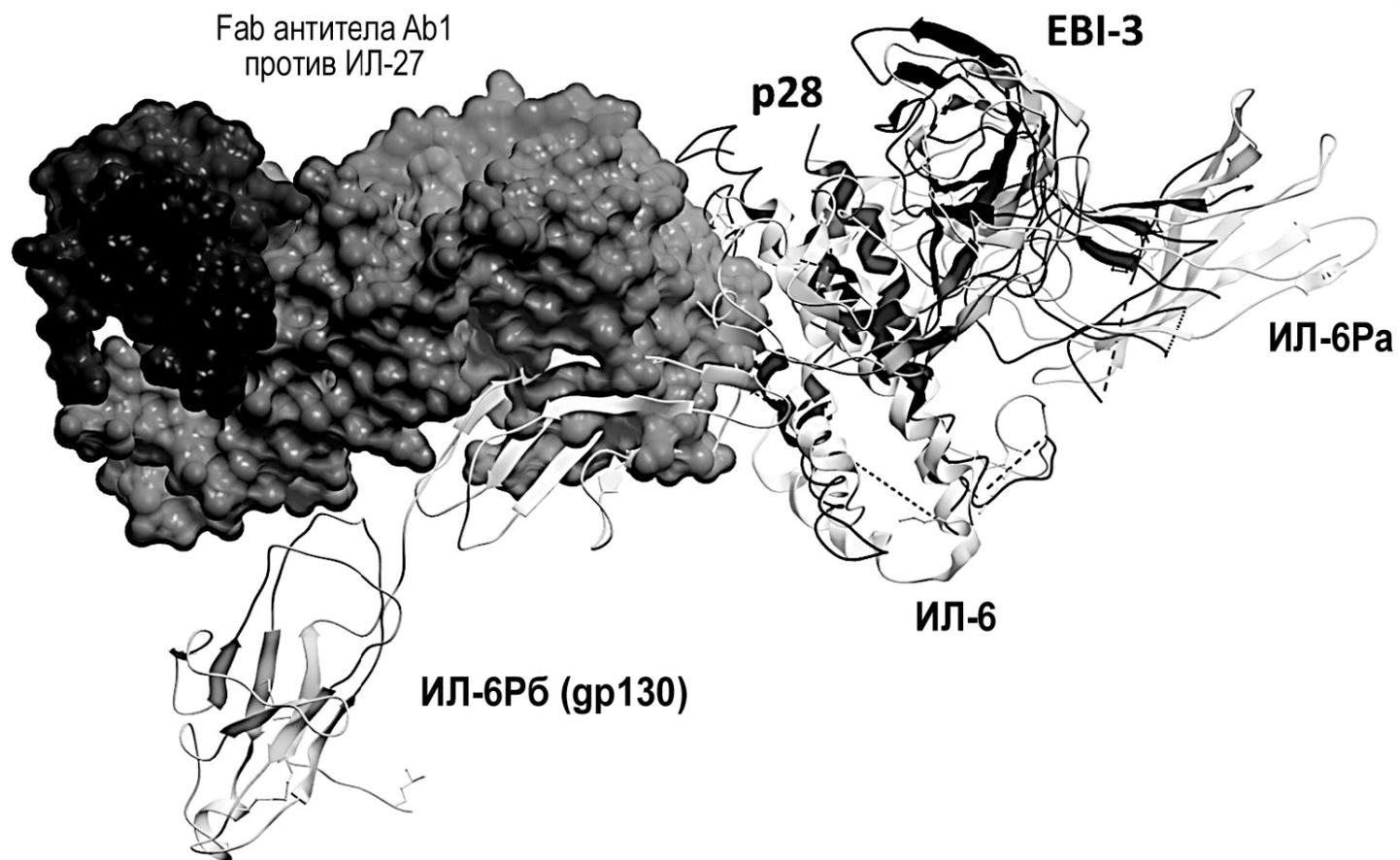
Фиг. 11



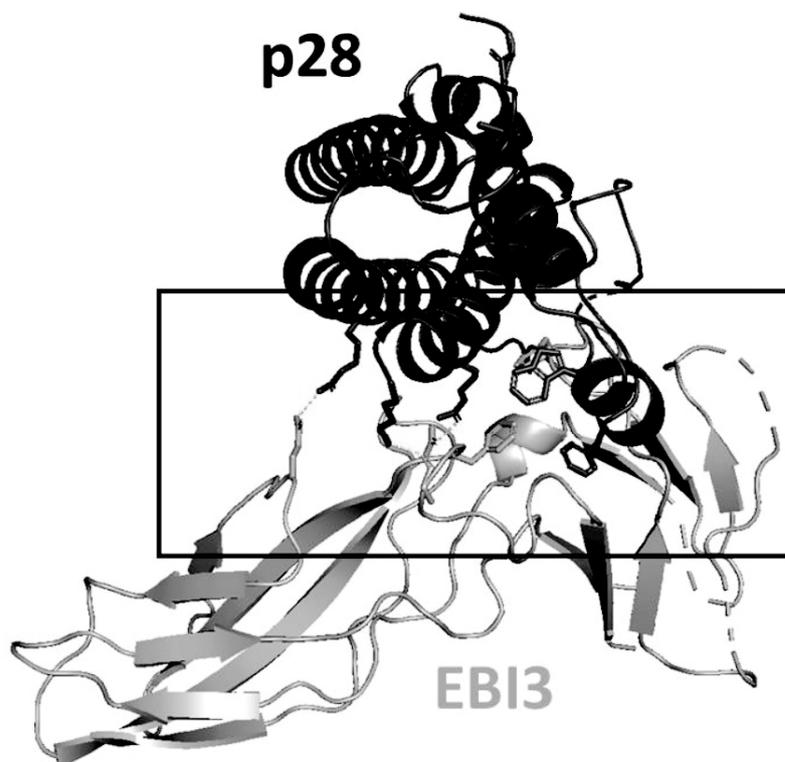
Фиг. 12



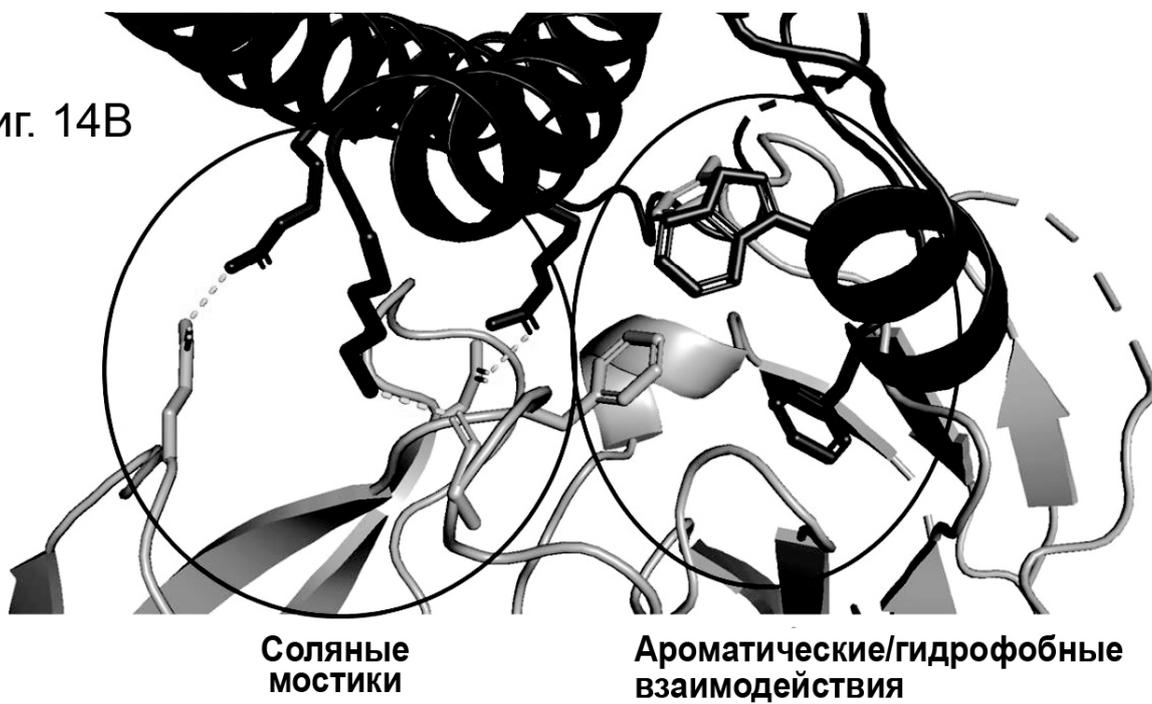
Фиг. 13



Фиг. 14А



Фиг. 14В

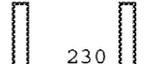


Фиг. 15А

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Homo_sapiens	MGQTAGDLGW	RLSLLLLPLL	LVQAGVWGFP	RPPGRPQLSL	QELRREFTVS	LHLARKLLSE	VRGQHRFAE	SHLPG-VNLY	LLPLGEQLPD	VSLTFQAWRR
Mus_musculus	MGQVTGDLGW	RLSLLLLPLL	LVQAGSWGFP	TDP---LSL	QELRREFTVS	LYLARKLLSE	VQGYVHSFAE	SRLPG-VNLD	LLPLGYHLPN	VSLTFQAWHH
Rattus_rattus	MGQVTGGLGW	RLSLLLLPLL	LVQAGSWGFP	ADP---LSL	QELRREFTVS	LYLARKLLSE	VQGYVHSFAE	SRLPG-VNLD	LLPVGHLLPN	VSLTFQAWRH
Equus_caballus	MGQTAGDLGW	RLSLLLLSLL	LARAGVWGFP	RPPGRSPLSL	QELQREFKVS	LHLARKLLSE	VRAQHRFAE	SHLPG-VSLD	LLPLGDQLPN	VSMTFQAWRS
Bos_taurus	MGQTAGNLGW	RLSLLLLFLL	LARAGVWGFP	RPPGRPPLSL	QELQREFKVS	LHLARKLLSE	VRVQAHFAE	SHLPG-VNLD	LLPLAEQLPN	VSTTFQAWRG
Sus_scrofa	MGQMADDLGW	RLSLLLLSLL	LARAGVWGFP	RPPGRPPLSL	QELQREFKVS	LHLARKLLSE	VRVQARHFAE	SHLPG-VNLD	LLPLGEQLPN	VSLNFQAWRG
Alligator_mississippiensis	-----	MRTLGLAVVL	SALLGAGGSR	PPP--PPRWA	LGLGPEFRSS	WKLAQKLLVE	TRELTRDFVL	RHLPG-VQLQ	LLPLSEQLLP	GSLRTRDWLG
Callorhinchus_milli	-----	-MAVFFLLLL	SLTELVLVLSAP	TDP-----	NALNLSFHQS	LNLSRKILQD	VQHLLKLYKQ	EKIGNPSFED	YNLMLGSLPS	CQVDYRSWLE
Кластерный консенсус		:: : : *	.	*	* . * *	:: : * * : .	:	:: .	:	* . : *



	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
Homo_sapiens	LSDPERLCFI	STTLQPPHAL	LGGLGTQGRW	TNME---RMQ	LWAMRLDLRD	LQRHLRFQVL	AAGFNLPEEE	--EEEEEEEE	EERKGLLPGA	LGSALQGPAQ
Mus_musculus	LSDSERLCFL	ATTLRPFAM	LGGLGTQGTW	TSSE---REQ	LWAMRLDLRD	LHRHLRFQVL	AAGFKCSEEE	EDKEEEEEEE	EEEKLLPLGA	LGGPNQVSSQ
Rattus_rattus	LSDSDRLCFL	ATTLRPFAL	LGGLGTQRTW	TSSE---REQ	LWAMRLDLRD	LHRHLRFQVQ	AAGFSCSEEE	KEEEEEEEEE	EEGKELLGA	LGGPNQVSSQ
Equus_caballus	LSDPERLCFL	SMTLRPFHAL	LGGLGSQGGW	TSSE---RMQ	LWAMRLDLRD	LQRHLRFQVL	AAGFNLP---	-----EEEE	EKGKELLTGA	PGSPSQTSVQ
Bos_taurus	LSDPERLCFL	SLTLRPFHTL	LGGLGKQEFW	TSSE---RMQ	LQATRLDLRD	LQQHLRFQVL	AAGFNLP---	-----EEHEN	EEEKGLLPGA	LGAPLQISAQ
Sus_scrofa	LSDPERLCFL	SMTLRPFHTL	LGGLGSQGFV	TSSE---RMQ	LWAIRLDLRD	LQQHLRFQVL	AAGFNLPGQ-	-----EEEE	EAGRELLPGA	PGGPKPAAQ
Alligator_mississippiensis	LTVLARLQGL	GAALPQYRGA	LARLGLPG-G	DPEF---AQR	LQDVDWDLRD	LAHHVAYQLS	VA-----	-----EEEE	-----RAPAAP	PPRPPPPAPR
Callorhinchus_milli	QQDEERLLLN	CRDLQVFMH	VDTKRVHELG	QSQDSALLES	MEAISLDRD	LISQLNSQIS	ALNGSSP---	-----	-----DTSTL	TLPNVDVNLPL
Кластерный консенсус	**	* :	:	:	:	****	* :: *	:	:	.



