

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291340** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.07.11

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

(22) Дата подачи заявки
2020.08.28

(54) АНТИ-IL31 АНТИТЕЛА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ

(31) 62/893,799; 62/894,526

(32) 2019.08.29; 2019.08.30

(33) US

(86) PCT/US2020/048618

(87) WO 2021/041972 2021.03.04

(71) Заявитель:
КИНДРЕД БАЙОСАЙЕНСИЗ, ИНК.
(US)

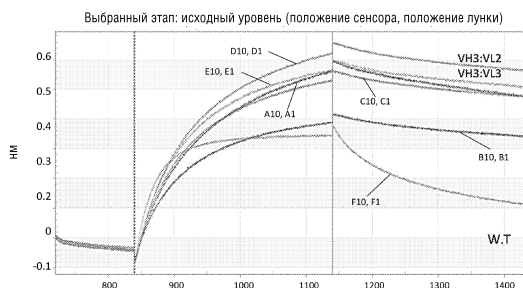
(72) Изобретатель:

Ли Шир Цзянь, Нгуйен Лам, Чжань Ханцзюнь (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Предложены различные варианты осуществления, относящиеся к анти-IL31 антителам с улучшенным связыванием с собачьим IL31 и кошачьим IL31. Такие антитела можно использовать в способах лечения IL31-индуцированных состояний у животных-компаньонов, таких как псовые и кошки. Представлены антитела с улучшенным связыванием с IL31. Также представлены тяжелые цепи антител и легкие цепи антител, способные формировать антитела, которые связываются с собачьим или кошачьим IL31.



A1

202291340

202291340

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-573209EA/072

АНТИ-IL31 АНТИТЕЛА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки США № 62/893,799, поданной 29 августа 2019 г., и предварительной заявки США № 62/894,526, поданной 30 августа 2019 г., каждая из которых включена в настоящее описание посредством ссылки для любых целей.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0002] Настоящее изобретение относится к выделенным анти-IL31 антителам, например, с улучшенным связыванием с собачьим IL31 и кошачьим IL31, и к способам их применения, например, для лечения IL31-индуцированных состояний или снижения сигнальной функции IL31 в клетках, например, у животных-компаньонов, таких как псовые и кошачьи.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Интерлейкин 31 (IL31) представляет собой цитокин, в основном продуцируемый клетками Th2, и считается, что он участвует в развитии кожных заболеваний, таких как зуд и другие формы аллергических заболеваний (например, атопический дерматит). IL31 функционирует через связывание с рецепторным комплексом (комплексом субъединиц рецептора А IL31 (IL-31Ra) и рецептором онкостатина М (OSMR)) и активацию последующих видов активности, например активацию JAK киназ и последующее фосфорилирование и активацию STAT1, STAT3 и STAT5. Считается, что активация этого пути является причиной многих клинических проблем, связанных с дерматитом и другими расстройствами.

[0004] Животные-компаньоны, такие как кошки, собаки и лошади, страдают многими кожными заболеваниями, сходными с кожными заболеваниями человека, включая атопический дерматит. Однако последовательности IL31 различаются у человека, кошки, собаки и лошади. Таким образом, остается потребность в способах и соединениях, которые можно использовать специфически для связывания IL31 животного-компаньона для лечения IL31-индуцированных состояний и для снижения сигнализации IL31.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Вариант осуществления 1. Выделенное антитело, которое связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31, содержащее:

- а) тяжелую цепь, содержащую последовательность CDR-H3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:14 или SEQ ID NO:15; и/или
- б) легкую цепь, содержащую последовательность CDR-L1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20; и/или
- с) легкую цепь, содержащую последовательность CDR-L3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:23 или SEQ ID NO:24.

Вариант осуществления 2. Выделенное антитело, которое связывается с собачьим

IL31 или кошачьим IL31, содержащее:

а) тяжелую цепь, содержащую последовательность CDR-H1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:11, последовательность CDR-H2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:12 и последовательность CDR-H3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14 или SEQ ID NO:15; и/или

б) легкую цепь, содержащую последовательность CDR-L1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20, последовательность CDR-L2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:21 и последовательность CDR-L3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23 или SEQ ID NO:24.

Вариант осуществления 3. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, которое связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31 с константой диссоциации (K_d) менее чем 5×10^{-8} М, менее чем 1×10^{-8} М, менее 5×10^{-9} М, менее 1×10^{-9} М, менее 5×10^{-10} М, менее 1×10^{-10} М, менее 5×10^{-11} М, менее 1×10^{-11} М, менее 5×10^{-12} М или менее 1×10^{-12} М, измеренной методом биослойной интерферометрии.

Вариант осуществления 4. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, которое снижает сигнальную функцию IL31 у представителя вида животного-компаньона, как измерено по снижению фосфорилирования STAT-3.

Вариант осуществления 5. Антитело по варианту осуществления 4, где вид животного-компаньона относится к псовым или кошачьим.

Вариант осуществления 6. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, которое связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31 согласно результатам анализа методом иммуноблоттинга и/или биослойной интерферометрии.

Вариант осуществления 7. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, которое конкурирует с моноклональным антителом M14 за связывание с собачьим IL31.

Вариант осуществления 8. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, которое конкурирует с моноклональным антителом M14 за связывание с кошачьим IL31.

Вариант осуществления 9. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, которое не связывается с человеческим IL31, согласно результатам анализа методом иммуноблоттинга и/или биослойной интерферометрии.

Вариант осуществления 10. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, которое представляет собой моноклональное антитело.

Вариант осуществления 11. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, которое представляет собой канинизированное, фелинизированное или химерное антитело.

Вариант осуществления 12. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, дополнительно содержащее одну или более из (а) последовательности каркаса 1 варибельной области тяжелой цепи (HC-FR1) SEQ ID NO:16; (б) последовательности HC-FR2 SEQ ID NO:17; (с) последовательности HC-FR3 SEQ ID

NO:18; (d) последовательности HC-FR4 SEQ ID NO:19; (e) последовательности каркаса 1 переменной области легкой цепи (LC-FR1) SEQ ID NO:25; (f) последовательности LC-FR2 SEQ ID NO:26; (g) последовательности LC-FR3 SEQ ID NO:27; или (h) последовательности LC-FR4 SEQ ID NO:28.

Вариант осуществления 13. Антитело по любому из вариантов осуществления 1-11, дополнительно содержащее одну или более из (a) последовательности каркаса 1 переменной области тяжелой цепи (HC-FR1) SEQ ID NO:55 или SEQ ID NO:56; (b) последовательности HC-FR2 SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59; (c) последовательности HC-FR3 SEQ ID NO:60 или SEQ ID NO:61; (d) последовательности HC-FR4 SEQ ID NO:62 или SEQ ID NO:63; (e) последовательности каркаса 1 переменной области легкой цепи (LC-FR1) SEQ ID NO:64 или SEQ ID NO:65; (f) последовательности LC-FR2 SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67 или SEQ ID NO:68; (g) последовательности LC-FR3 SEQ ID NO:69 или SEQ ID NO:70; или (h) последовательности LC-FR4 SEQ ID NO:71 или SEQ ID NO:72.

Вариант осуществления 14. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, содержащее:

a) (i) последовательность переменной области тяжелой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:7; (ii) последовательность переменной области легкой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 или SEQ ID NO:10; или (iii) последовательность переменной области тяжелой цепи, как указано в (i), и последовательность переменной области легкой цепи, как указано в (ii); или

b) (i) последовательность переменной области тяжелой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51 или SEQ ID NO:90; (ii) последовательность переменной области легкой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54; или (iii) последовательность переменной области тяжелой цепи, как указано в (i), и последовательность переменной области легкой цепи, как указано в (ii).

Вариант осуществления 15. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, содержащее последовательность переменной тяжелой цепи SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO : 50, SEQ ID NO:51 или SEQ ID NO:90.

Вариант осуществления 16. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, содержащее последовательность переменной легкой цепи SEQ ID NO:8,

SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54.

Вариант осуществления 17. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, содержащее:

а) последовательность вариабельной тяжелой цепи SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:7 или SEQ ID NO:8; и последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10 или SEQ ID NO:11; или

б) последовательность вариабельной тяжелой цепи SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51 или SEQ ID NO:90; и последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54.

Вариант осуществления 18. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, содержащее собачью или кошачью константную область тяжелой цепи и/или собачью или кошачью константную область легкой цепи.

Вариант осуществления 19. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, содержащее (а) собачью константную область тяжелой цепи, выбранную из константной области IgG-A, IgG-B, IgG-C и IgG-D; или (б) кошачью константную область тяжелой цепи, выбранную из константной области IgG1, IgG2a и IgG2b.

Вариант осуществления 20. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, содержащее:

а) (i) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:44 или SEQ ID NO:45; (ii) аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47 или SEQ ID NO:48; или (iii) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, как указано в (i), и аминокислотную последовательность легкой цепи, как указано в (ii); или

б) (i) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75 или SEQ ID NO:91; (ii) аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77 или SEQ ID NO:78; или (iii) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, как указано в (i), и аминокислотную последовательность легкой цепи, как указано в (ii).