	210	220	230	240	
Homo_sapiens	VSWPQLLSTY	RLLSLELVL	SRAVRELLLL	SKAGHSVWPL	GFPTLSPQP
Mus_musculus	VSWPQLLYTY	QLLSLELVL	SRAVRDLLLL	SLPRRPGSAW	DS-----
Rattus_rattus	VSWPQLLYAY	QLLSLELVL	SRAVRDLLLL	SLPRPPDSAC	DP-----
Equus_caballus	VSWPQLLYTY	QLLSLELVL	SRAVRDLLLL	SQAGNPAQAL	GCPTPSSQP
Bos_taurus	VWSRFLYTY	RLLSLELLL	SRTVRDLLLL	SRAGNSVQAL	GFPTPSSQP
Sus_scrofa	VSWPRLLTY	QLLSLELVL	SRAMRDFLLL	SRAGNPAPAL	GFPTPSSPP
Alligator_mississippiensis	AVWRRLLQATA	VTLSLEAVL	ARAARDFALL	RRLVAPAL--	-----
Callorhinchus_milli	YDWH SRLQGY	IIFRDLEVYL	NKVVRDFTVL	KKH-----	-----
Кластерный консенсус	*	:: ** *	.. * :: *	:	:



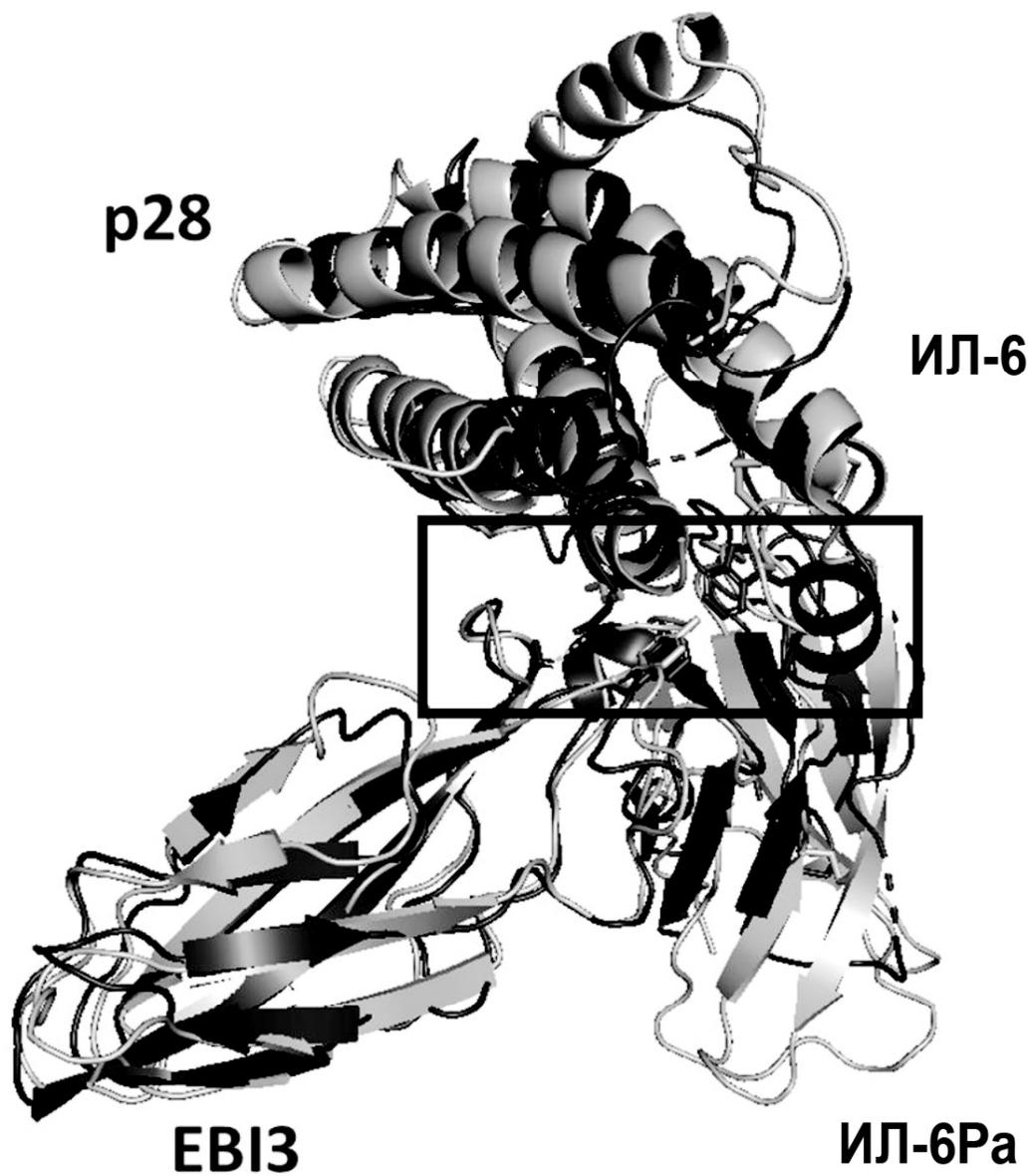
= консервативные аминокислоты\_соляных мостиков AA's



= консервативные гидрофобные аминокислоты AA's



Фиг. 16А



Фиг. 16В

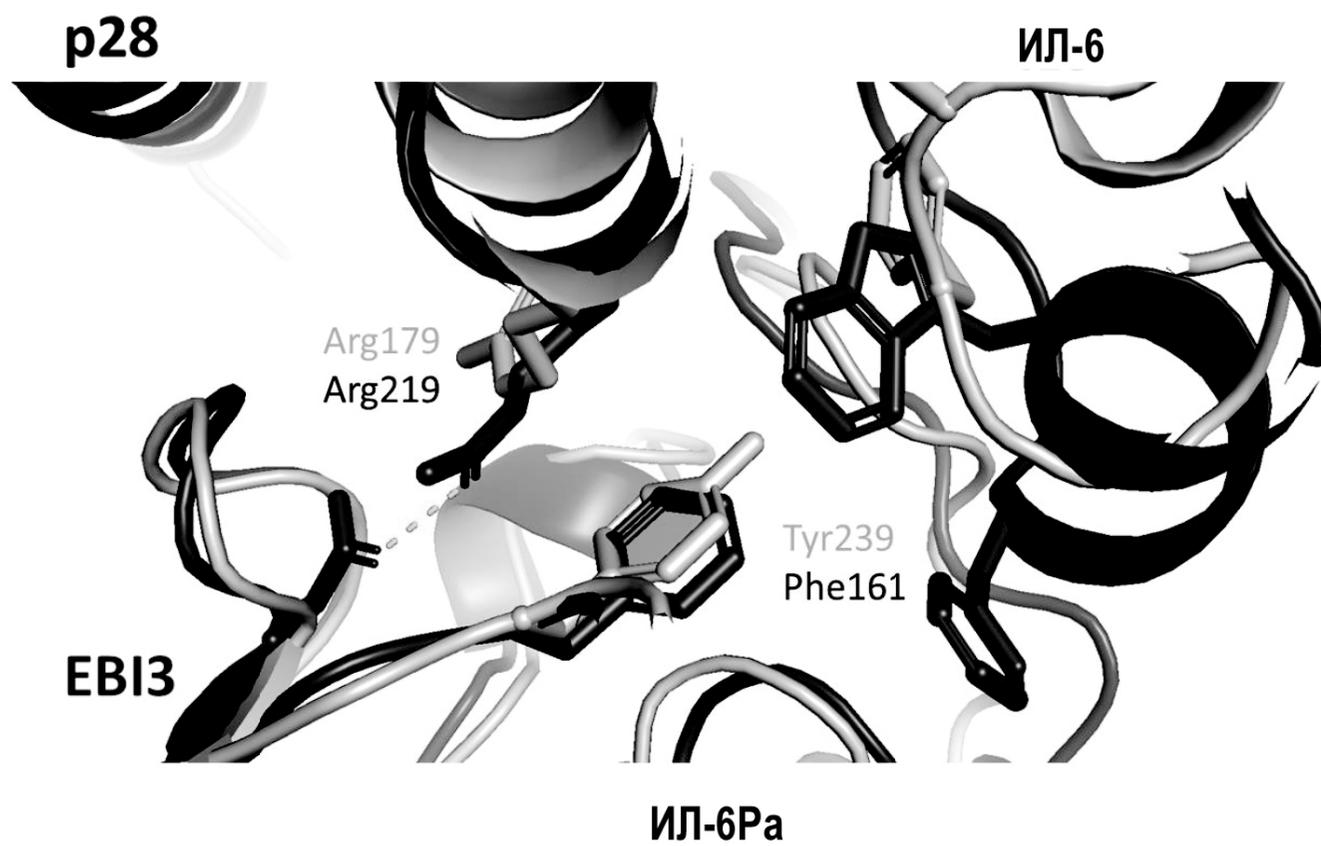
	10	20	30	40	50	60	70	80
ч_p28	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
ЧИЛ-6	FPRPPGRP-Q	LSLQELRREF	TVSLHLARKL	LSEVRGQahr	FAESHLPGVN	LYLLPLGEQL	PDVSLTFQAW	RRLSDPERLC
	--VPPGEDSK	DVAAPHRQPL	TSSERIDKQI	RYILDGISAL	RKETCNKSNM	CESSKEALAE	NNLNLPKMAE	-----KDGC
	90	100	110	120	130	140	150	160
ч_p28	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
ЧИЛ-6	FISTTLQPFH	APLGGLGTQG	RWTNMQMQL	WAMRLDLRDL	QRHLRFQVLA	AGFNLPEEEE	EEEEEEEEER	KGLLPALGS
	FQSGFNEETC	LVKIITGLLE	FEVYLEYLQN	RFESSEEQAR	AVQMSTKVLV	QFLQKKAKNL	DAITTPDP--	--TTNASLLT
	170	180	190	200	210			
ч_p28	.....	.....	.....	.....	.....			
ЧИЛ-6	ALQGPAQVSW	PQLLSTYRLL	HSLELVLSRA	VRELLLLSKA	GHSVWPLGFP	TLSPQP		
	KLQ--AQNQW	LQDMTTHLIL	RSFKEFLQSS	LRALRQM---				

Фиг. 16С

	10	20	30	40	50	60	70	80
ч_EBI3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
ЧИЛ6-Ра	RKGPPAALTL	PRVQCRASRY	PIAVDCSWTL	PPAPNSTSPV	SFIATYRLGM	AARGHSWPCL	QQTPTSTSTCT	ITDVQLFSMA
	-----EE	PQLSCFRKSP	LSNVVCEWGP	RSTPSLTTKA	VLLVRKFQNS	PAEDFQEPCC	YSQESQKFSC	QLAVPEGDSS
	90	100	110	120	130	140	150	160
ч_EBI3	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
ЧИЛ6-Ра	PYVINVTAVH	PWGSSSSFVP	-FITEHIKP	DPPEGVRLSP	LAER--QLQV	QWEPGSGWPF	PEIFSLKYWI	RYKRQGAARF
	FYIVSMCVAS	SVGSKFSKTQ	TFQCGILQP	DPPANITVTA	VARNPRWLSV	TWQDPHSWNS	-SFYRLRFEL	RYRAERSKTF
	170	180	190	200	210			
ч_EBI3	.....	.....	.....	.....	.....			
ЧИЛ6-Ра	HRVGPIEATS	-FILRAVRPR	ARYYVQVAAQ	DLTDYGELSD	WSLPATATMS	LGK		
	TTWMVKDLQH	HQVIHDAWSG	LRHVVQLRAQ	EEFGQGEWSE	WSPEAMGTPW	---		

 = соляной мостик  
 = гидрофобные

Фиг. 16D



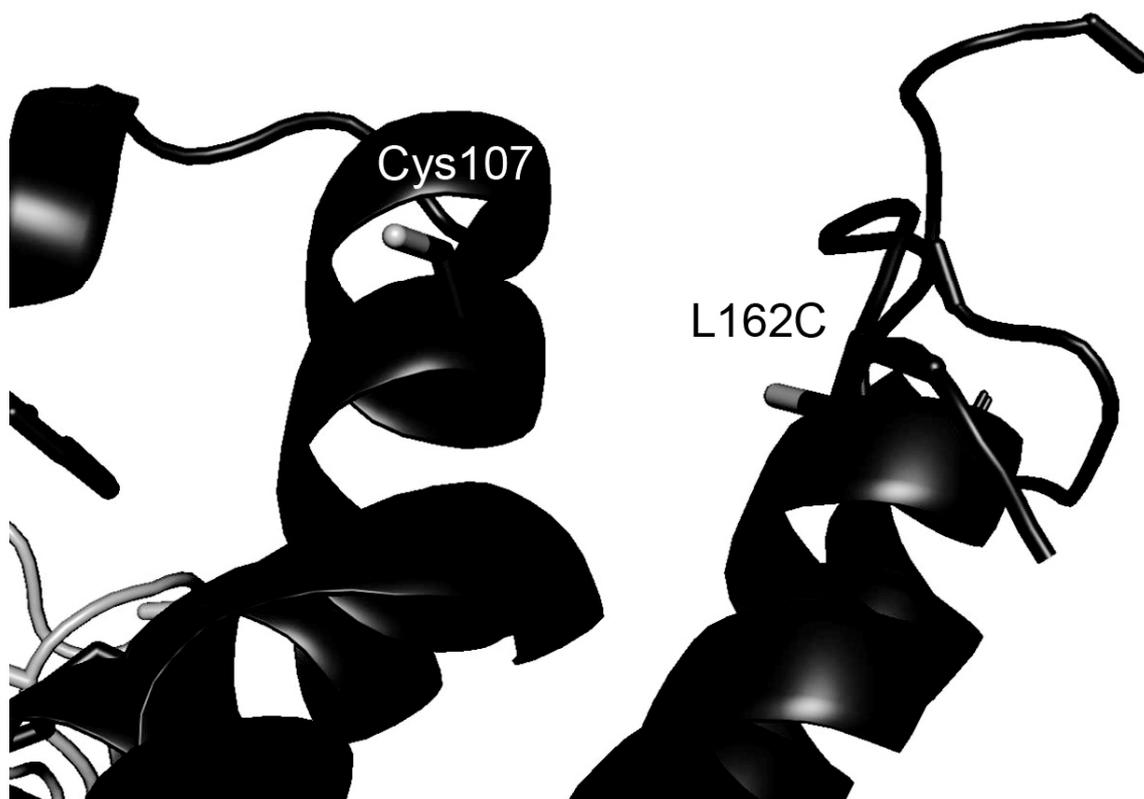
Фиг. 17

Лиганд	Аналит	Результат
gp130	EVI3	×
gp130	p28	KD: ~1 мкМ
gp130	EVI3 p28	KD: 34 нМ
WSX-1	EVI3	KD: 3,81 нМ
WSX-1	p28	×
WSX-1	EVI3 p28	Очень тесное связывание
Антитело Ab3 против ИЛ-27 (против p28) p28	EVI3	KD: 5,07 нМ

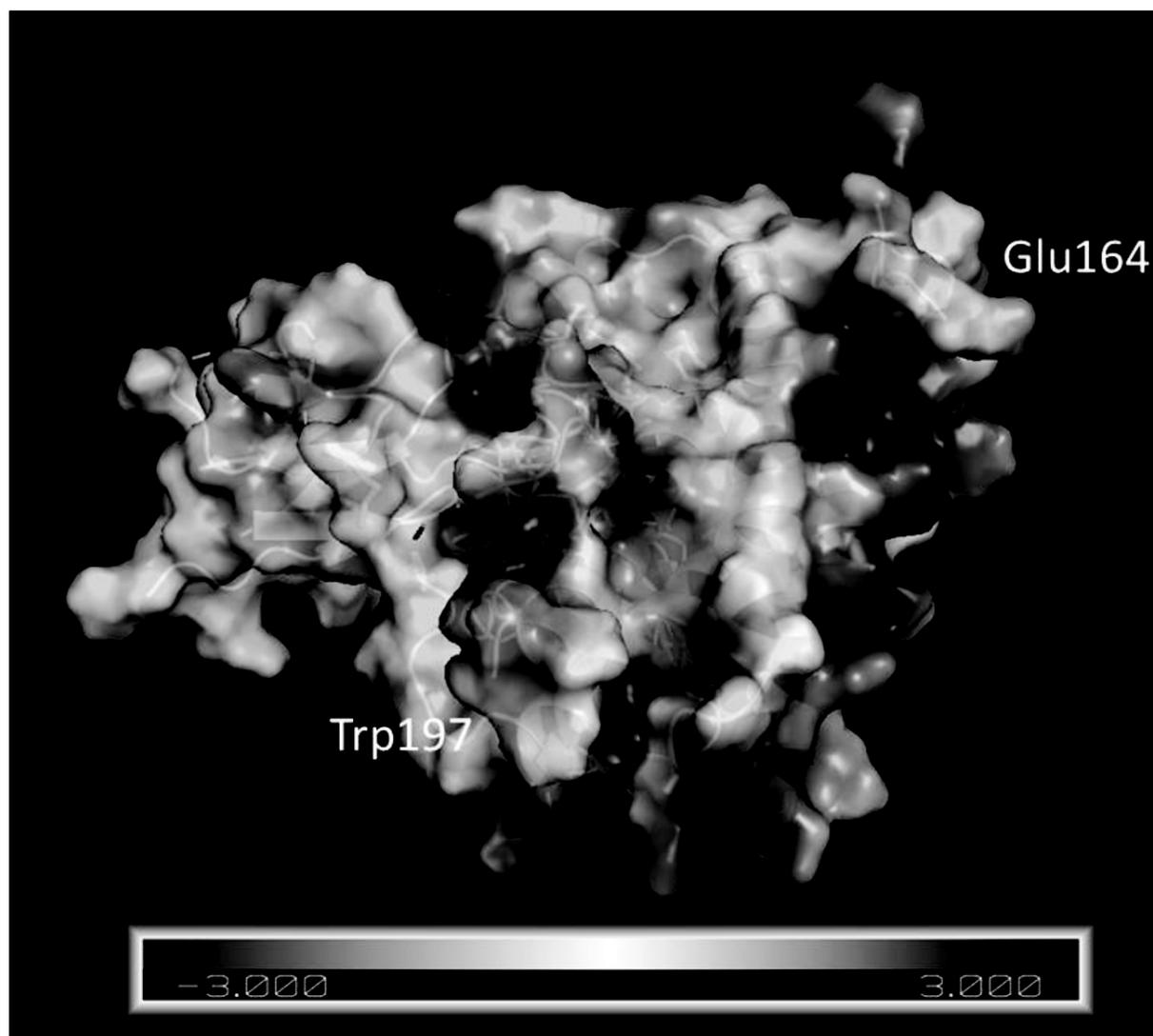
Фиг. 18А

	10	20	30	40	50	60	70	80
ИП-27А_ЧЕЛОВЕКА	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
ИП-27А_МЫШИ	FPRPPGRPQL	SLQELRREFT	VSLHIARKLL	SEVRGQAHRF	AESHLPGVNL	YLLPLGEQLP	DVSLTFQAWR	RLSDPERLCF
	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
ИП-27А_ЧЕЛОВЕКА	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
ИП-27А_МЫШИ	LATTLRPFPA	MLGGLGTQGT	WTSSEREQIW	AMRLDLRDLH	RHLRFQVLAA	GFNLPEEEE-	EEEEEEEEEE	RKGLLPGALG
	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
ИП-27А_ЧЕЛОВЕКА	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
ИП-27А_МЫШИ	GPNQVSSQVS	WPQLLYTYQL	LHSLELVLSR	AVRDLLLLSL	PRRPGSAWDS	-----		