Вариант осуществления 21. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи SEQ ID NO:3 и/или аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:4.

Вариант осуществления 22. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:7.

Вариант осуществления 23. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 или SEQ ID NO:10.

Вариант осуществления 24. Выделенное антитело по варианту осуществления 21, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID

NO:8, SEQ ID NO:9 или SEQ ID NO:10.

Вариант осуществления 25. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51 или SEQ ID NO:90.

Вариант осуществления 26. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54.

Вариант осуществления 27. Выделенное антитело по любому из вариантов осуществления 1-25, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54.

Вариант осуществления 28. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, представляющее собой фрагмент антитела, выбранный из Fv, scFv, Fab, Fab', F(ab')₂ и Fab'-SH.

Вариант осуществления 29. Антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, которое является биспецифическим, причем антитело связывается с IL31 и одним или более антигенами, выбранными из IL17, TNF α , CD20, CD19, CD25, IL4, IL13, IL23, IgE, CD11 α , IL6R, α 4-интертрина, IL12, IL1 β или BlyS.

Вариант осуществления 30. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из вариантов осуществления 1-29.

Вариант осуществления 31. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по варианту осуществления 30.

Вариант осуществления 32. Способ получения антитела, включающий культивирование клетки-хозяина по варианту осуществления 31 и выделение антитела.

Вариант осуществления 33. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из вариантов осуществления 1-29 и фармацевтически приемлемый носитель.

Вариант осуществления 34. Способ лечения представителя вида животного-компаньона, страдающего IL31-индуцированным состоянием, включающий введение представителю вида животного-компаньона терапевтически эффективного количества антитела по любому из вариантов осуществления 1-29 или фармацевтической композиции по варианту осуществления 33.

Вариант осуществления 35. Способ по варианту осуществления 33, где вид животного-компаньона относится к псовым или кошачьим.

Вариант осуществления 36. Способ по варианту осуществления 34 или варианту осуществления 35, где IL31-индуцированное состояние представляет собой зудящее или аллергическое состояние.

Вариант осуществления 37. Способ по любому из варианта осуществления 34-36, где IL31-индуцированное состояние выбирают из атопического дерматита, аллергического дерматита, зуда, астмы, псориаза, склеродермии и экземы.

Вариант осуществления 38. Способ по любому из вариантов осуществления 34-37, где антитело или фармацевтическую композицию вводят парентерально.

Вариант осуществления 39. Способ по любому из вариантов осуществления 34-38, где антитело или фармацевтическую композицию вводят внутримышечно, внутривенно, интрацереброспинально, подкожно, внутриартериально, интрасиновиально, интратекально или путем ингаляции.

Вариант осуществления 40. Способ по любому из вариантов осуществления 34-39, включающий введение антитела или фармацевтической композиции в комбинации с ингибитором Jak, ингибитором PI3K, ингибитором AKT или ингибитором MAPK.

Вариант осуществления 41. Способ по любому из вариантов осуществления 34-40, включающий введение антитела или фармацевтической композиции в комбинации с одним или более антител, выбранных из анти-IL17 антитела, анти-TNF α антитела, анти-CD20 антитела, анти-CD19 антитела, анти-CD25 антитела, анти-IL4 антитела, анти-IL13 антитела, анти-IL23 антитела, анти-IgE антитела, анти-CD11 α антитела, анти-IL6R антитела, антитела к α 4-интергину, анти-IL12 антитела, анти-IL1 β антитела и анти-BlyS антитела.

Вариант осуществления 42. Способ снижения сигнальной функции IL31 в клетке, включающий воздействие на клетку антителом по любому из вариантов осуществления 1-29 или фармацевтической композицией по варианту осуществления 33 в условиях, допускающих связывание антитела с внеклеточным IL31, тем самым снижая связывание с рецептором IL31 и/или снижая сигнальную функцию IL31 в клетке.

Вариант осуществления 43. Способ по варианту осуществления 42, где клетка подвергается воздействию антитела или фармацевтической композиции *ex vivo*.

Вариант осуществления 44. Способ по варианту осуществления 42, где клетка подвергается воздействию антитела или фармацевтической композиции *in vivo*.

Вариант осуществления 45. Способ по любому из вариантов осуществления 42-44, где клетка представляет собой собачью клетку или кошачью клетку.

Вариант осуществления 46. Способ детектирования IL31 в образце, полученном от представителя вида животного-компаньона, включающий приведение образца в контакт с антителом по любому из вариантов осуществления 1-29 или фармацевтической композицией по варианту осуществления 33 в условиях, допускающих связывание антитела с IL31, и детектирование образования в образце комплекса между антителом и IL31.

Вариант осуществления 47. Способ по варианту осуществления 46, где образец представляет собой биологический образец, полученный от представителя псовых или кошачьих.

Вариант осуществления 48. Способ идентификации антагониста IL31, включающий приведение в контакт сконструированной клеточной линии с кандидатом-антагонистом IL31, где сконструированная клеточная линия представляет собой клеточную линию млекопитающего, которая не происходит от псовых или кошачьих, и где сконструированная клеточная линия экспрессирует собачий IL31Ra и/или кошачий IL31Ra.

Вариант осуществления 49. Способ по варианту осуществления 48, где сконструированная клеточная линия представляет собой клеточную линию HeLa.

Вариант осуществления 50. Способ по варианту осуществления 48 или 49, в котором сконструированная клеточная линия экспрессирует собачий IL31Ra или кошачий IL31Ra.

Вариант осуществления 51. Способ по любому из вариантов осуществления 48-50, где сконструированная клеточная линия экспрессирует полипептид с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:92 или SEQ ID NO:93.

Вариант осуществления 52. Способ по любому из вариантов осуществления 48-51, где сконструированная клеточная линия не экспрессирует собачий или кошачий рецептор онкостатина М (OSMR).

Вариант осуществления 53. Способ по любому из вариантов осуществления 48-52, где кандидат-антагонист IL31 представляет собой анти-IL31 антитело, растворимый рецептор IL31, анти-IL31Ra антитело или малую молекулу, аптамер или пептид.

Вариант осуществления 54. Способ по любому из вариантов осуществления 48-53, где способ включает измерение сигнальной функции IL31.

Вариант осуществления 55. Способ по варианту осуществления 54, где сигнальную функцию IL31 измеряют по уровню фосфорилирования STAT-1, STAT-3 и/или STAT-5.

Вариант осуществления 56. Способ по варианту осуществления 48-55, где кандидат-антагонист IL31 идентифицируют путем детектирования снижения фосфорилирования STAT-1, STAT-3 и/или STAT-5.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0005] Фиг. 1 представляет собой анализ связывания шести химерных антител к кошачьему IL-31 согласно примеру 2.

ОПИСАНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0006] В Таблице 1 представлен список некоторых последовательностей, указанных в настоящем описании.

Таблица 1: Описание некоторых последовательностей		
SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
1	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVD TYG NSFMHWYQQKSGQSPKLLIYRASNL ESGIPA RFGGSGSRTDFTLTIDPVEADDVATYYCQSY EDPWTFGGGTKLEIK	Аминокислотная последовательность вариабельной легкой цепи клона мышинового антитела M14
2	EVQLQESGPSLVKPSQTLSTCSVTGDSITSGY WNWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSLK SRISITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYCA	Аминокислотная последовательность вариабельной тяжелой цепи

	RYGNYGYAMDYWGQGTSVTVSS	клона мышиногo антитела M14
3	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWNWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGTSVTVSS	Иллюстративная канинизированная аминокислотная последовательность вариабельной тяжелой цепи клона мышиногo антитела M14
4	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDTY GNSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIP ARFGGSGSGTDFTLTIDPVQADDVATYYCQQ SYEDPWTFGGGGTKLEIK	Иллюстративная канинизированная аминокислотная последовательность вариабельной легкой цепи клона мышиногo антитела M14
5	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGTSVTVSS	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи «cmVH1» N35K
6	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYPNYGYAMDYWGQGTSVTVSS	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи «cmVH2» N35K G99P
7	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYANYGYAMDYWGQGTSVTVSS	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи «cmVH3» N35K

		G99A
8	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDY GRSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIP ARFGGSGSGTDFTLTIDPVQADDVATYYCQQ SYEDPWTFGGGGTKLEIK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной легкой цепи «cmVL1» N34R
9	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDY GRSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIP ARFGGSGSGTDFTLTIDPVQADDVATYYCYQ SYEDPWTFGGGGTKLEIK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной легкой цепи «cmVL2» N34R Q93Y
10	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDY GRSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIP ARFGGSGSGTDFTLTIDPVQADDVATYYCHQ SYEDPWTFGGGGTKLEIK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной легкой цепи «cmVL3» N34R Q93H
11	GDSITSGYW	CDR-H1 cmVH1, cmVH2 и cmVH3
12	YISYSGITDY	CDR-H2 cmVH1, cmVH2 и cmVH3
13	ARYGNYGYAMDY	CDR-H3 cmVH1
14	ARYPNYGYAMDY	CDR-H3 cmVH2
15	ARYANYGYAMDY	CDR-H3 cmVH3
16	EVQLQESGPSLVKPSQTLSTCSVT	HC-FR1 cmVH1, cmVH2 и cmVH3
17	KWIRKFPGNKLEYMG	HC-FR2 cmVH1, cmVH2 и cmVH3
18	NPSLKSRIITRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTAT YYC	HC-FR3 cmVH1, cmVH2 и cmVH3