Фиг. 18В

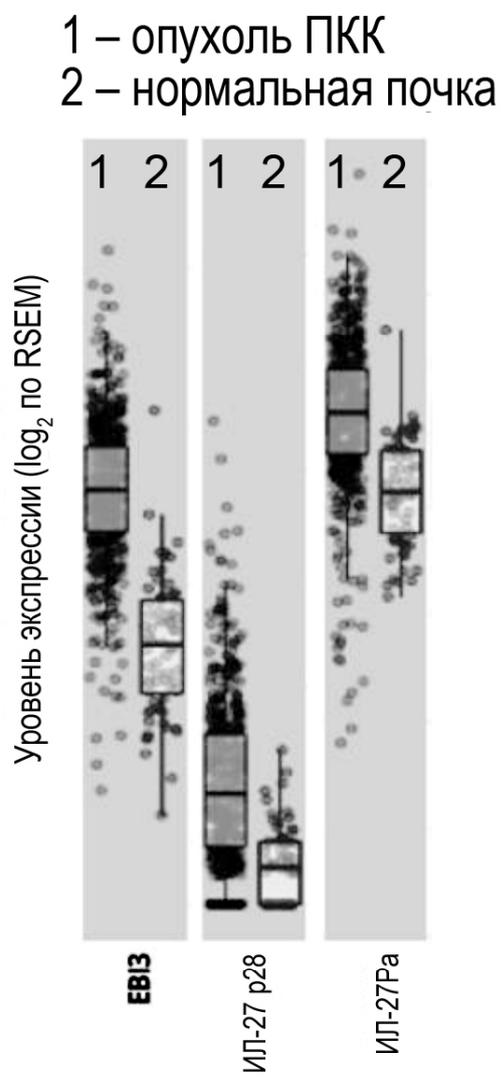


Фиг. 19А

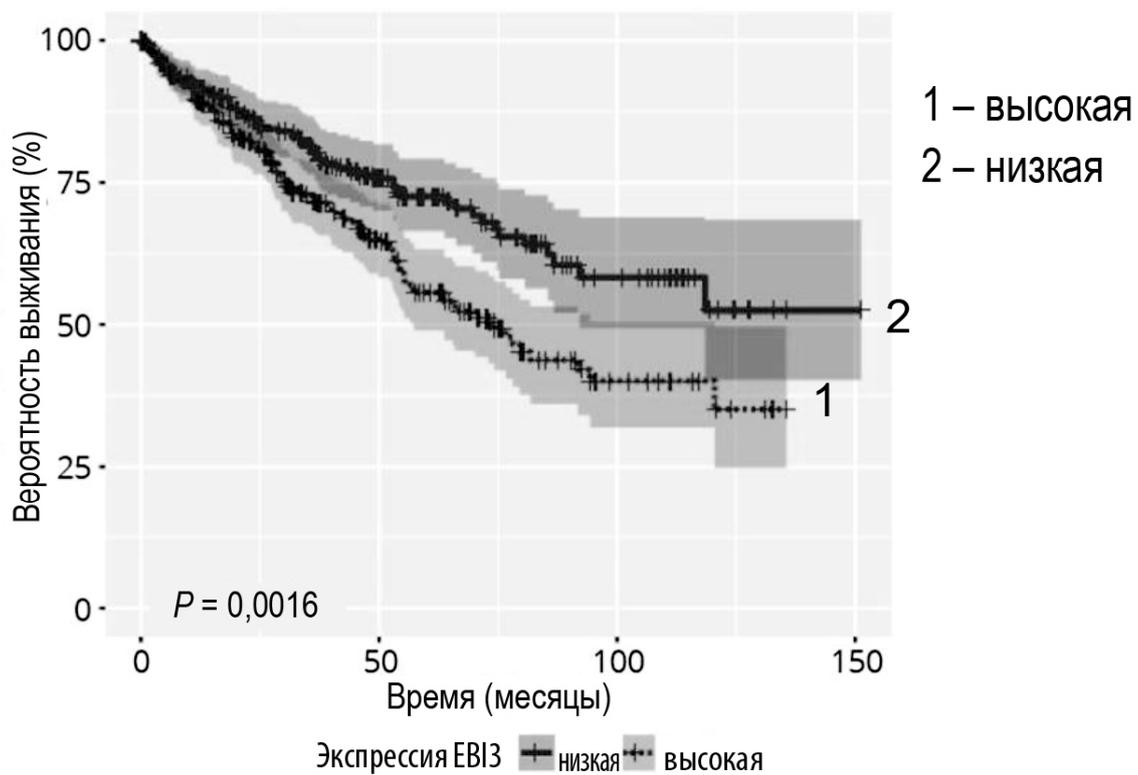




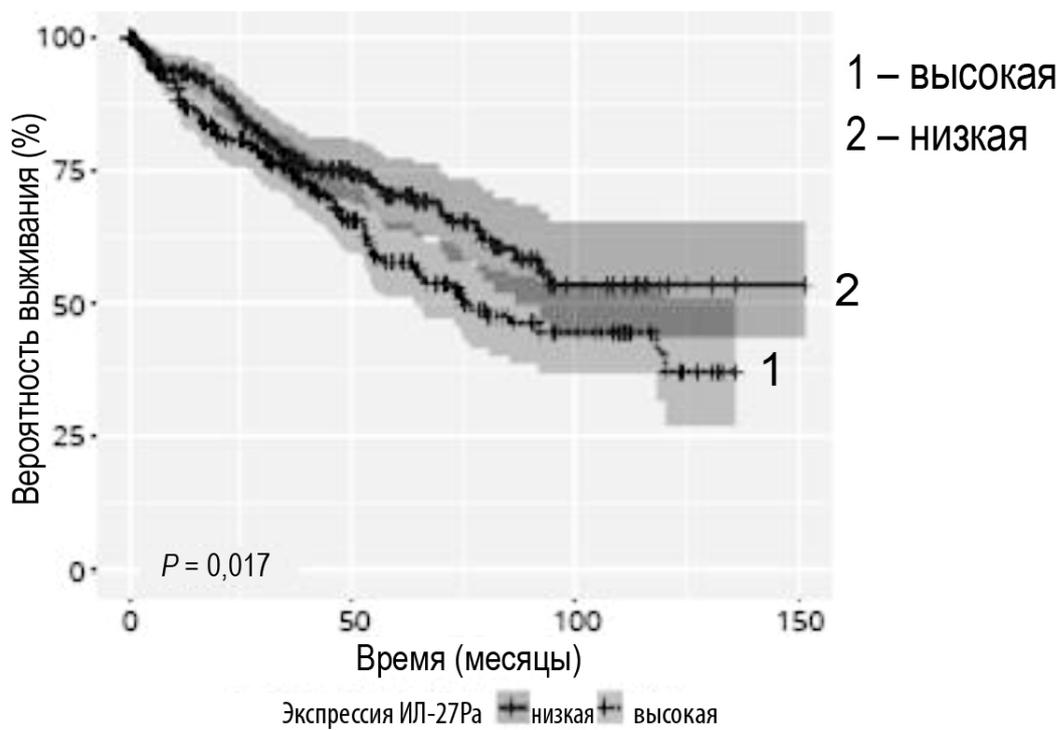
Фиг. 20А



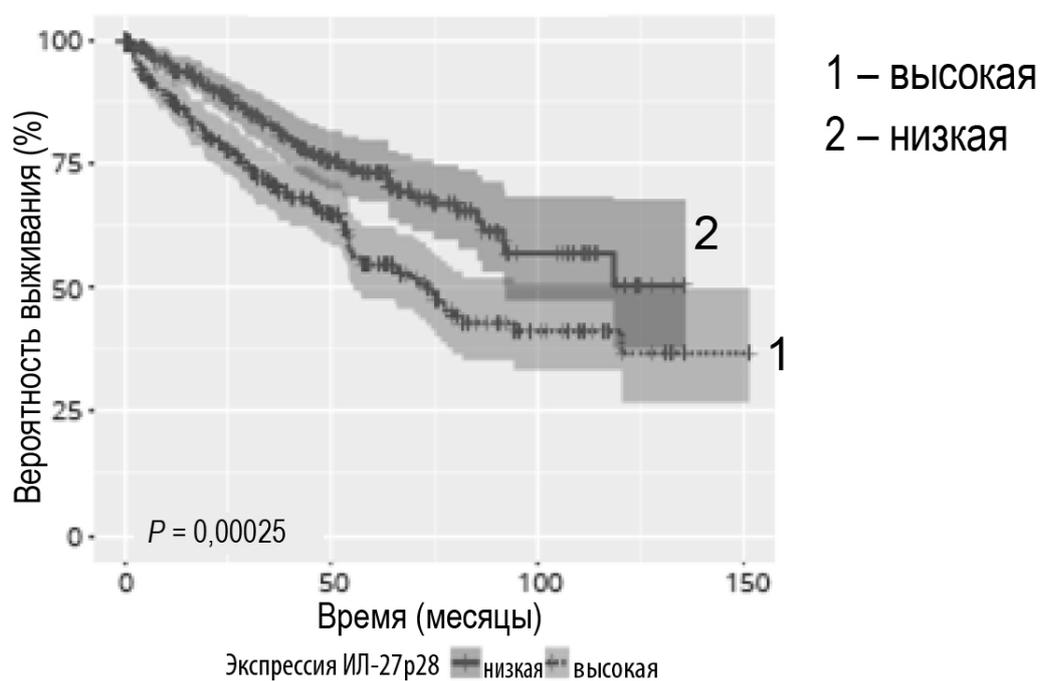
Фиг. 20В



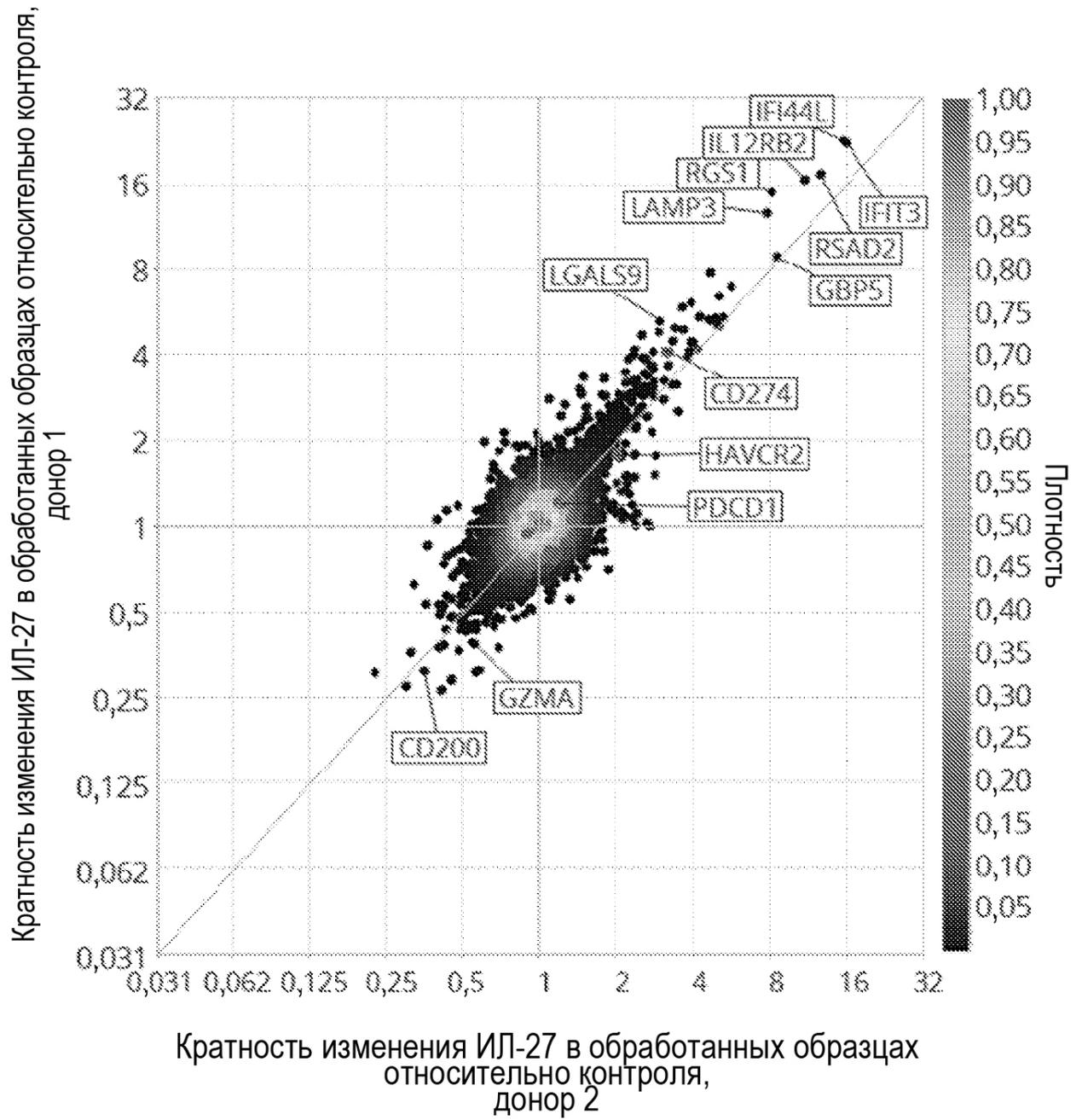
Фиг. 20С



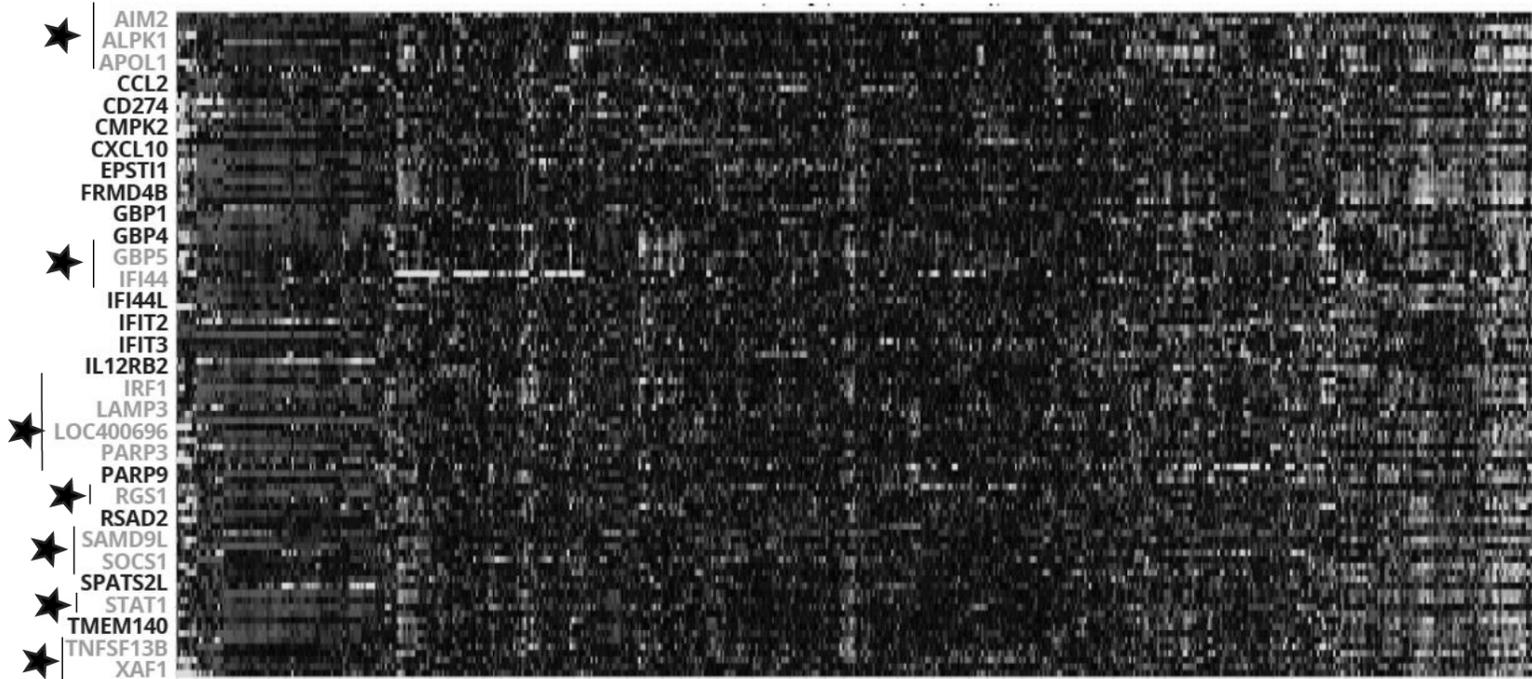
Фиг. 20D



Фиг. 21А



Фиг. 21В



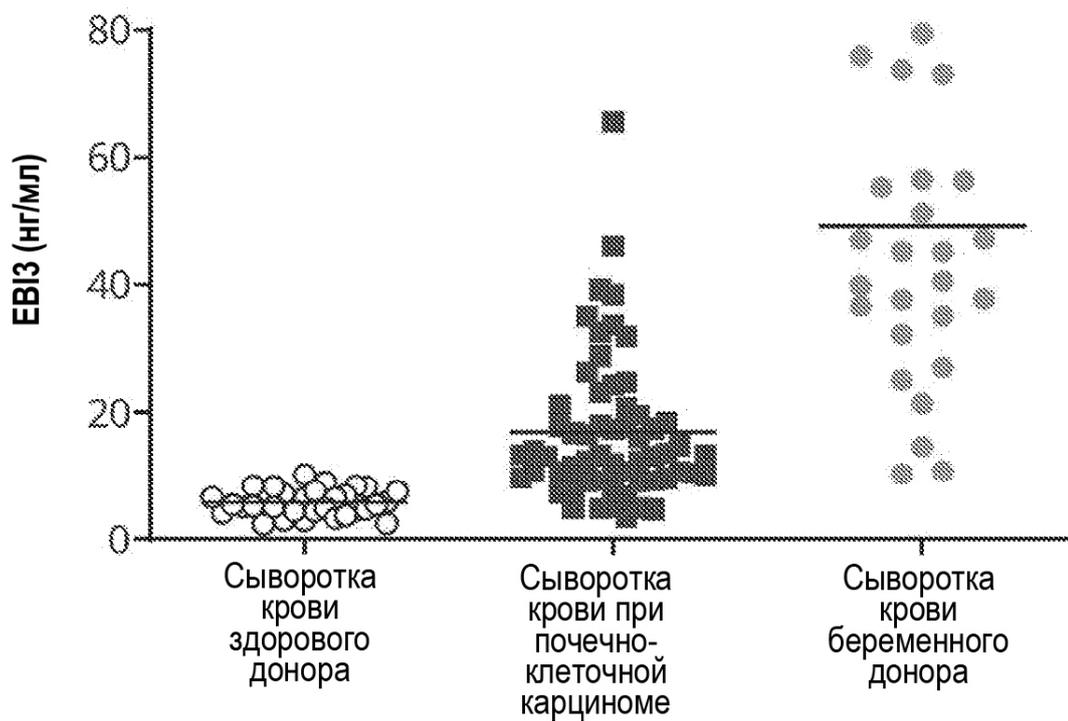
Фиг. 22А



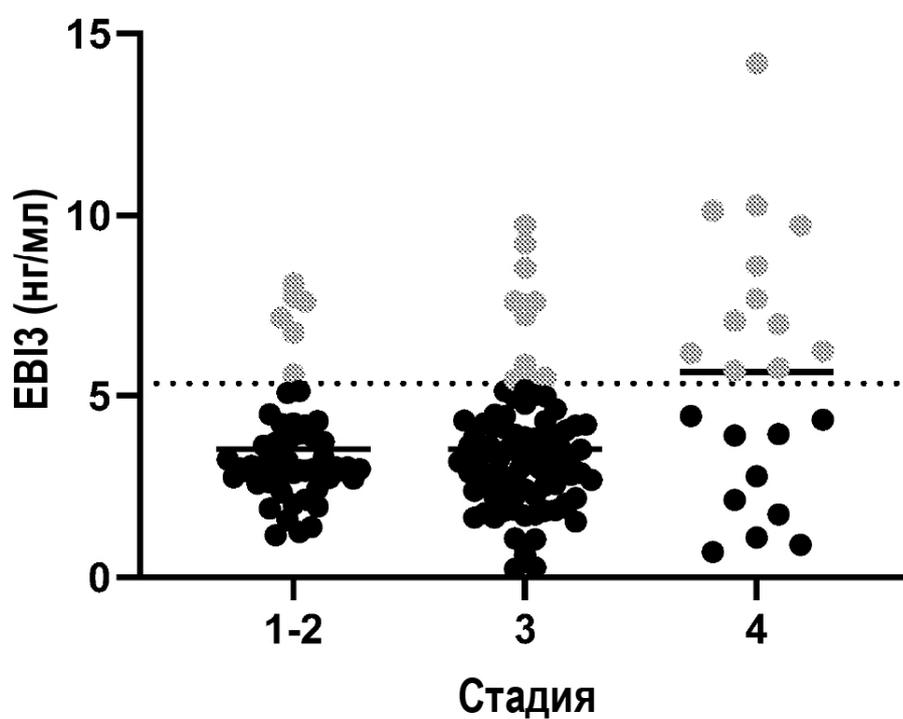
Фиг. 22В



Фиг. 23А

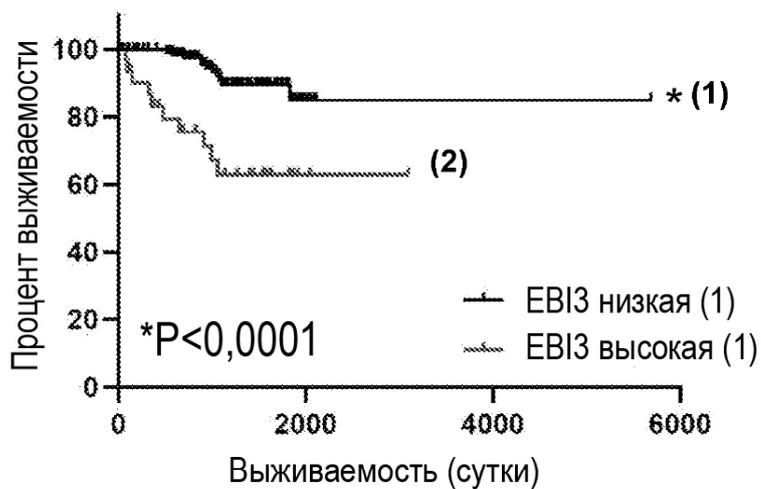


Фиг. 23В



Фиг. 23С

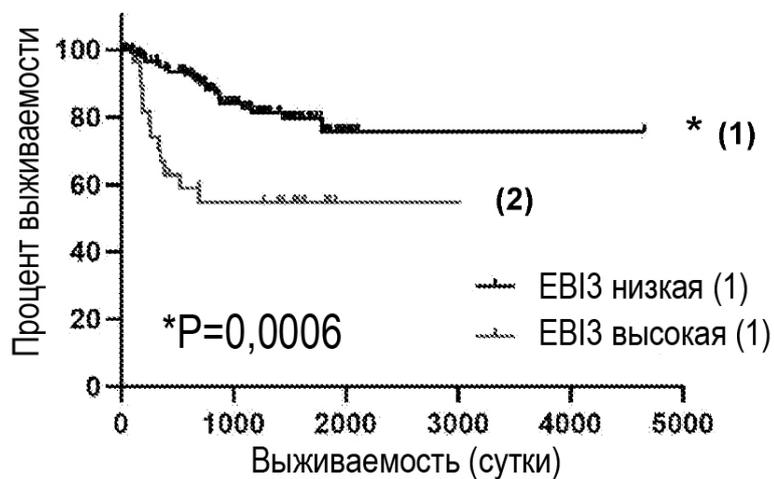
## Общая выживаемость



Отношение риска	4,752
95%-й ДИ	от 1,482 до 15,23

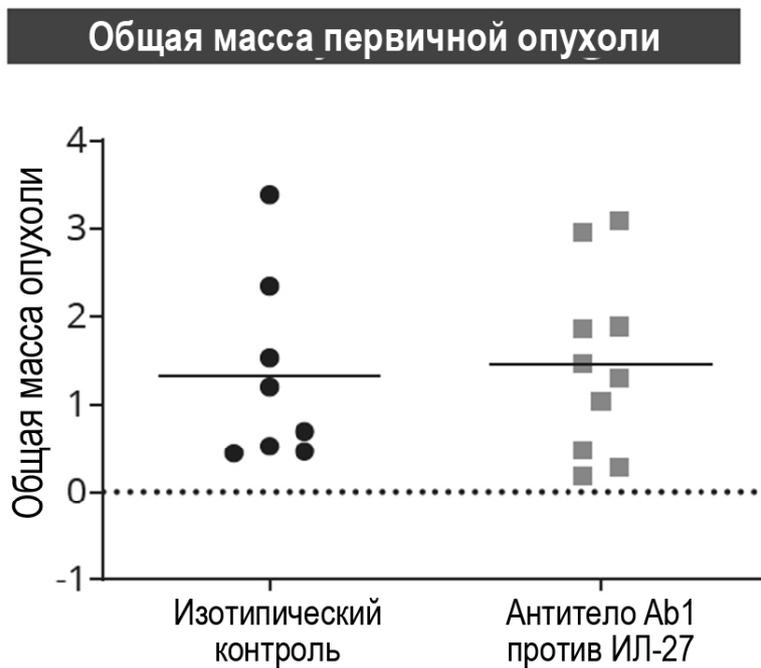
Фиг. 23D

## Безрецидивная выживаемость

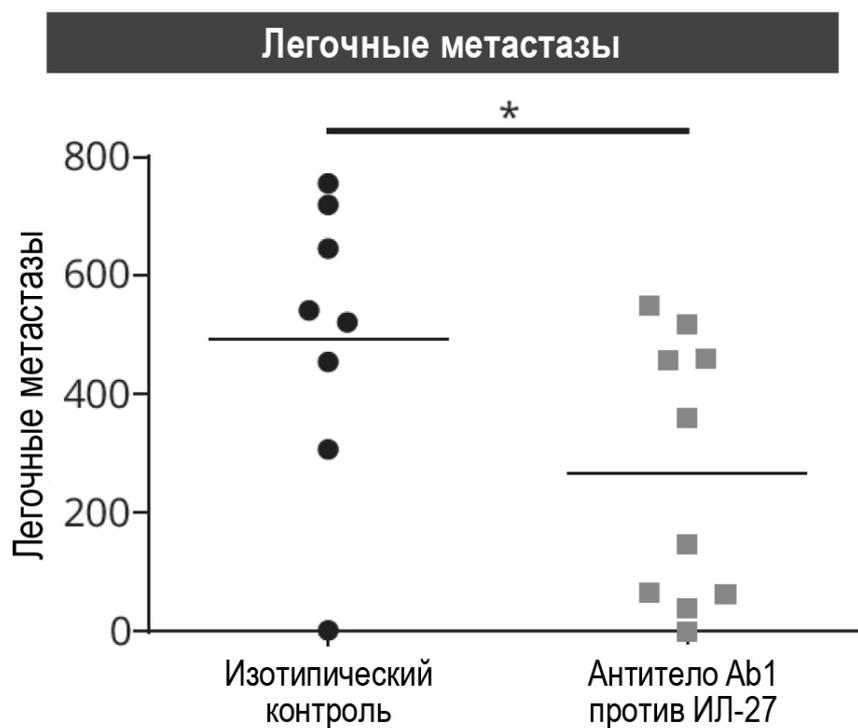


Отношение риска	3,194
95%-й ДИ	от 1,231 до 8,288

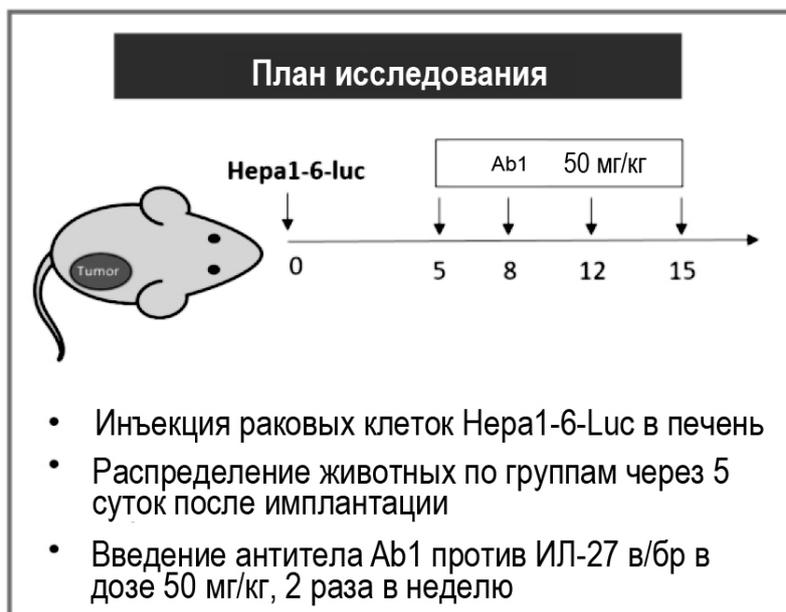
Фиг. 24А



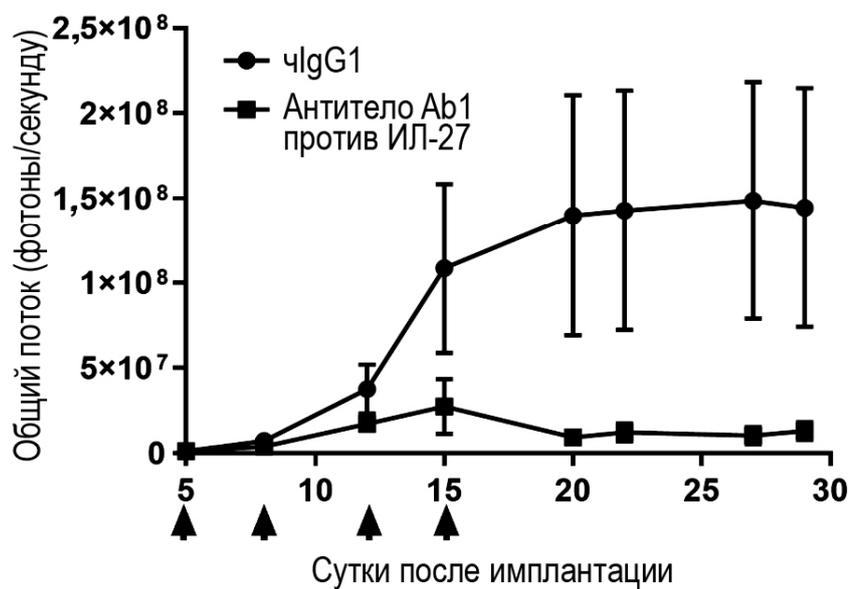
Фиг. 24В



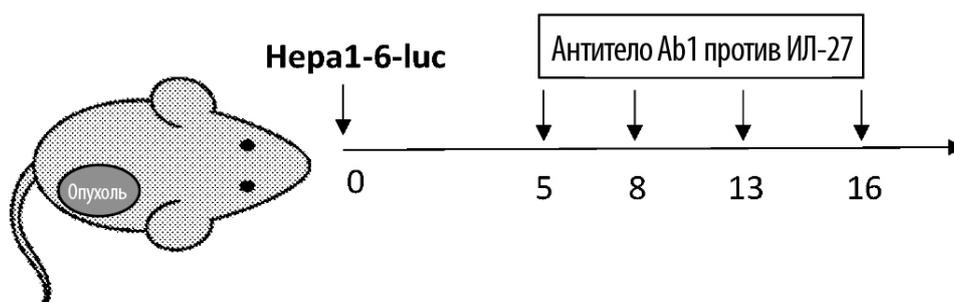
Фиг. 25А



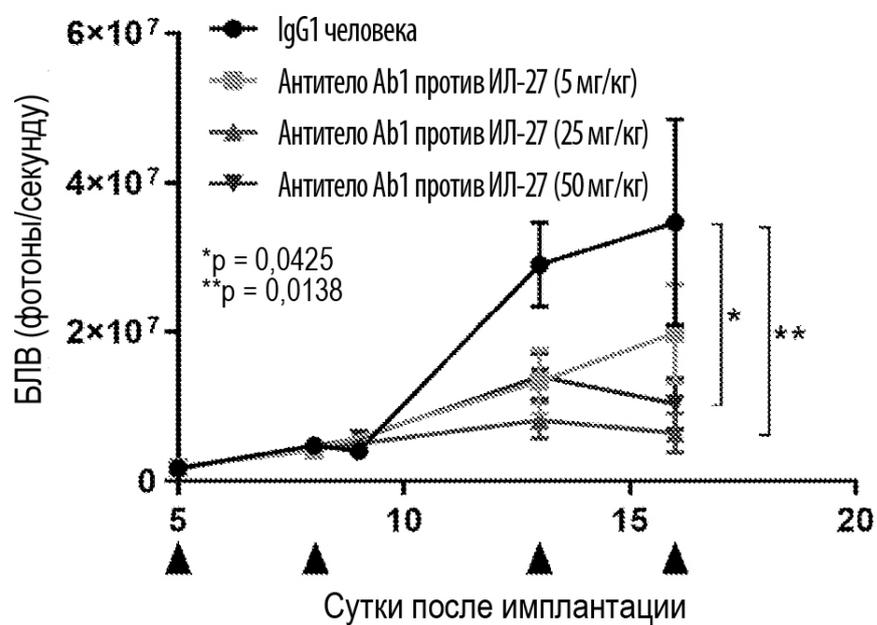
Фиг. 25В



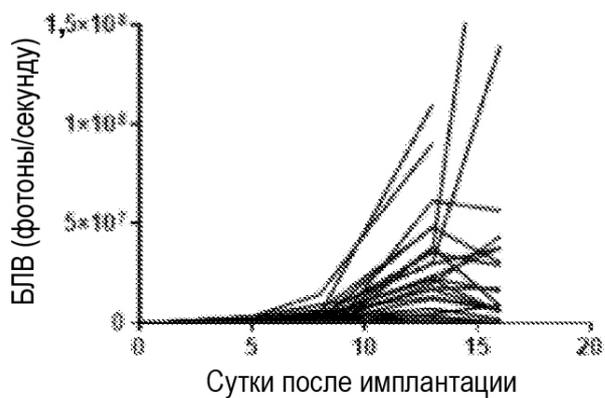
Фиг. 26А



Фиг. 26В



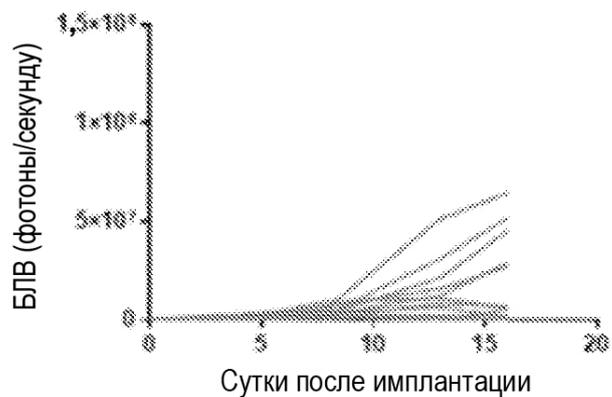
Фиг. 26С  
IgG1 человека



Антитело Ab1 против ИЛ-27 (25 мг/кг)

Фиг. 26D

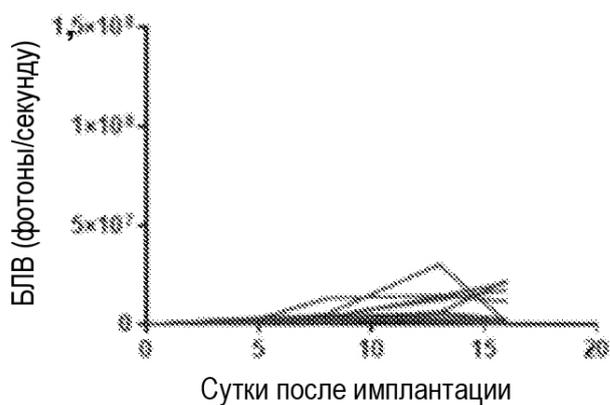
Антитело Ab1 против ИЛ-27 (50 мг/кг)



Антитело Ab1 против ИЛ-27 (50 мг/кг)

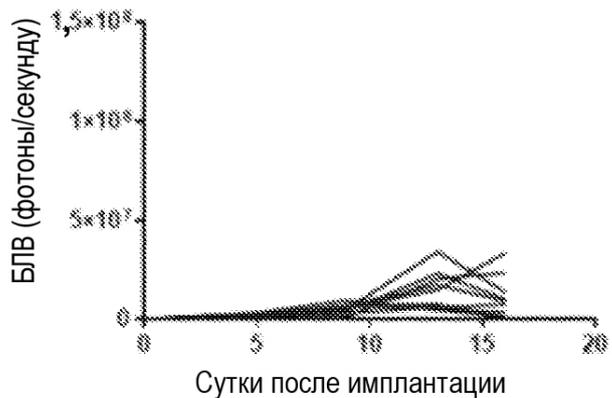
Фиг. 26Е

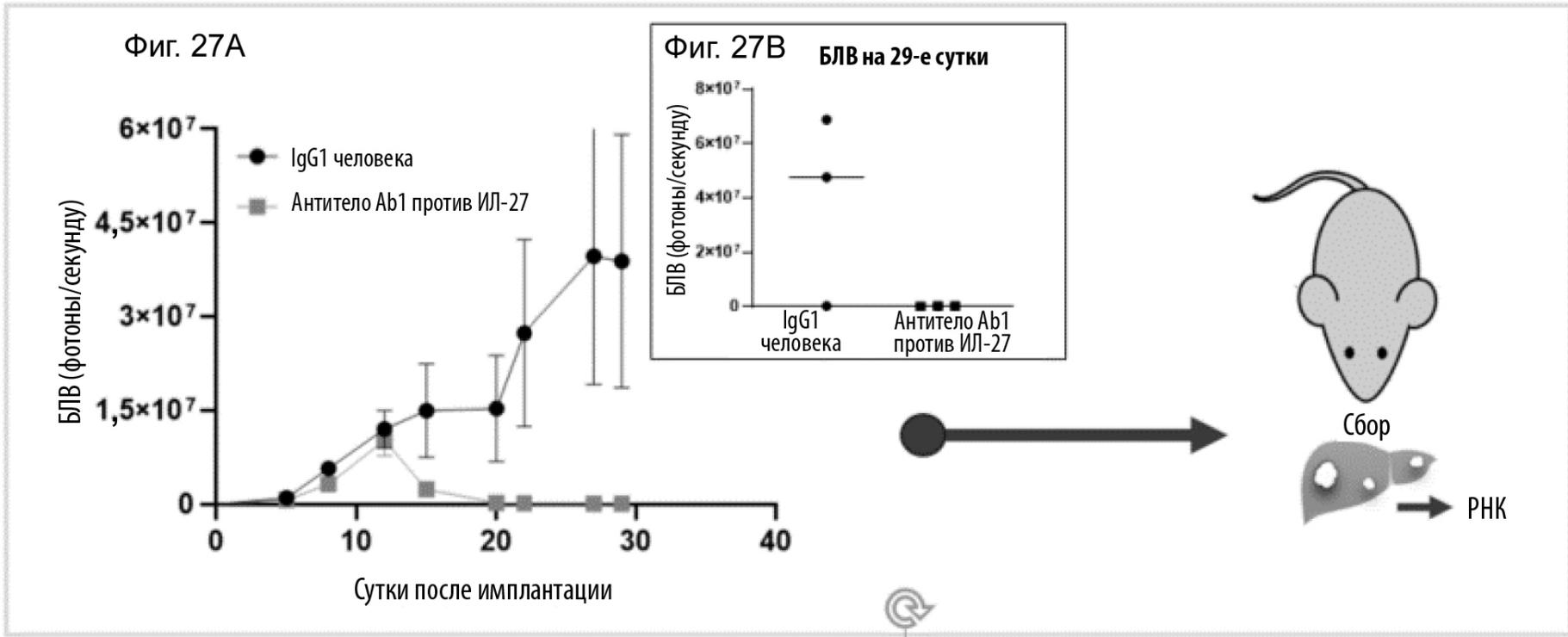
Антитело Ab1 против ИЛ-27 (25 мг/кг)