19	WGQGTSVTVSS	HC-FR4 cmVH1, cmVH2 и cmVH3
20	RASESVDTYGRSFMH	CDR-L1 cmVL1, cmVL2 и cmVL3
21	RASNLES	CDR-L2 cmVL1, cmVL2 и cmVL3
22	QQSYEDPWT	CDR-L3 cmVL1
23	YQSYEDPWT	CDR-L3 cmVL2
24	HQSYEDPWT	CDR-L3 cmVL3
25	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC	LC-FR1 cmVL1, cmVL2 и cmVL3
26	WYQQKSGQSPKLLIY	LC-FR2 cmVL1, cmVL2 и cmVL3
27	GIPARFGGSGSRTDFTLTIDPVEADDVATYYC	LC-FR3 cmVL1, cmVL2 и cmVL3
28	FGGGTKLEIK	LC-FR4 cmVL1, cmVL2 и cmVL3
29	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWNWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGTSVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLHSLSSMVTV PSSRWPSETFTCNVVHPASNTKVDKPVFNEC RCTDTPCPVPEPLGGPSVLIFPPKPKDILRITRT PEVTCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTA KTQSREQQFNGTYRVVSVLPIEHQDWLTGKE FKCRVNHIDLPSPIERTISKARGRAHKPSVYVL PPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPPDIDVEWQS NGQQEPERKHRMTPPQLDEDGSYFLYSKLSV DKSRWQQGDPFTCAVMHETLQNHYTDLSLS HSPGK	Иллюстративная канинизированная последовательность вариабельной тяжелой цепи из клона мышиногo антитела M14 и собачьего IgG-A
30	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWNWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL	Иллюстративная канинизированная

	KSRTISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTV PSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVPKRE NGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPK DTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVD GKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQ DWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQ AHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPP DIDVEWQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSY FLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH YTQESLSHSPGK	последовательность вариабельной тяжелой цепи из клона мышиногo антитела M14 и собачьего IgG-B
31	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWNWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRTISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSQSGSTVALACLVSGYIPEPVTVS WNSVSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVP SSRWPSETFTCNVAHPATNTKVDKPVAKECE CKCNCNNCPGCGLLGGPSVFIFPPKPKDIL VTARTPTVTCVVVDLDPENPEVQISWFVDSK QVQTANTQPREEQSNGTYRVVSVLPIGHQDW LSGKQFKCKVNNKALPSPIEEIISKTPGQAHQ PNVYVLPPSRDEMSKNTVTLTCLVKDFFPPEI DVEWQSNGQQEPESKYRMTTPPQLDEDGSYF LYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH YTQISLSHSPGK	Иллюстративная канинизированная последовательность вариабельной тяжелой цепи из клона мышиногo антитела M14 и собачьего IgG-C
32	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWNWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRTISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSSTVTV PSSRWPSETFTCNVHPASNTKVDKPVPKEST	Иллюстративная канинизированная последовательность вариабельной тяжелой цепи из клона мышиногo антитела M14 и собачьего IgG-D

	CKCISPCVPESLGGPSVFIFPPKPKDILRITRT PEITCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTA KTQPREQQFNSTYRVVSVLPIEHQDWLTGKE FKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYV LPPSPKELSSSDTVTLTCLIKDFFPPEIDVEWQ SNGQPEPESKYHTTAPQLDEDGSYFLYSKLSV DKSRWQQGDTFTCAVMHEALQNHYTDLSLS HSPGK	
33	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDY GNSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIP ARFGGSGSGTDFTLTIDPVQADDVATYYCQQ SYEDPWTFGGGGTKLEIK RNDAQPAVYLFQSPDQLHTGSASVVCLLNS FYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKD STYLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPS TLIKSFQRSECQRVD	Иллюстративная канинизированная последовательность вариабельной легкой цепи из клона мышиногo антитела M14 и собачьей константной области легкой цепи
34	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGTSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLHSLSSMVTV PSSRWPSETFTCNVHPASNTKVDKPVFNEC RCTDTPCPVPEPLGGPSVLIFPPKPKDILRITRT PEVTCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTA KTQSREQQFNQTYRVVSVLPIEHQDWLTGKE FKCRVNHIDLPSPIERTISKARGRAHKPSVYVL PPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPPDIDVEWQS NGQQEPERKHRMTPPQLDEDGSYFLYSKLSV DKSRWQQGDPFTCAVMHETLQNHYTDLSLS HSPGK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH1 и собачьего IgG-A
35	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGTSTVTVSSASTTAPS	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи

	VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTV PSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVPKRE NGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPK DTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVD GKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQ DWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQ AHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPP DIDVEWQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSY FLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH YTQESLSHSPGK	cmVH1 и собачьего IgG-B
36	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSQSGSTVALACLVSGYIPEPVTVS WNSVSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVP SSRWPSETFTCNVAHPATNTKVDKPVAKECE CKCNCNNCPGCGLLGGPSVFIFPPKPKDIL VTARTPTVTCVVVDLDPENPEVQISWFVDSK QVQTANTQPREEQSNGTYRVVSVLPIGHQDW LSGKQFKCKVNNKALPSPIEEIISKTPGQAHQ PNVYVLPPSRDEMSKNTVTLTCLVKDFFPPEI DVEWQSNGQQEPESKYRMTTPPQLDEDGSYF LYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH YTQISLSHSPGK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH1 и собачьего IgG-C
37	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYGNYGYAMDYWGQGSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSVTV PSSRWPSETFTCNVHPASNTKVDKPVPKEST CKCISPCVPESLGGPSVFIFPPKPKDILRITRT PEITCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTA	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH1 и собачьего IgG-D

	KTQPREQQFNSTYRVVSVLPIEHQDWLTGKE FKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYV LPPSPKELSSSDTVTLTCLIKDFFPPEIDVEWQ SNGQPEPESKYHTTAPQLDEDGSYFLYSKLSV DKSRWQQGDTFTCAVMHEALQNHYTDL SLS HSPGK	
38	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYPNYGYAMDYWGQGSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLHSLSSMVTV PSSRWPSETFTCNVHPASNTKVDKPVFNEC RCTDTPCPVPEPLGGPSVLIFPPKPKDILRITRT PEVTCVVDLGRDPEVQISWFVDGKEVHTA KTQSREQQFNGTYRVVSVLPIEHQDWLTGKE FKCRVNHIDLPSPPIERTISKARGRAHKPSVYVL PPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPPDIDVEWQS NGQQEPERKHRMTPPQLDEDGSYFLYSKLSV DKSRWQQGDPFTCAVMHETLQNHYTDL SLS HSPGK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH2 и собачьего IgG-A
39	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYPNYGYAMDYWGQGSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTV PSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVPKRE NGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPK DTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVD GKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQ DWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQ AHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPP DIDVEWQSNQQEPESKYRTTPPQLDEDGSY FLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH2 и собачьего IgG-B

	YTQESLSHSPGK	
40	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYPNYGYAMDYWGQGTSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSQSGSTVALACLVSGYIPEPVTVS WNSVSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVP SSRWPSETFTCNVAHPATNTKVDKPVAKECE CKCNCNNCPGCGLLGGPSVFIFPPKPKDIL VTARTPTVTCVVVDLDPENPEVQISWFVDSK QVQTANTQPREEQSNGTYRVVSVLPIGHQDW LSGKQFKCKVNNKALPSPIEEIISKTPGQAHQ PNVYVLPPSRDEMSKNTVTLTCLVKDFFPPEI DVEWQSNQQEPESKYRMTTPQLDEDGSYF LYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH YTQISLSHSPGK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH2 и собачьего IgG-C
41	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYPNYGYAMDYWGQGTSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSSTVTV PSSRWPSETFTCNVHPASNTKVDKPVPEST CKCISPCVPESLGGPSVFIFPPKPKDILRITRT PEITCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTA KTQPREQQFNSTYRVVSVLPIEHQDWLTGKE FKCRVNHIGLPSPERTISKARGQAHQPSVYV LPPSPKELSSSDTVTLTCLIKDFFPPEIDVEWQ SNGQPEPESKYHTTAPQLDEDGSYFLYSKLSV DKSRWQQGDTFTCAVMHEALQNHYTDLSLS HSPGK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH2 и собачьего IgG-D
42	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYANYGYAMDYWGQGTSTVTVSSASTTAPS	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи

	VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLHSLSSMVTV PSSRWPSETFTCNVHPASNTKVDKPVFNEC RCTDTPCPVPEPLGGPSVLIFPPKPKDILRITRT PEVTCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTA KTQSREQQFNGTYRVVSVLPIEHQDWLTGKE FKCRVNHIDLPSPIERTISKARGRAHKPSVYVL PPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPPDIDVEWQS NGQQEPERKHRMTPPQLDEDGSYFLYSKLSV DKSRWQQGDPFTCAVMHETLQNHYTDL SLS HSPGK	cmVH3 и собачьего IgG-A
43	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYANYGYAMDYWGQGSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTV PSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDKPVPKRE NGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFPPKPK DTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVD GKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQ DWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQ AHQPSVYVLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPP DIDVEWQSNGQQEPESKYRTTPPQLDEDGSY FLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH YTQESLSHSPGK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH3 и собачьего IgG-B
44	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYANYGYAMDYWGQGSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSQSGSTVALACLVSGYIPEPVTVS WNSVSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVP SSRWPSETFTCNVAHPATNTKVDKPVAKECE CKCNCNNCPGCGLLGGPSVFIFPPKPKDIL VTARTPTVTCVVVDLDPENPEVQISWFVDSK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH3 и собачьего IgG-C

	QVQTANTQPREEQSNGTYRVVSVLPIGHQDW LSGKQFKCKVNNKALPSPIEEIISKTPGQAHQ PNVYVLPPSRDEMSKNTVTLTCLVKDFFPPEI DVEWQSNGQQEPESKYRMTPPQLDEDGSYF LYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNH YTQISLSHSPGK	
45	EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRITISRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYC ARYANYGYAMDYWGQGTSTVTVSSASTTAPS VFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGYFPEPVTV SWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSSTVTV PSSRWPSETFTCNVVHPASNTKVDKVPKEST CKCISPCVPESLGGPSVFIFPPKPKDILRITRT PEITCVVLDLGREDPEVQISWFVDGKEVHTA KTQPREQQFNSTYRVVSVLPIEHQDWLTGKE FKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYV LPPSPKELSSSDTVTLTCLIKDFFPPEIDVEWQ SNGQPEPESKYHTTAPQLDEDGSYFLYSKLSV DKSRWQQGDTFTCAVMHEALQNHYTDLSLS HSPGK	Иллюстративная канинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи cmVH3 и собачьего IgG-D
46	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDY GRSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIP ARFGGSGSGTDFTLTIDPVQADDVATYYCQQ SYEDPWTFGGGGTKLEIK RNDAQPAVYLFQSPDQLHTGSASVVCLLNS FYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKD STYLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPS TLIKSFQRSECQRVD	Иллюстративная канинизированная, зрелая последовательность вариабельной легкой цепи cmVL1 и собачьей константной области легкой цепи
47	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDY GRSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIP ARFGGSGSGTDFTLTIDPVQADDVATYYCYQ SYEDPWTFGGGGTKLEIK RNDAQPAVYLFQSPDQLHTGSASVVCLLNS FYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKD	Иллюстративная канинизированная, зрелая последовательность вариабельной легкой цепи cmVL1 и собачьей константной области легкой

	STYSLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPS TLIKSFQRSECQRVD	цепи
48	DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDTY GRSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGIP ARFGGSGSGTDFLTIDPVQADDVATYYCHQ SYEDPWTFGGGTKLEIK RNDAQPAVYLFQSPDQLHTGSASVVCLLNS FYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKD STYSLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPS TLIKSFQRSECQRVD	Иллюстративная канинизированная, зрелая последовательность вариабельной легкой цепи cmVL1 и собачьей константной области легкой цепи
49	QLTLRESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGDSITSGY WKWIRQRPGRGLEWLGYSISYSGITDYNPSLK SRISITADTAQNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCA RYANYGYAMDYWGPGALVTVSS	Иллюстративная фелинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи «fmVH3a» N35K G99A
50	DVQLVESGGDLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWVRQAPGKGLQWVAYISYSGITDYNPS LKSRTISRDNNAKNTLYLQMNSLKTEDTATY YCARYANYGYAMDYWGQGALVTVSS	Иллюстративная фелинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи «fmVH3b» N35K G99A
51	DVQLVESGGDLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYSISYSGITDYNPSL KSRFTISRDNNAKNTLYLQMNSLKTEDTATYY CARYANYGYAMDYWGQGALVTVSS	Иллюстративная фелинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи «fmVH3c» N35K G99A
90	QLTLRESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGDSITSGY WKWIRQRPGNKLEYMGYSISYSGITDYNPAFQ GRISITADTAQNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCA RYPNYGYAMDYWGPGTLVTVSS	Иллюстративная фелинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи

		«fmVH2» N35K G99P
52	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCRASESVDTYG RSFMHWYLQKPGQSPRRLIYRASNLESGVPD RFSGSGSGTDFTLRISRVEADDVGVYYCHQS YEDPWTFGPGTKLEIK	Иллюстративная фелинизированная зрелая последовательность вариабельной легкой цепи «fmVH3a» N34R Q93H
53	DVVMTQTPLSLPVTGPGEPAISCRASESVDTY GRSFMHWYLQKPGQSPRLLIYRASNLESGVP DRFSGSGSGTDFTLRISRVEADDVATYYCHQS YEDPWTFGQGTKLEVK	Иллюстративная фелинизированная зрелая последовательность вариабельной легкой цепи «fmVH3b» N34R Q93H
54	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCRASESVDTYG RSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGVPD RFSGSGSGTDFTLRISRVEADDVGVYYCHQS YEDPWTFGPGTKLEIK	Иллюстративная фелинизированная зрелая последовательность вариабельной легкой цепи «fmVH3c» N34R Q93H
55	QLTLRESGPGLVKPSQSLSLTCSVT	Иллюстративная фелинизированная зрелая HC-FR1
56	DVQLVESGGDLVKPGGSLRLTCSVT	Иллюстративная фелинизированная зрелая HC-FR1
57	KWIRQRPGRGLEWLG	Иллюстративная фелинизированная зрелая HC-FR2
58	KWVRQAPGKGLQWVA	Иллюстративная

		фелинизированная зрелая HC-FR2
59	KWIRKFPGNKLEYMG	Иллюстративная фелинизированная зрелая HC-FR2
60	NPSLKSRIITADTAQNQFSLQLSSMTTEDTAV YYC	Иллюстративная фелинизированная зрелая HC-FR3
61	NPSLKSRTISRDNANKNTLYLQMNSLKTEDTA TYYC	Иллюстративная фелинизированная зрелая HC-FR3
62	WGPGALVTVSS	Иллюстративная фелинизированная зрелая HC-FR4
63	WGQGALVTVSS	Иллюстративная фелинизированная зрелая HC-FR4
64	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISC	Иллюстративная фелинизированная зрелая LC-FR1
65	DVVMQTQTPLSLPVTPGEPASISC	Иллюстративная фелинизированная зрелая LC-FR1
66	WYLQKPGQSPRLIY	Иллюстративная фелинизированная зрелая LC-FR2
67	WYLQKPGQSPRLIY	Иллюстративная фелинизированная зрелая LC-FR2
68	WYQQKPGQSPKLLIY	Иллюстративная фелинизированная зрелая LC-FR2
69	GVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEADDTGQVYY C	Иллюстративная фелинизированная зрелая

		LC-FR3
70	GVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEADDVATYYC	Иллюстративная фелинизированная зрелая LC-FR3
71	FGPGTKLEIK	Иллюстративная фелинизированная зрелая LC-FR4
72	FGQGTKLEVK	Иллюстративная фелинизированная зрелая LC-FR4
73	QLTLRESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGDSITSGY WKWIRQRPGRGLEWLGYSISYSGITDYNPSLK SRISITADTAQNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCA RYANYGYAMDYWGPGALVTVSSASTTAPSV FPLAPSCGTTSGATVALACLVLGYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQASGLYSLSSMVTV PSSRWLSDTFTCNVAHPPSNTKVDKTVRKTD HPPGPKPCDCPKCPPPEMLGGPSIFIFPPKPKD TLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSDVQITWFVDN TQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQD WLKGKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQPH EPQVYVLPQAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDI AVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLDSDGT YFV YSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHSHH TQKSLTQSPGK	Иллюстративная фелинизированная, зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи fmVH3a и кошачьей константной области тяжелой цепи
74	DVQLVESGGDLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWVRQAPGKGLQWVAYISYSGITDYNPS LKSRTISRDNANKNTLYLQMNSLKTEDTATY YCARYANYGYAMDYWGQALVTVSSASTTA PSVFPLAPSCGTTSGATVALACLVLGYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQASGLYSLSSM VTVPSRWLSDTFTCNVAHPPSNTKVDKTVR KTDHPPGPKPCDCPKCPPPEMLGGPSIFIFPPK PKDTLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSDVQITWF VDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILH	Иллюстративная фелинизированная зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи fmVH3b и кошачьей константной области тяжелой цепи

	QDWLKGKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKG QPHEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFH PPDIAVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLSDSGT YFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALH SHHTQKSLTQSPGK	
75	DVQLVESGGDLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSG YWKWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSL KSRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKTEDTATYY CARYANYGYAMDYWGQALVTVSSASTTAP SVFPLAPSCGTTSGATVALACLVLGYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQASGLYSLSSMV TVPSSRWLSDTFTCNVAHPPSNTKVDKTVRK TDHPPGPKPCDCPKCPPPEMLGGPSIFIFPPKP KDTLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSDVQITWVF DNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQ DWLKGKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQP HEPQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPP DIAVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLSDSGTYF VYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHSH HTQKSLTQSPGK	Иллюстративная фелинизированная, зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи fmVH3c и кошачьей константной области тяжелой цепи
91	QLTLRESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGDSITSGY WKWIRQRPGNKLEYMGYISYSGITDYNPAFQ GRISITADTAQNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCA RYPNYGYAMDYWGPGTLTVSSASTTAPSVF PLAPSCGTTSGATVALACLVLGYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQASGLYSLSSMVTVPS SRWLSDTFTCNVAHPPSNTKVDKTVRKTDHP PGPKPCDCPKCPPPEMLGGPSIFIFPPKPKDTL YITREPEVTCLVVDLGPDDSDVQITWFDNT QVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSVLPILHQDW LKGKEFKCKVNSKSLPSPIERTISKAKGQPHE PQVYVLPPAQEELSRNKVSVTCLIKSFHPPDIA VEWEITGQPEPENNYRTTPPQLSDSGTYFVY SKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSHEALHSHHT QKSLTQSPGK	Иллюстративная фелинизированная, зрелая последовательность вариабельной тяжелой цепи fmVH2 и кошачьей константной области тяжелой цепи

76	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCRASESVDTYG RSFMHWYLQKPGQSPRRLIYRASNLESGVPD RFSGSGSGTDFTLRISRVEADDVGVYYCHQS YEDPWTFGPGTKLEIKRSDAQPSVFLFQPSLD ELHTGSASIVCILNDFYPKEVNVKWKVDGVV QNKGIQESTTEQNSKDSTYSLSSTLTMSSTEY QSHEKFSCEVTHKSLASTLVKSFNRSECQRE	Иллюстративная фелинизированная, зрелая последовательность вариабельной легкой цепи fmVL3a и кошачьей константной области легкой цепи
77	DVVMTQTPLSLPVTGPGEASISCRASESVDTY GRSFMHWYLQKPGQSPRLIYRASNLESGVP DRFSGSGSGTDFTLRISRVEADDVATYYCHQS YEDPWTFGPGTKLEVKRSDAQPSVFLFQPSL DELHTGSASIVCILNDFYPKEVNVKWKVDGV VQNKGIQESTTEQNSKDSTYSLSSTLTMSSTE YQSHEKFSCEVTHKSLASTLVKSFNRSECQRE	Иллюстративная фелинизированная, зрелая последовательность вариабельной легкой цепи fmVL3b и кошачьей константной области легкой цепи
78	DIVMTQTPLSLSVTPGEPASISCRASESVDTYG RSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLESGVPD RFSGSGSGTDFTLRISRVEADDVGVYYCHQS YEDPWTFGPGTKLEIKRSDAQPSVFLFQPSLD ELHTGSASIVCILNDFYPKEVNVKWKVDGVV QNKGIQESTTEQNSKDSTYSLSSTLTMSSTEY QSHEKFSCEVTHKSLASTLVKSFNRSECQRE	Иллюстративная фелинизированная, зрелая последовательность вариабельной легкой цепи fmVL3c и кошачьей константной области легкой цепи
79	MLSHTGPSRFALFLLCSMETLLSSHMAPTHQ LPPSDVRKIILELQPLSRGLLEDYQKKETGVP ESNRTLCLTSDSQPPRLNSSAILPYFRAIRPL SDKNIIDKIIQLDKLKFQHEPETEISVPADTFE CKSFILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQ	Аминокислотная последовательность собачьего IL31
80	SSHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLED YQKKETGVPESENRTLCLTSDSQPPRLNSSA ILPYFRAIRPLSDKNIIDKIIQLDKLKFQHEPE TEISVPADTFECKSFILTILQQFSACLESVFKSL NSGPQ	Зрелая аминокислотная последовательность собачьего IL31
81	MLSHAGPARFALFLLCCMETLLPSHMAPAHR LQPSDVRKIILELRPMSKGLLQDYLLKKEIGLP ESNHSSLPCLSSDSQLPHINGSAILPYFRAIRPL SDKNTIDKIIQLDKLKFQREPEAKVSMPADN	Аминокислотная последовательность кошачьего IL31 NCBI ref: XP_011286140.1

	FERKNFILAVLQQFSACLEHVLQSLNSGPQ	[felis catus]
82	MIFHTGTTKPTLVLLCCIGTWLATCSLSFGAPI SKEDLRTTIDLLKQESQDLYNNYSIKQASGMS ADESIQLPCFSLDREALTNISVIIAHLEKVKVL SENTVDTSWVIRWLTNISC FNPLNLNISVPGN TDESYDCKVFVLTVLKQFSNCMAELQAKDN TTC	Аминокислотная последовательность мышинного IL31 NCBI ref: NP_083870 [mus musculus]
83	ASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGY FPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLHS LSSMVTVPSSRWPSETFTCNVHPASNTKVD KPVFNECRCTDTPCPVPEPLGGPSVLIFPPKPK DILRITRTPEVTCVVLDLGREDPEVQISWFVD GKEVHTAKTQSREQQFNGTYRVVSVLPIEHQ DWLTGKEFKCRVNHIDLPSPERTISKARGRA HKPSVYVLPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPP DIDVEWQSNGQQEPPERKHRMTPPQLDEDGS YFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHETLQ NHYTDL SL SHSPGK	Иллюстративная собачья константная тяжелая цепь IgG-A
84	ASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGY FPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYS LSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVD KPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSV FIFPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEV QISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVV SVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIER TISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLT CLIKDFFPPDIDVEWQSNGQQEPESKYRTTPP QLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAV MHEALHNHYTQESLSHSPGK	Иллюстративная собачья константная тяжелая цепь IgG-B
85	ASTTAPSVFPLAPSCGSQSGSTVALACLVSGYI PEPVTVSWNSVSLTSGVHTFPSVLQSSGLYS SSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPATNTKVDK PVAKECECKCNCNNCPGCGLLGGPSVFIFP PKPKDILVTARTPTVTCVVVDLDPENPEVQIS WFVDSKQVQTANTQPREEQSNGTYRVVSVL	Иллюстративная собачья константная тяжелая цепь IgG-C

	PIGHQDWLSGKQFKCKVNNKALPSPIEEIISK TPGQAHQPNVYVLPSPRDEMSKNTVTLTCLV KDFFPPEIDVEWQSNQGQEPESKYRMTTPPQL DEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMH EALHNHYTQISLSHSPGK	
86	ASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSGY FPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYS LSSTVTVPSSRWPSSETFTCNVHPASNTKVDK PVPKESTCKCISPCVPESLGGPSVFIFPPKPK DILRITRTPEITCVVLDLGREDPEVQISWFVDG KEVHTAKTQPREQQFNSTYRVVSVLPIEHQD WLTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAH QPSVYVLPSPKELSSSDTVTLTCLIKDFFPPEI DVEWQSNQGQEPESKYHTTAPQLDEDGSYFL YSKLSVDKSRWQQGDTFTCAVMHEALQNHY TDLSLSHSPGK	Иллюстративная собачья константная тяжелая цепь IgG-D
87	RNDAQPAVYLFQSPDQLHTGSASVVCLLNS FYPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKD STYLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPS TLIKSFQRSECQRVD	Иллюстративная собачья константная легкая цепь
88	ASTTAPSVFPLAPSCGTTSGATVALACLVLYG FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQASGLYS LSSMVTVPSSRWLSDTFTCNVAHPPSNTKVD KTVRKTDHPPGPKPCDCPKCPPPEMLGGPSIF IFPPKPKDTLSISRTPEVTCLVVDLGPDDSDVQ ITWFDNTQVYTAKTSPREEQFNSTYRVVSV LPILHQDWLKGKEFKCKVNSKSLPSPIERTISK AKGQPHEPQVYVLPPEAEELSRNKVSVTCLI KSFHPPDIAVEWEITGQPEPENNYRTTPPQLD SDGTYFVYSKLSVDRSHWQRGNTYTCSVSH EALHSHHTQKSLTQSPGK	Иллюстративная кошачья константная тяжелая цепь IgG
89	RSDAQPSVFLFQPSLDELHTGSASIVCILNDFY PKEVNVKWKVDGVVQNKGIQESTTEQNSKD STYLSSTLTMSSTEYQSHEKFSCEVTHKSLA STLVKSFNRSECQRE	Иллюстративная кошачья константная легкая цепь