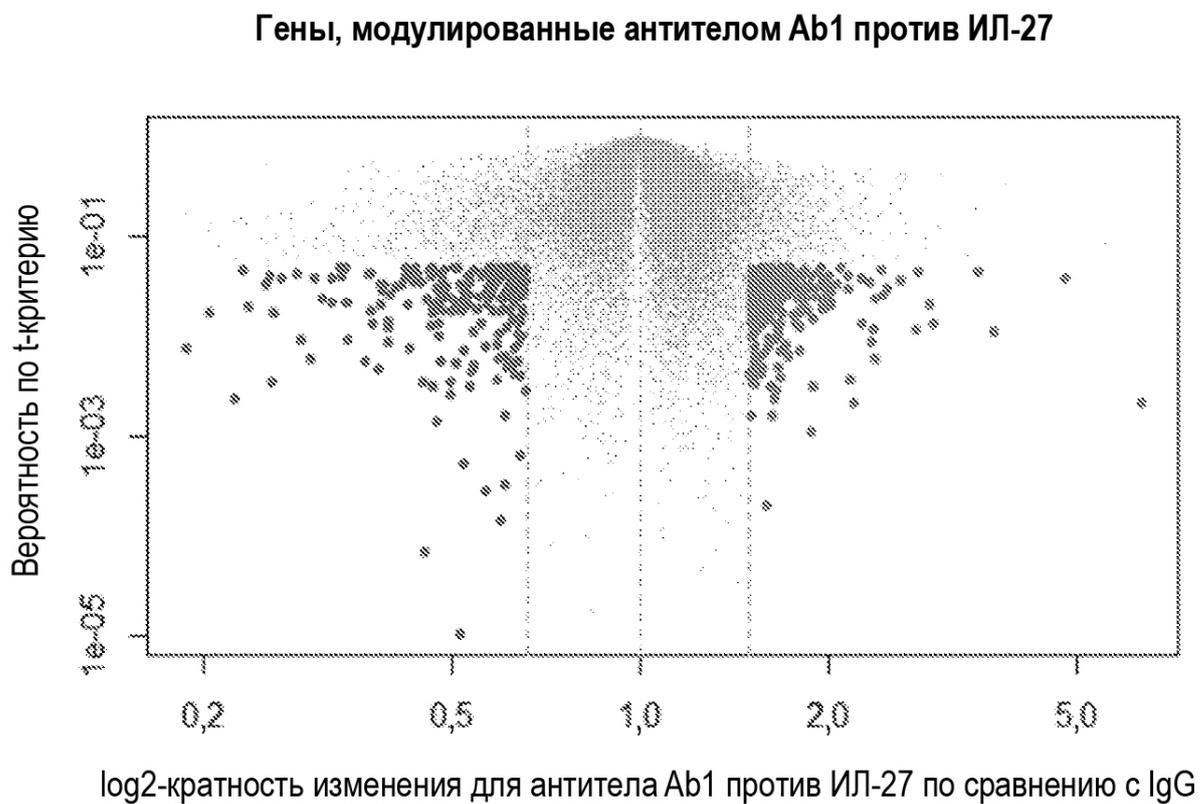
Фиг. 26F

Антитело Ab1 против ИЛ-27 (50 мг/кг)





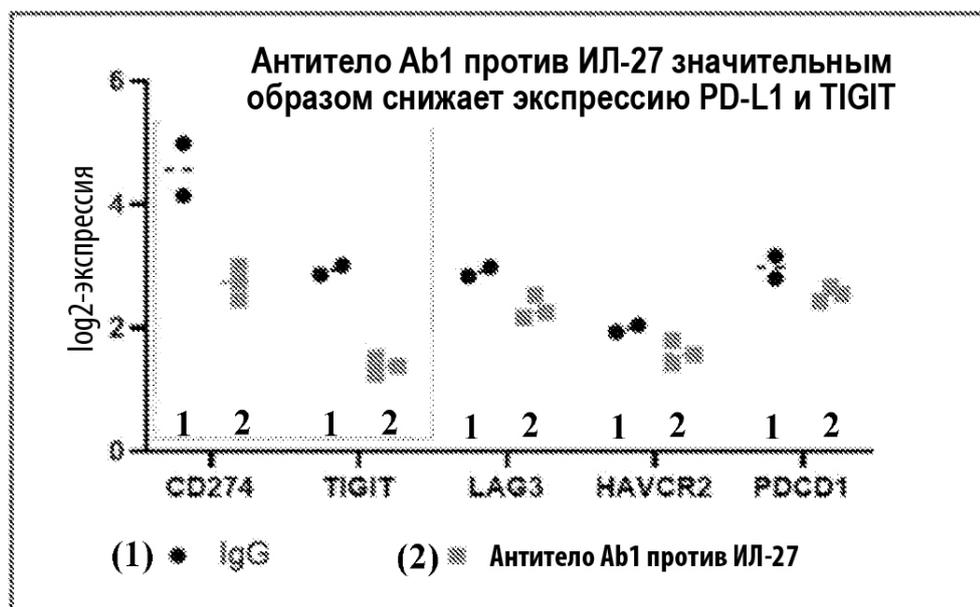
Фиг. 27С



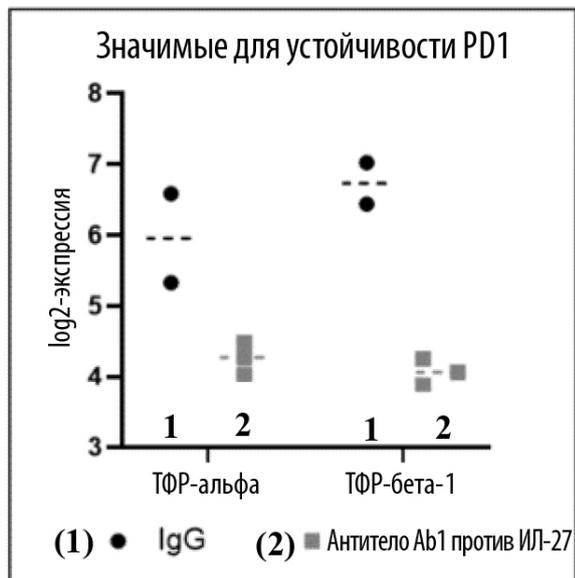
Фиг. 28А



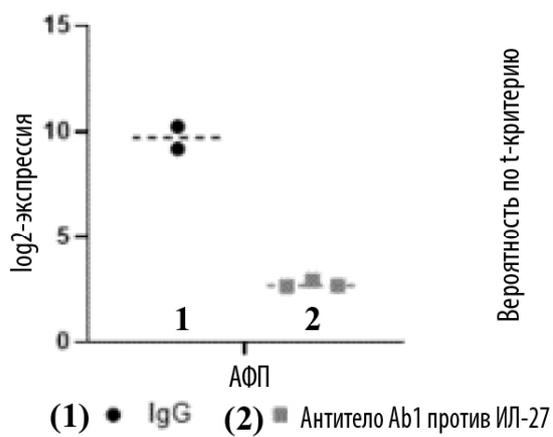
Фиг. 28В



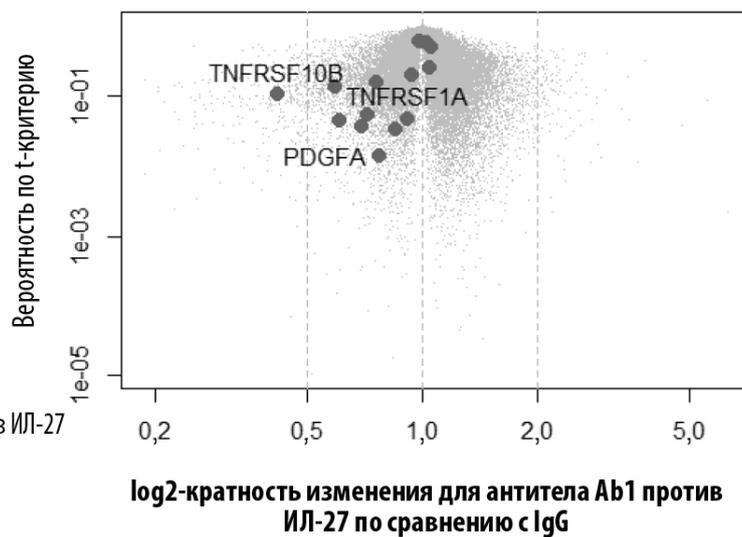
Фиг. 28С



Фиг. 28D

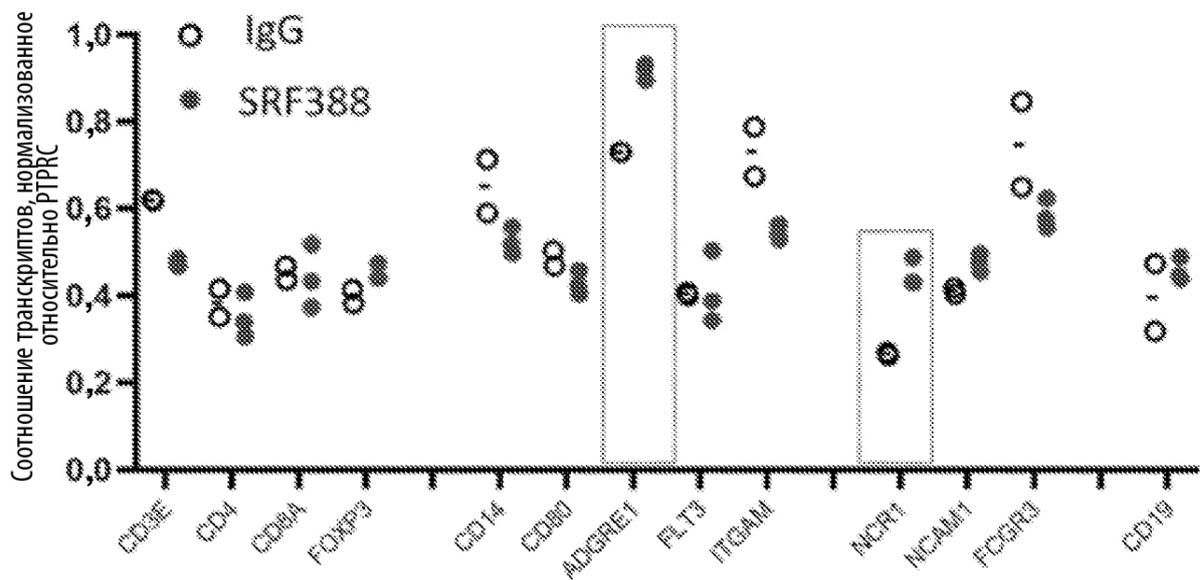


Фиг. 28Е



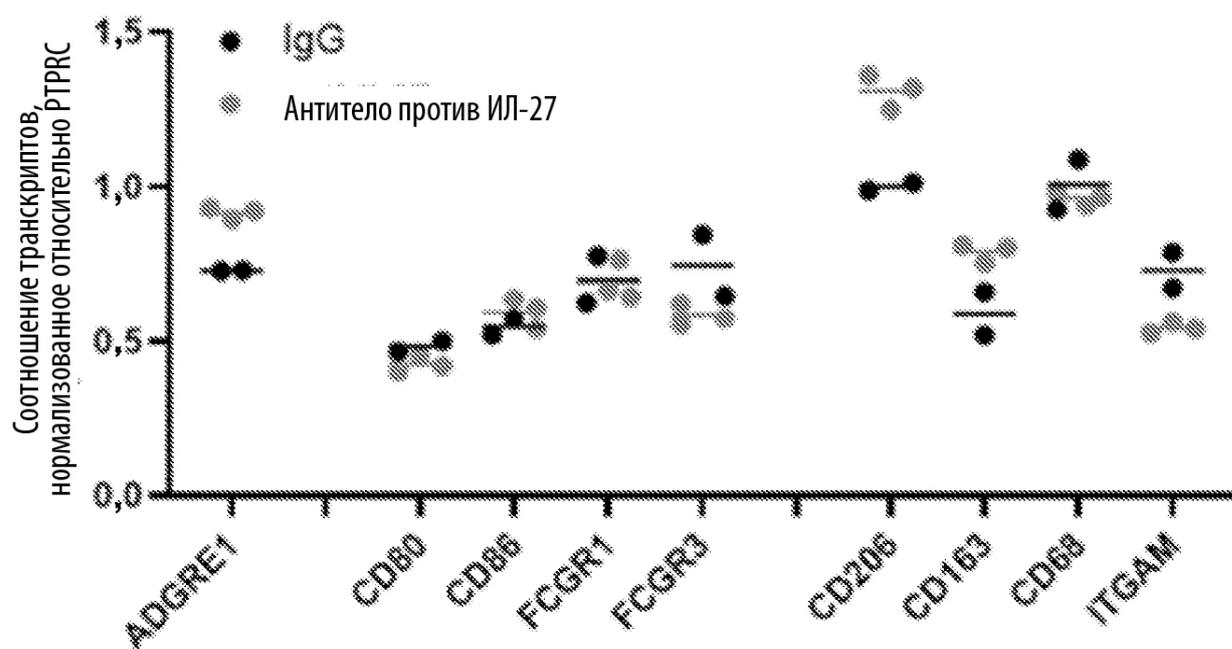
Фиг. 29А

Антитело Ab1 против ИЛ-27 способствует повышению уровней транскриптов макрофагов и НК-клеток в МОО