92	<u>MMWAKVLWM</u>LLLLCKLSLAVLPAKPENISCI FYEEENFTCTWSPEKEASYTWYKVKRTYSY GYKSDICSTDNSTRGNHASCSFLPPTITNPDN YTIQVEAQNADGIMKSDITYWNLDAMKIEP PEIFSVKSVLGIKRMLQIKWIRPVLAPHSSTLK YTLRFRTINSAYWMEVNFTKEDIDRDETYNL TELQAFTEYVMTLRCAPAESMFWSGWSQEK VGTTEEEAPYGLDLWRVLKPAMVDGRRPVQ LMWKKATGAPVLEKALGYNIWYFPENNTNL TETVNTTNQTHELYLGGKTYWVYVVSYNL GESPVATLRIPALNEKTFQCIEAMQACLTQDQ LVVEWQSSAPEVDTWMVEWFPDVDSEPSSF WESVSQARNWTIQKDELKPLWCYNISVYPVL RDRVGQPYSTQAYVQEGIPSAGPVTQADSIG VKTVTITWKEIPKSKRNGFIKNYTIFYQAEDG KEFSKTVNSNILQYRLESLTRRTSYSLQVMAS TNAGGTNGTKINFKTLSSISVLEIFFITSLVGGG FLILIMLTVAYGLKKPNKLKHLCPDVPNPAE SSIATWRGDDFKDKLNLKESDDPVNMEEDQ VLKPYSAPTD FIDKL VVNFENFLEEVSTEELG KSQENILKEEKNKHVTSPYCLHHPPISTEIPQR KPQQLCSRIPEGTCSETKEQLFSSVQSLGPDH LCEEGEPNPYLKNSVTTREFVGSGSDYKDDD DK	Аминокислотная последовательность собачьего IL31Ra с линкерной, FLAG (маркерной) и сигнальной последовательностями
93	MKEFALQFSHIGRPPNGVTWARVLYCNSFQR LQCTGCTPNWMWGGQLSPVRPARTSSGYHR EFSPQPACIDLGMMWAHALWTLLLLCKFSLA VLPKPENISCVFYEEENFTCTWSPEKEASYT WYKVKRTYSYGYKSDICPSDNSTRGNHTFCS FLPPTITNPDNYTIQVEAQNADGIIKSDITHWS LDAITKIEPPEIFSVKPVLGVKRMVQIKWIRPV LAPVSSTLKYTLRFKTVNSAYWMEVNFTKED IDRDETYNL TGLQAFTEYVLALRCATKESMF WSGWSQEKMGTTTEEEAPHGLDLWRVLRPAT VDGRRLVQLMWKKASGAPVLEKALGYNIW	Аминокислотная последовательность кошачьего IL31Ra с линкерной, FLAG (маркерной) и сигнальной последовательностями NCBI номер кошачьего IL31Ra: XP_019689862.2

YFPENSTNLTKLNTTNEKLELYLGGKTYWV CVVSYNSLGESEPVATLRIPAIDEKSFQCIEAMQ ACLTQDQLVVEWRSSAPEVDTWMVEWFPDL DSEPSTFSWESVSQATNWTIKQDELKPFWCY NISVYPVLQDRVGKPFISIQAYVREGIPSAGPV TQVDNIGVKTVTITWKEIPKSQRNGFITNYTIF YQAEDGKEFSKTVNSNILQYDLESLTRKTSYS LQVMASTSAGGINGTTMNFKTLISISILEIFLIIS LVGGGLLILILSVAYGLKKPNRLKHLCPDV PNPAESSIATWRGDDFKDKINLKESDDPVNM EEDRVLPYSSPRDLIDKL VVN FET FLEDVST EELGKGQENILREEKNEYVTSPYRPPYCPPIST EIPQRKSQQLCSRIPEGICLETTEQLLSSVPNL GRDRICEEGEPNPYLKNSVTTREFLTSEKLPE QTKREVGS GSDYKDDDDK	
--	--

ОПИСАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0007] Предложены антитела с улучшенным связыванием с собачьим IL31 и кошачьим IL31. Также представлены тяжелые цепи и легкие цепи антител, которые способны образовывать антитела, связывающие собачий и кошачий IL31. Кроме того, представлены антитела, тяжелые цепи и легкие цепи, содержащие одну или более конкретных определяющих комплементарность областей (CDR). Представлены полинуклеотиды, кодирующие антитела к собачьему и кошачьему IL31. Также представлены способы получения или очистки антител к собачьему и кошачьему IL31. Представлены способы лечения с использованием антител к собачьему и кошачьему IL31. Такие способы включают, без ограничения, способы лечения IL31-индуцированных состояний у животных-компаньонов. Представлены способы детектирования IL31 в образце, полученном от представителя вида животного-компаньона.

[0008] Для удобства читателя ниже приведены определения терминов, используемых в настоящем описании.

[0009] Используемые в настоящем описании числовые значения, такие как Kd, вычислены на основе научных измерений и, таким образом, включают соответствующую погрешность измерения. В некоторых случаях числовой термин может включать числовые значения, округленные до ближайшей значащей цифры.

[0010] Используемые в настоящем описании термины в единственном числе означают «по меньшей мере один» или «один или более», если не указано иное. В контексте настоящего описания термин «или» означает «и/или», если не указано иное. В контексте многочисленных зависимых пунктов формулы изобретения «или» при ссылке на предыдущие другие пункты формулы изобретения относятся только к этим пунктам

формулы изобретения в качестве альтернативы.

Примеры анти-IL31 антител

[0011] Представлены антитела, обладающие повышенным сродством к собачьему IL31 и кошачьему IL31. Представленные в настоящем описании анти-IL31 антитела включают, без ограничения, моноклональные антитела, химерные антитела, канинизированные антитела и фелинизированные антитела.

[0012] В настоящем описании также представлены аминокислотные последовательности антител с созревшей аффинностью с улучшенным связыванием с собачьим и кошачьим IL-31. Например, для иллюстрации зрелых антител (канинизированных и фелинизированных) приведены CDR вариабельной тяжелой цепи (SEQ ID NO:11-15), CDR вариабельной легкой цепи (SEQ ID NO:20-24), каркасные последовательности вариабельной области тяжелой цепи (SEQ ID NO:16-19, 25-28, 55-72) и каркасные последовательности вариабельной области легкой цепи (SEQ ID NO:11-14). Представлены в качестве иллюстрации аминокислотные последовательности вариабельной легкой цепи, легкой цепи, вариабельной тяжелой цепи и тяжелой цепи иллюстративных зрелых антител (канинизированных и фелинизированных) (например, SEQ ID NO:5-10, 29-54, 73-78).

[0013] В контексте настоящего описания термин «антитело» используется в самом широком смысле и охватывает различные структуры антител, включая, без ограничения, моноклональные антитела, поликлональные антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические (такие как привлекающий Т-клетки биспецифический активатор) и триспецифические антитела) и фрагменты антител (такие как Fab, F(ab')₂, ScFv, минитело, диатело, триатело и тетратело) при условии, что они проявляют желаемую антигенсвязывающую активность. Виды псовых, кошачьих и лошадиных отличаются разновидностью (классами) антител, которые являются общими для многих млекопитающих.

[0014] Термин антитело включает, без ограничения, фрагменты, способные связываться с антигеном, такие как Fv, одноцепочечный Fv (scFv), Fab, Fab', ди-scFv, sdAb (однодоменное антитело) и (Fab')₂ (включая химически связанный F(ab')₂). Расщепление антител папаином дает два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых Fab-фрагментами, каждый из которых имеет один антигенсвязывающий участок, и остаточный Fc-фрагмент, название которого отражает его способность легко кристаллизоваться. Обработка пепсином дает фрагмент F(ab')₂, который имеет два антигенсвязывающих участка и сохраняет способность связываться с антигеном. Термин «антитело» также включает, без ограничения, химерные антитела, гуманизированные антитела и антитела различных видов, таких как мышинные, человеческие, яванского макака, собачьи, кошачьи, лошадиные и т.д. Кроме того, для всех конструкций антител, представленных в настоящем описании, также предусмотрены варианты, имеющие последовательности, происходящие от других организмов. Таким образом, если описана мышинная версия антитела, специалисту в данной области будет понятно, как

трансформировать антитело на основе мышинной последовательности в кошачью, собачью, лошадиную и т.п. последовательность. Фрагменты антител также включают любую ориентацию одноцепочечных scFv, tandemных di-scFv, диател, tandemных три-sdcFv, минител и т.д. Фрагменты антител также включают нанотела (sdAb, антитело, имеющее один мономерный домен, такой как пара вариабельных доменов тяжелых цепей, без легкой цепи). В некоторых вариантах осуществления фрагмент антитела может относиться к определенному виду (например, мышинному scFv или собачьему scFv). Это означает последовательности, по меньшей мере, части областей, отличных от CDR, а не источник конструкции. В некоторых вариантах осуществления антитела содержат метку или конъюгированы со вторым фрагментом.

[0015] Термины «метка» и «детектируемая метка» означают фрагмент, прикрепленный к антителу или его аналиту, что позволяет детектировать реакцию (например, связывание) между членами пары специфического связывания. Меченый член пары специфического связывания называется «детектируемо меченым». Таким образом, термин «меченый связывающий белок» относится к белку с включенной меткой, которая позволяет идентифицировать связывающий белок. В некоторых вариантах осуществления метка представляет собой детектируемый маркер, который способен генерировать сигнал, детектируемый с помощью визуальных или инструментальных средств, например, включение радиоактивно меченной аминокислоты или присоединение к полипептиду биотинильных фрагментов, которые можно детектировать с помощью меченого авидина (для например, стрептавидина, содержащего флуоресцентный маркер или имеющего ферментативную активность, которую можно обнаружить оптическими или колориметрическими методами). Примеры меток для полипептидов включают, без ограничения, следующие: радиоизотопы или радионуклиды (например, ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I , ^{177}Lu , ^{166}Ho или ^{153}Sm); хромогены, флуоресцентные метки (например, FITC, родамин, лантанидные люминофоры), ферментативные метки (например, пероксидазу хрена, люциферазу, щелочную фосфатазу); хемилюминесцентные маркеры; биотинильные группы; predetermined полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновой молнии, сайты связывания вторичных антител, домены связывания металлов, метки эпитопов); и магнитные агенты, такие как хелаты гадолиния. Репрезентативные примеры меток, обычно используемых для иммунологических анализов, включают фрагменты, которые генерируют свет, например соединения акридиния, и фрагменты, которые генерируют флуоресценцию, например флуоресцеин. В этом отношении сам фрагмент может не быть детектируемо меченым, но может стать детектируемым в результате реакции с еще одним фрагментом.

[0016] Термин «моноклональное антитело» относится к антителу из по существу однородной популяции антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела

обладают высокой специфичностью и направлены против одного антигенного участка. Более того, в отличие от препаратов поликлональных антител, которые обычно включают разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты антигена. Таким образом, образец моноклонального антитела может связываться с одним и тем же эпитопом на антигене. Модификатор «моноклональный» указывает на то, что антитело получено из практически однородной популяции антител, и его не следует толковать как требующий получения антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела могут быть получены методом гибридомы, впервые описанным Kohler and Milstein, 1975, Nature 256:495, или могут быть получены методами рекомбинантной ДНК, такими как описано в патенте США № 4,816,567. Моноклональные антитела также могут быть выделены из фаговых библиотек, созданных методами, описанными, например, в McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554.

[0017] «Аминокислотная последовательность» означает последовательность аминокислотных остатков в пептиде или белке. Термины «полипептид» и «белок» используются взаимозаменяемо для обозначения полимера аминокислотных остатков и не ограничены минимальной длиной. Такие полимеры аминокислотных остатков могут содержать природные или неприродные аминокислотные остатки и включают, без ограничения, пептиды, олигопептиды, димеры, тримеры и мультимеры аминокислотных остатков. Это определение включает как полноразмерные белки, так и их фрагменты. Термины также включают модификации полипептида после экспрессии, например гликозилирование, сиамирование, ацетилирование, фосфорилирование и т.п. Кроме того, для целей настоящего изобретения «полипептид» относится к белку, нативная последовательности которого включает модификации, такие как делеции, добавления и замены (обычно консервативные по своей природе), при условии, что белок сохраняет желаемую активность. Эти модификации могут быть преднамеренными, например, результатом направленного мутагенеза, или могут быть случайными, например, результатом мутаций хозяев, которые продуцируют белки, или ошибок из-за амплификации ПЦР.

[0018] Термин «IL31», используемый в настоящем описании, относится к любому нативному IL31, полученному в результате экспрессии и процессинга IL31 в клетке. Термин включает IL31 из любого источника позвоночного, включая млекопитающих, таких как приматы (например, люди и яванские макаки) и грызуны (например, мыши и крысы), и животных-компаньонов (например, собак, кошек и лошадей), если не указано иное. Термин также включает встречающиеся в природе варианты IL31, например, варианты сплайсинга или аллельные варианты.

[0019] В некоторых вариантах осуществления собачий IL31 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:79 или SEQ ID NO:80. В некоторых вариантах осуществления кошачий IL31 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:81. В некоторых вариантах осуществления мышинный IL31 содержит

аминокислотную последовательность SEQ ID NO:82.

[0020] Термин «IL31-связывающий домен» антитела означает связывающий домен, образованный легкой цепью и тяжелой цепью анти-IL31 антитела, который связывается с IL31.

[0021] В некоторых вариантах осуществления IL31-связывающий домен связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31 со сродством, более высоким чем сродство, с которым оно связывается с человеческим IL31. В некоторых вариантах осуществления IL31-связывающий домен связывается с IL31 других животных-компаньонов, например лошадиным IL31. В некоторых вариантах осуществления IL31-связывающий домен не связывается с человеческим IL31.

[0022] В контексте настоящего описания термин «эпитоп» относится к участку молекулы-мишени (например, антигена, такого как белок, нуклеиновая кислота, углевод или липид), к которому присоединяется антигенсвязывающая молекула (например, антитело, фрагмент антитела или белковый каркас, содержащий связывающие участки антитела). Эпитопы часто включают химически активную поверхностную группу молекул, таких как аминокислоты, полипептиды или боковые цепи сахаров, и имеют специфические трехмерные структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Эпитопы могут быть образованы как из непрерывных, так и смежных не являющихся непрерывными остатков (например, аминокислот, нуклеотидов, сахаров, липидного фрагмента) молекулы-мишени. Эпитопы, образованные из непрерывных остатков (например, аминокислот, нуклеотидов, сахаров, липидного фрагмента), обычно сохраняются при воздействии денатурирующих растворителей, тогда как эпитопы, образованные в результате третичной укладки, обычно теряются при обработке денатурирующими растворителями. Эпитоп может включать, без ограничения, по меньшей мере 3, по меньшей мере 5 или 8-10 остатков (например, аминокислот или нуклеотидов). В некоторых примерах эпитоп имеет длину менее 20 остатков (например, аминокислот или нуклеотидов), менее 15 остатков или менее 12 остатков. Два антитела могут связываться с одним и тем же эпитопом внутри антигена, если они проявляют конкурентное связывание с антигеном. В некоторых вариантах осуществления эпитоп можно идентифицировать по определенному минимальному расстоянию до остатка CDR на антигенсвязывающей молекуле. В некоторых вариантах осуществления эпитоп можно идентифицировать по указанному выше расстоянию и, кроме того, ограничить его остатками, участвующими в связи (например, водородной связи) между остатком антитела и остатком антигена. Эпитоп также можно идентифицировать с помощью различных сканирований, например, аланиновое или аргининовое сканирование может указывать на один или более остатков, с которыми может взаимодействовать антигенсвязывающая молекула. Если не указано иное, набор остатков в качестве эпитопа не исключает того, что другие остатки являются частью эпитопа конкретного антитела. Скорее наличие такого набора обозначает минимальную последовательность (или набор последовательностей) эпитопов. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления

набор остатков, идентифицированный как эпитоп, обозначает минимальный эпитоп, релевантный для антигена, а не исключительный список остатков для эпитопа на антигене.

[0023] Термин «CDR» означает определяющую комплементарность область, определенную специалистом в данной области по меньшей мере одним способом идентификации. В некоторых вариантах осуществления CDR могут быть определены в соответствии с любой из схем: схемы нумерации Чотиа, схемы нумерации Кабат, комбинации Кабат и Чотиа, определения AbM, определения контакта или комбинации определений по Кабат, Чотиа, AbM или контакт. Различные CDR в антителе могут быть обозначены соответствующим номером и типом цепи, включая, без ограничения, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3. Термин «CDR» используется в настоящем описании также для обозначения «гипервариабельной области» или HVR, включая гипервариабельные петли.

[0024] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело содержит:

- a) тяжелую цепь, содержащую последовательность CDR-H3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:14 или SEQ ID NO:15; и/или
- b) легкую цепь, содержащую последовательность CDR-L1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20; и/или
- c) легкую цепь, содержащую последовательность CDR-L3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:23 или SEQ ID NO:24.

[0025] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело содержит:

- a) тяжелую цепь, содержащую последовательность CDR-H1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:11, последовательность CDR-H2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:12, и последовательность CDR-H3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14 или SEQ ID NO:15; и/или
- b) легкую цепь, содержащую последовательность CDR-L1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20, последовательность CDR-L2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:21, и последовательность CDR-L3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23 или SEQ ID NO:24.

[0026] В контексте настоящего описания термин «вариабельная область» относится к области, содержащей по меньшей мере три CDR. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область включает три CDR и по меньшей мере одну каркасную область («FR»). Термины «вариабельная область тяжелой цепи» или «вариабельная тяжелая цепь» используются взаимозаменяемо для обозначения области, содержащей по меньшей мере три CDR тяжелой цепи. Термины «вариабельная область легкой цепи» или «вариабельная легкая цепь» используются взаимозаменяемо для обозначения области, содержащей по меньшей мере три CDR легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи или вариабельная область легкой цепи содержат по меньшей мере одну каркасную область. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область тяжелой цепи, выбранную из HC-FR1, HC-FR2,

HC-FR3 и HC-FR4. В некоторых вариантах осуществления антитело содержит по меньшей мере одну каркасную область легкой цепи, выбранную из LC-FR1, LC-FR2, LC-FR3 и LC-FR4. Каркасные области могут располагаться рядом между CDR легкой цепи или между CDR тяжелой цепи. Например, антитело может содержать переменную тяжелую цепь, имеющую следующую структуру: (HC-FR1)-(CDR-H1)-(HC-FR2)-(CDR-H2)-(HC-FR3)-(CDR-H3)-(HC-FR4). Антитело может содержать переменную тяжелую цепь, имеющую следующую структуру: (CDR-H1)-(HC-FR2)-(CDR-H2)-(HC-FR3)-(CDR-H3). Антитело также может содержать переменную легкую цепь, имеющую следующую структуру: (LC-FR1)-(CDR-L1)-(LC-FR2)-(CDR-L2)-(LC-FR3)-(CDR-L3)-(LC-FR4). Антитело может также содержать переменную легкую цепь, имеющую следующую структуру: (CDR-L1)-(LC-FR2)-(CDR-L2)-(LC-FR3)-(CDR-L3).