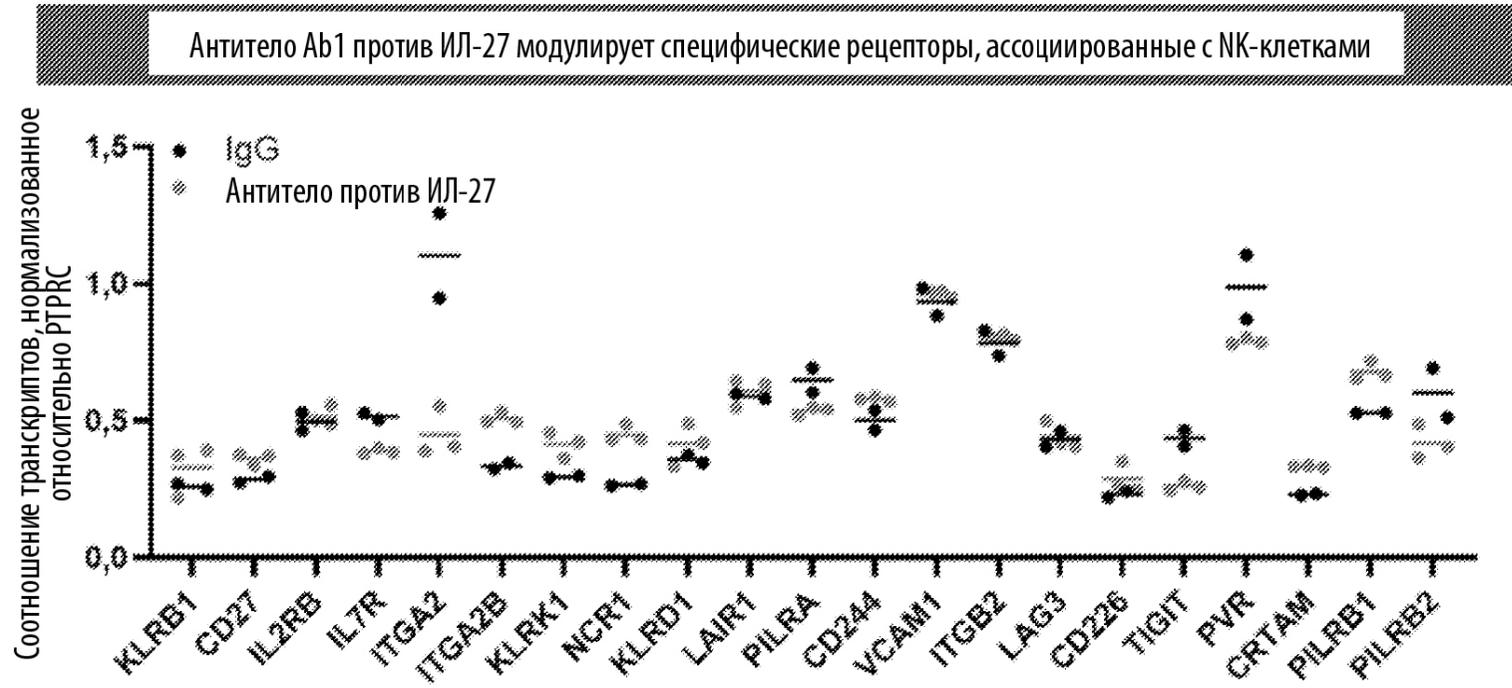


Фиг. 29В

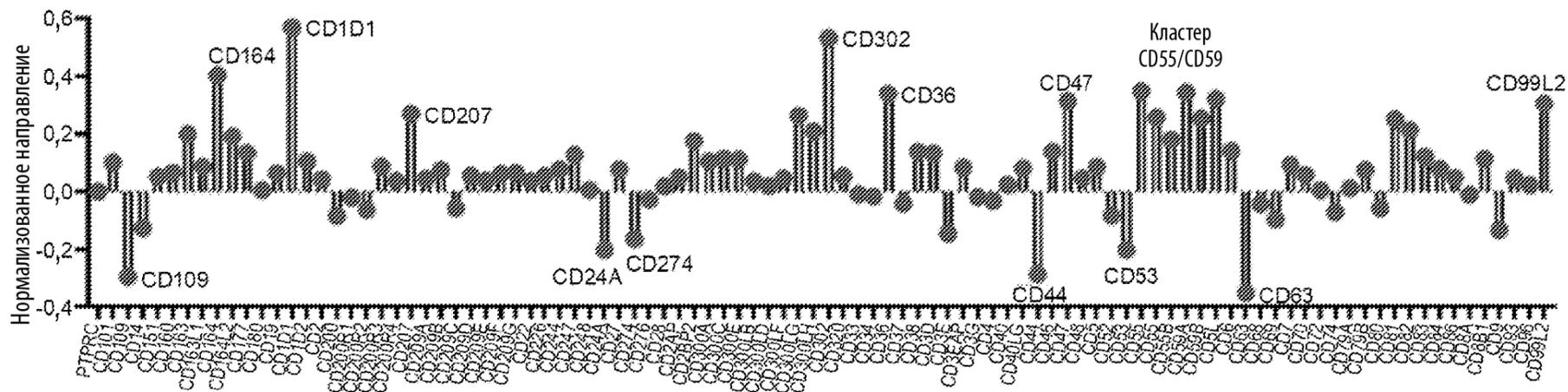
Ключевые маркеры, ассоциированные с макрофагами



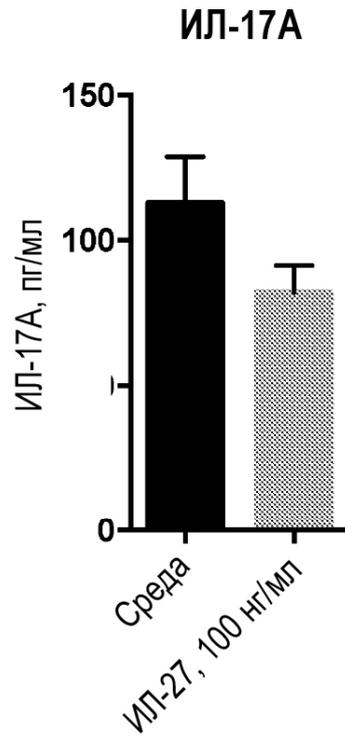
Фиг. 30



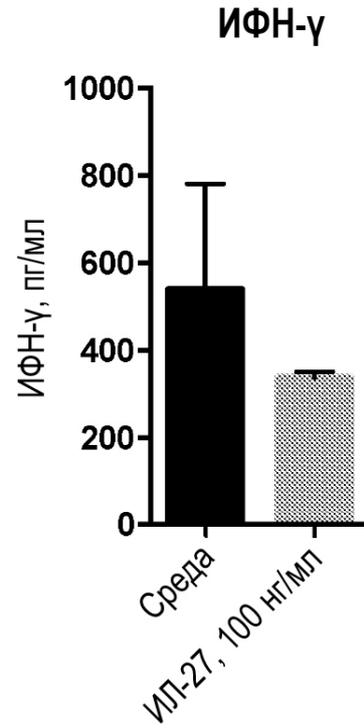
Фиг. 31



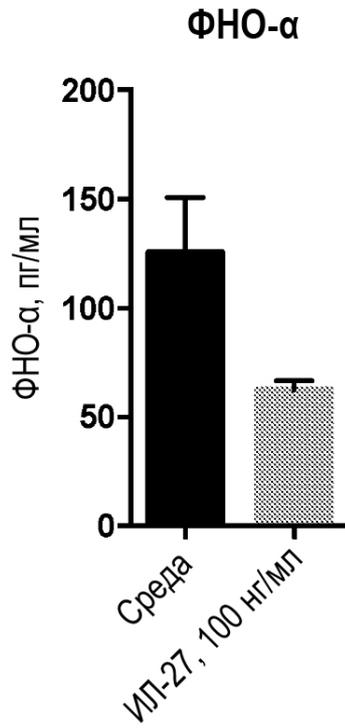
Фиг. 32А



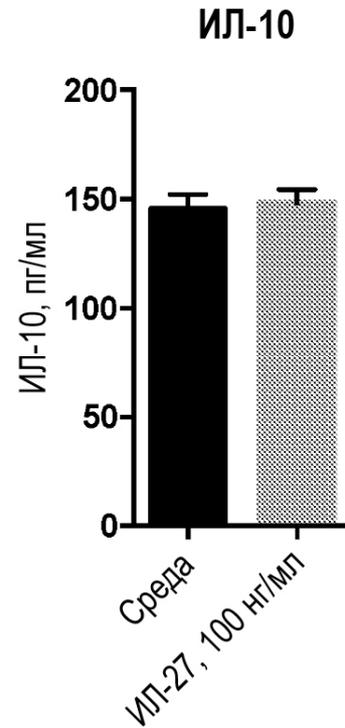
Фиг. 32В



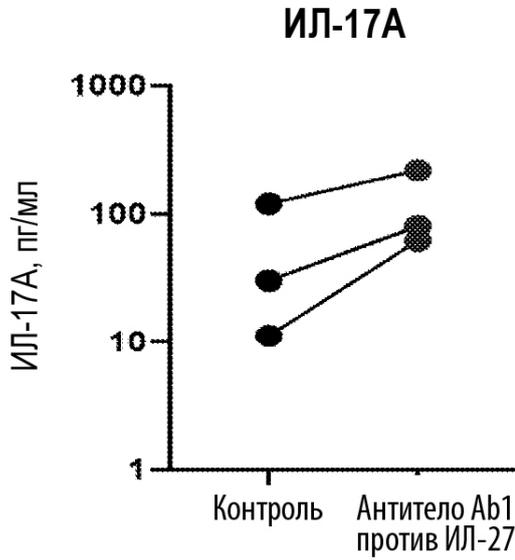
Фиг. 32С



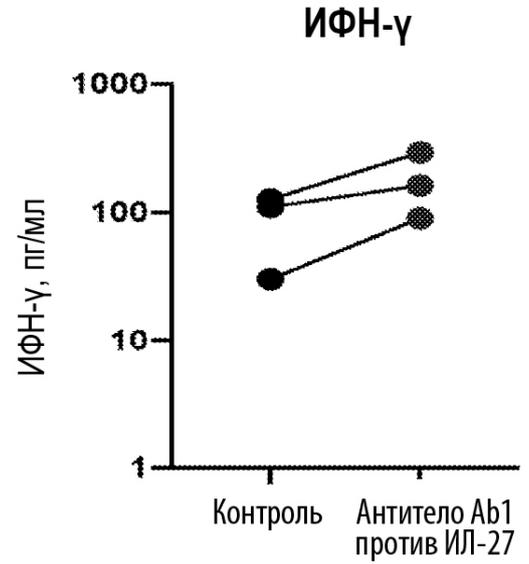
Фиг. 32D



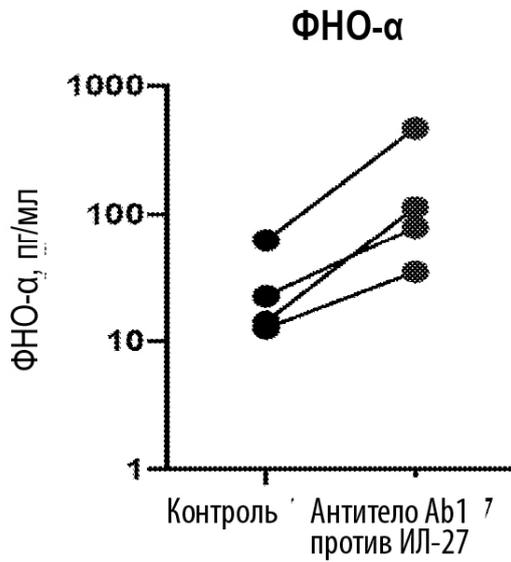
Фиг. 33А



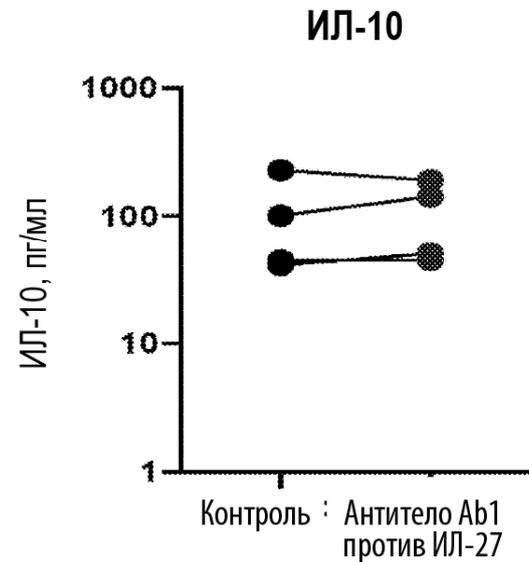
Фиг. 33В



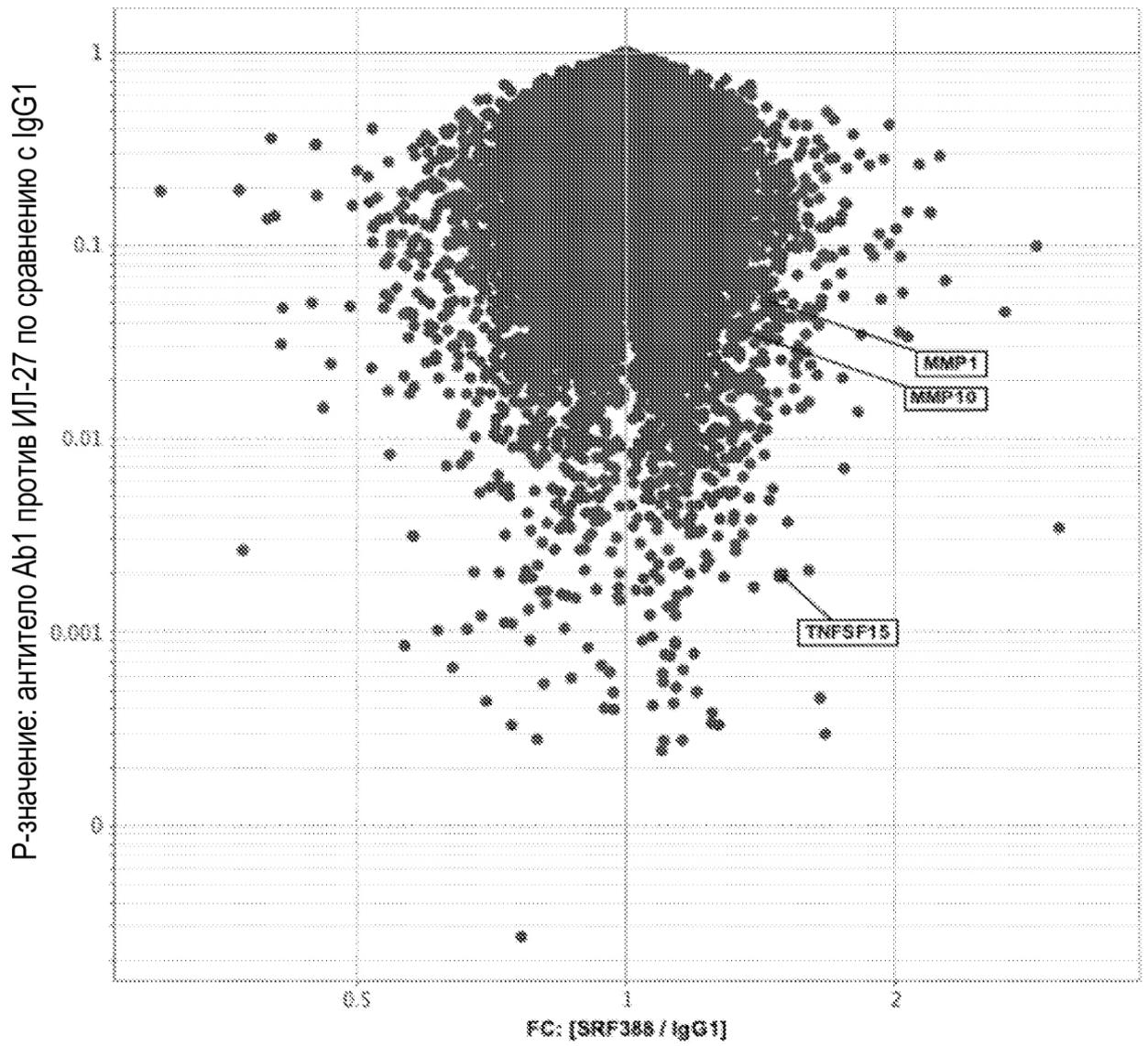
Фиг. 33С



Фиг. 33Д



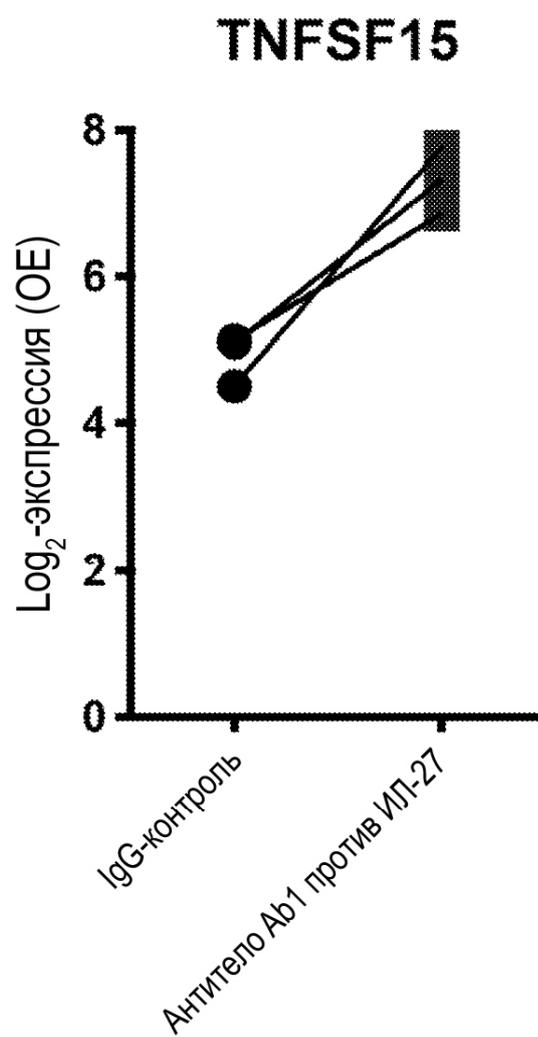
Фиг. 34



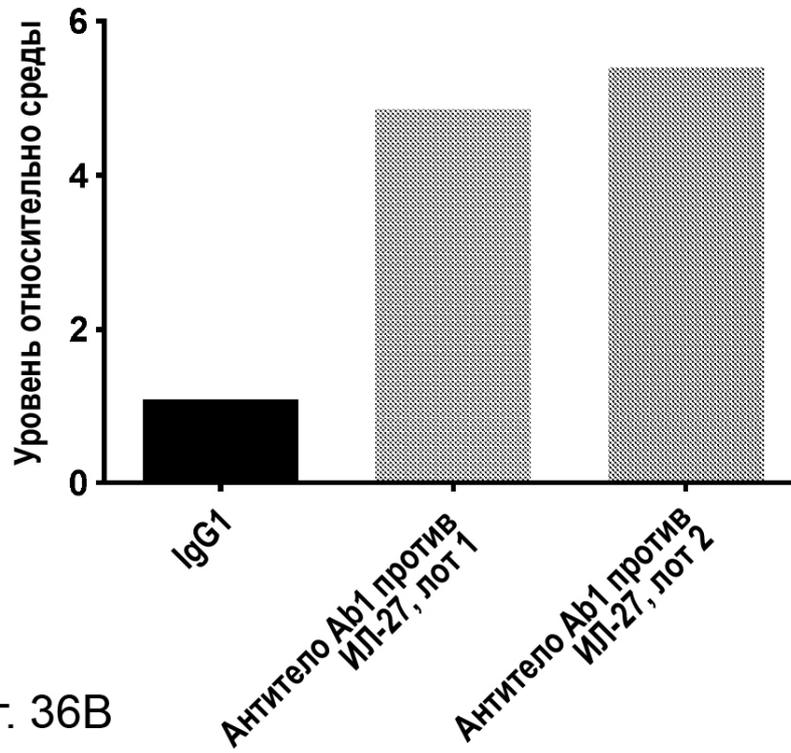
Кратность изменения: [антитело Ab1 против ИЛ-27 / IgG1]

Антитело Ab1 против ИЛ-27

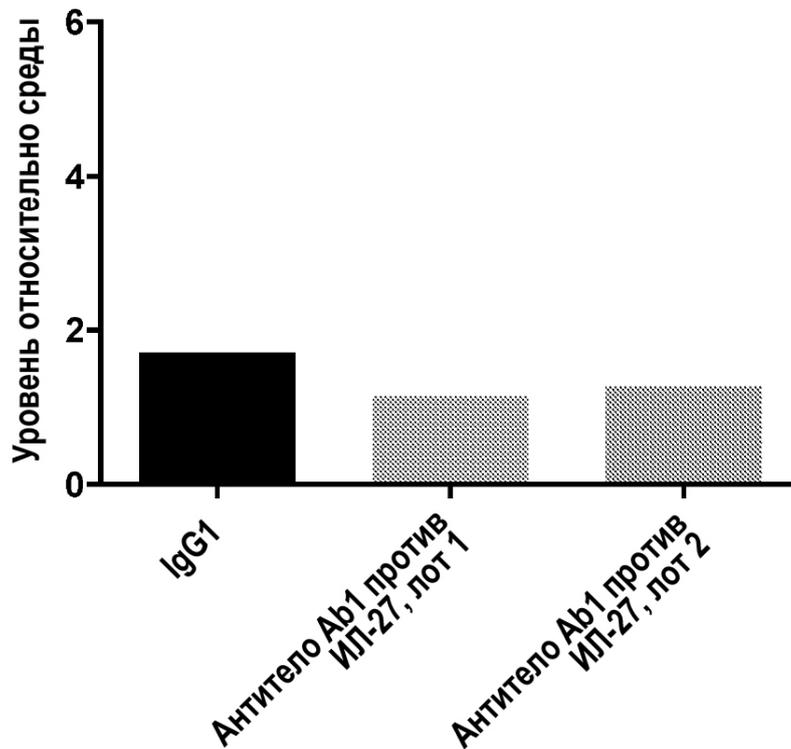
Фиг. 35



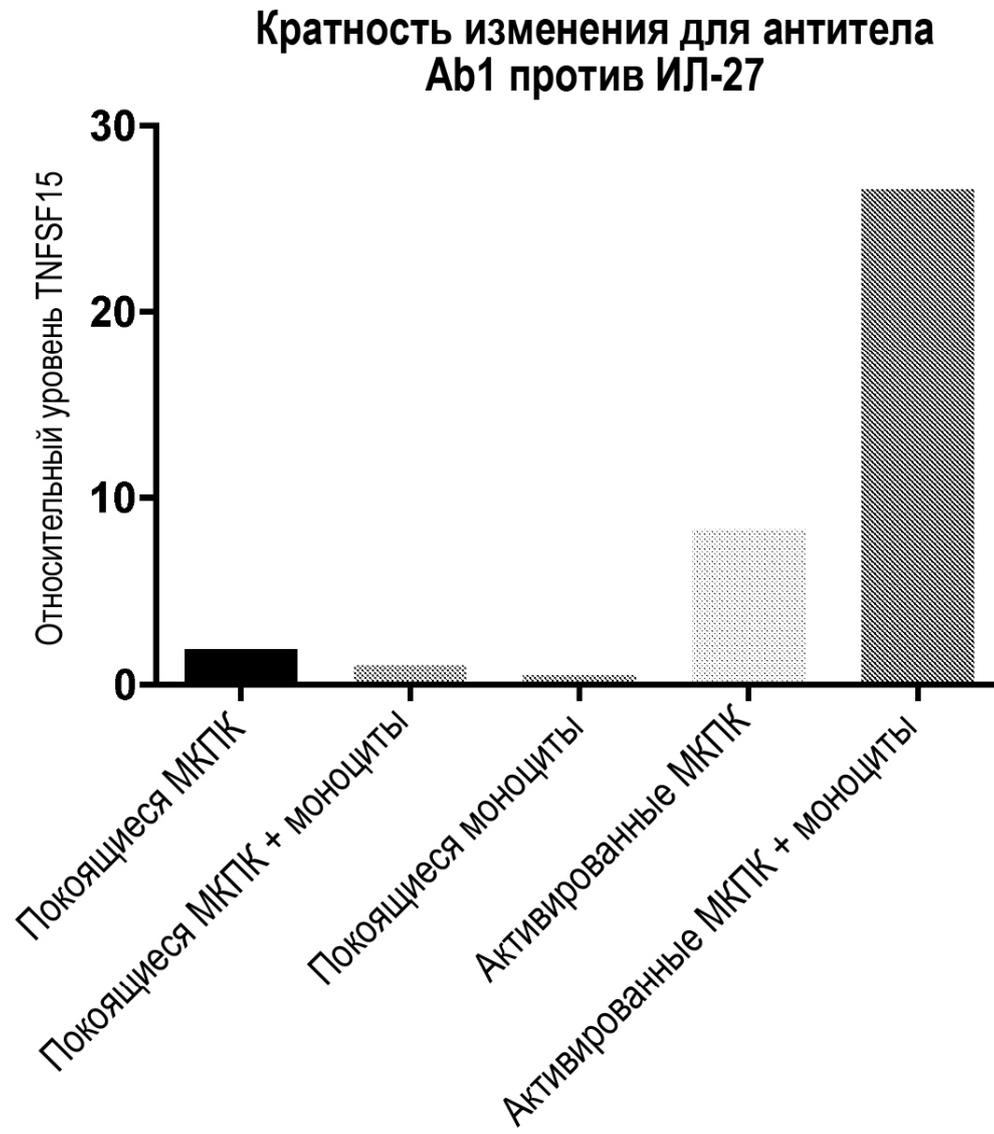
Фиг. 36А

**TNFSF15 в активированных МКПК**

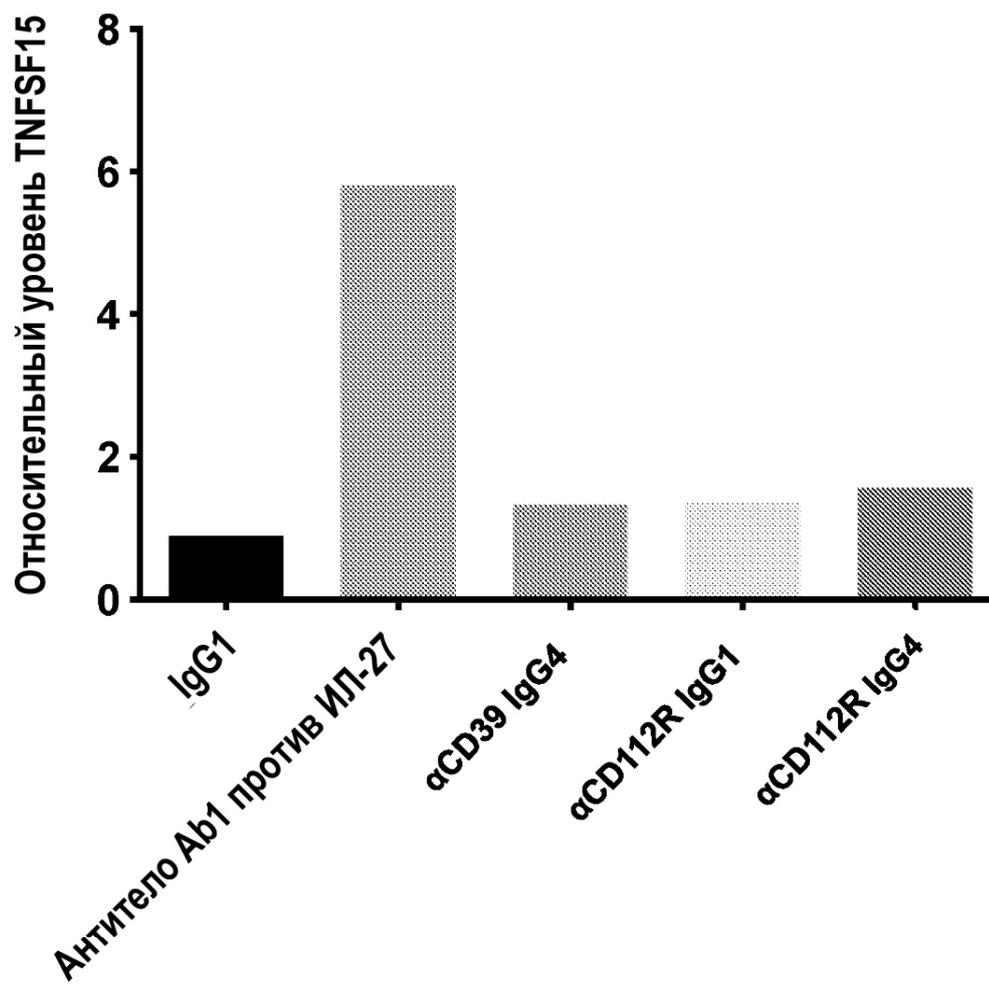
Фиг. 36В

**TNFSF15 в покоящихся МКПК**

Фиг. 37

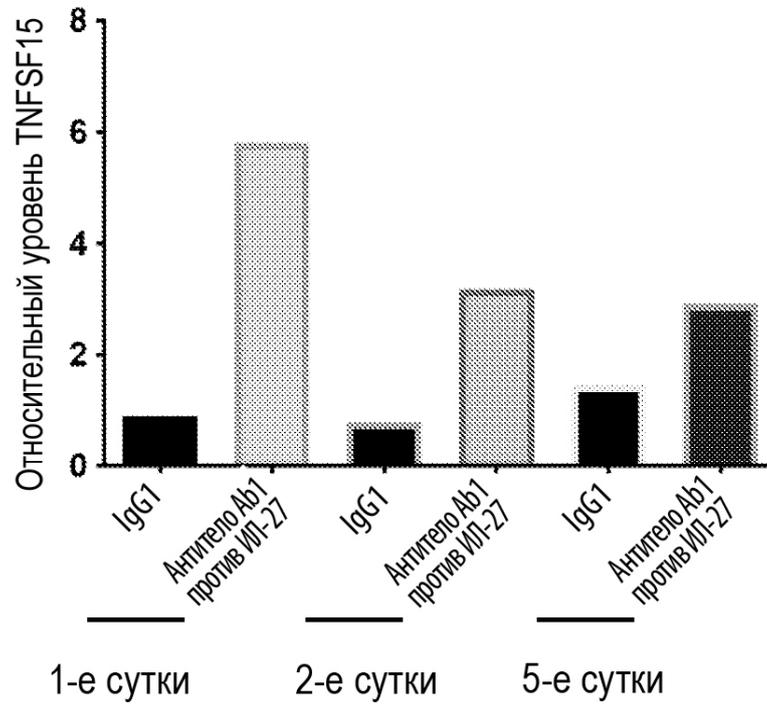


Фиг. 38



## Транскрипт TNFSF15

Фиг. 39А



Фиг. 39В

## Белок TNFSF15