[0027] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело содержит одну или более из (a) последовательности каркаса 1 переменной области тяжелой цепи (HC-FR1) SEQ ID NO:16; (b) последовательности HC-FR2 SEQ ID NO:17; (c) последовательности HC-FR3 SEQ ID NO:18; (d) последовательности HC-FR4 SEQ ID NO:19; (e) последовательности каркаса 1 переменной области легкой цепи (LC-FR1) SEQ ID NO:25; (f) последовательности LC-FR2 SEQ ID NO:26; (g) последовательности LC-FR3 SEQ ID NO:27; или (h) последовательности LC-FR4 SEQ ID NO:28.

[0028] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело содержит одну или более из (a) последовательности каркаса 1 переменной области тяжелой цепи (HC-FR1) SEQ ID NO:55 или SEQ ID NO:56; (b) последовательности HC-FR2 SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59; (c) последовательности HC-FR3 SEQ ID NO:60 или SEQ ID NO:61; (d) последовательности HC-FR4 SEQ ID NO:62 или SEQ ID NO:63; (e) последовательности каркаса 1 переменной области легкой цепи (LC-FR1) SEQ ID NO:64 или SEQ ID NO:65; (f) последовательности LC-FR2 SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67 или SEQ ID NO:68; (g) последовательности LC-FR3 SEQ ID NO:69 или SEQ ID NO:70; или (h) последовательности LC-FR4 SEQ ID NO:71 или SEQ ID NO:72.

[0029] В контексте настоящего описания термин «константная область» относится к области, содержащей по меньшей мере три константных домена. Термины «константная область тяжелой цепи» или «константная тяжелая цепь» используются взаимозаменяемо для обозначения области, содержащей по меньшей мере три константных домена тяжелой цепи, CH1, CH2 и CH3. Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи включают γ , δ , α , ϵ и μ . Каждая константная область тяжелой цепи соответствует изотипу антитела. Например, антитело, содержащее константную область γ , представляет собой антитело IgG, антитело, содержащее константную область δ , представляет собой антитело IgD, антитело, содержащее константную область α , представляет собой антитело IgA, антитело, содержащее константную область μ , представляет собой антитело IgM, и антитело, содержащее константную область ϵ , представляет собой антитело IgE. Некоторые изотипы могут быть дополнительно подразделены на подклассы. Например, антитела IgG включают, без ограничения, антитела IgG1 (содержащее константную

область $\gamma 1$), IgG2 (содержащее константную область $\gamma 2$), IgG3 (содержащее константную область $\gamma 3$) и IgG4 (содержащее константную область $\gamma 4$). Антитела IgA включают, без ограничения, антитела IgA1 (содержащее константную область $\alpha 1$) и IgA2 (содержащее константную область $\alpha 2$); и антитела IgM включают, без ограничения, IgM1 и IgM2. Термины «константная область легкой цепи» или «константная легкая цепь» используются взаимозаменяемо для обозначения области, содержащей константный домен легкой цепи, CL. Неограничивающие типичные константные области легкой цепи включают λ и κ . Делеции и изменения в пределах доменов, не изменяющие функцию, входят в объем термина «константная область», если не указано иное. У представителей псовых, кошачьих и лошадиных имеются классы антител, такие как IgG, IgA, IgD, IgE и IgM. В класс собачьих IgG антител входят IgG-A, IgG-B, IgG-C и IgG-D. В класс кошачьих IgG антител входят IgG1a, IgG1b и IgG2.

[0030] Термин «химерное антитело» или «химерный» относится к антителу, в котором часть тяжелой цепи или легкой цепи получена из конкретного источника или вида, в то время как по меньшей мере часть остатка тяжелой цепи или легкой цепи происходит из другого источника или вида. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело относится к антителу, содержащему по меньшей мере одну переменную область первого вида (например, мыши, крысы, яванского макака и т.д.) и по меньшей мере одну константную область второго вида (например, человека, собаки, кошки, лошади и др.).

[0031] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело содержит собачью константную область тяжелой цепи, выбранную из константной области IgG-A, IgG-B, IgG-C и IgG-D. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело представляет собой (a) собачье антитело IgG-A, содержащее аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:83; (b) собачье антитело IgG-B, содержащее аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:84; (c) собачье антитело IgG-C, содержащее аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:85; или (d) собачье антитело IgG-D, содержащее аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:86.

[0032] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело содержит кошачью константную область тяжелой цепи, выбранную из константной области IgG1, IgG2a и IgG2b.

[0033] «Канинизированное антитело» означает антитело, в котором по меньшей мере одна аминокислота в части, не относящейся к собачьей переменной области, заменена соответствующей аминокислотой из собачьей переменной области. В некоторых вариантах осуществления канинизированное антитело содержит по меньшей мере одну собачью константную область (например, константную область γ , константную область α , константную область δ , константную область ϵ , константную область μ и т.д.) или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления канинизированное антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как Fab, scFv, (Fab')₂ и т.д. Термин

«канинизированный» также обозначает формы несобачьих (например, мышинных) антител, которые представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулина или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие последовательности антител), которые содержат минимальную последовательность несобачьего иммуноглобулина. Канинизированные антитела могут включать собачьи иммуноглобулины (реципиентное антитело), в которых остатки из CDR реципиента заменены остатками из CDR не относящихся к собачьим видов (донорское антитело), таких как мыши, крысы или кролики, с желаемой специфичностью, сродством и емкостью. В некоторых случаях остатки каркасной области (FR) Fv собачьего иммуноглобулина заменены соответствующими не относящимися к собачьим остатками. Кроме того, канинизированное антитело может содержать остатки, которые не обнаруживаются ни в реципиентном антителе, ни в импортированных CDR или каркасных последовательностях, но включены для дальнейшего уточнения и оптимизации характеристик антитела.

[0034] В некоторых вариантах осуществления канинизированная переменная цепь слита с собачьей константной тяжелой цепью или собачьей константной легкой цепью.

[0035] «Фелинизированное антитело» означает антитело, в котором по меньшей мере одна аминокислота в части, не относящейся к кошачьей переменной области, заменена соответствующей аминокислотой из кошачьей переменной области. В некоторых вариантах осуществления кошачье антитело содержит по меньшей мере одну кошачью константную область (например, константную область γ , константную область α , константную область δ , константную область ϵ , константную область μ и т.д.) или ее фрагмент. В некоторых вариантах осуществления фелинизированное антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как Fab, scFv, (Fab')₂ и т.д. Термин «фелинизированный» также обозначает формы некошачьих (например, мышинных) антител, которые представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулина или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие последовательности антител), которые содержат минимальную последовательность некошачьего иммуноглобулина. Фелинизированные антитела могут включать кошачьи иммуноглобулины (реципиентное антитело), в которых остатки из CDR реципиента заменены остатками из CDR не относящегося к кошачьим вида (донорское антитело), такого как мышь, крыса или кролик, с желаемой специфичностью, сродством и емкостью. В некоторых случаях остатки каркасной области (FR) Fv кошачьего иммуноглобулина заменены соответствующими не относящимися к кошачьим остатками. Кроме того, фелинизированное антитело может содержать остатки, которые не обнаружены ни в реципиентном антителе, ни в импортированных CDR или каркасных последовательностях, но включены для дальнейшего уточнения и оптимизации характеристик антитела.

[0036] В некоторых вариантах осуществления кошачья переменная цепь слита с

кошачьей константной тяжелой цепью или кошачьей константной легкой цепью. Термин «IgX Fc» означает, что Fc-участок получен из определенного изотипа антитела (например, IgG, IgA, IgD, IgE, IgM и т.д.), где «X» означает изотип антитела. Так, «Fc IgG» обозначает Fc-участок γ -цепи, «Fc IgA» означает Fc-участок α -цепи, «Fc IgD» означает Fc-участок δ -цепи, «Fc IgE» означает Fc-участок ε -цепи, «Fc IgM» означает Fc-участок μ -цепи и т.д. В некоторых вариантах осуществления Fc-участок IgG содержит CH1, шарнир, CH2, CH3 и CL1. «IgX-N-Fc» означает, что Fc-участок получен из конкретного подкласса изотипа антитела (например, собачьего IgG подкласса A, B, C или D; или кошачьего IgG подкласса 1, 2a или 2b и т.д.), где «N» означает подкласс. В некоторых вариантах осуществления области Fc IgX или IgX-N-Fc происходят от животного-компаньона, такого как собака или кошка. В некоторых вариантах осуществления Fc-области IgG выделяют из тяжелых γ -цепей собак, таких как IgG-A, IgG-B, IgG-C или IgG-D. В некоторых случаях Fc-участки IgG выделяют из тяжелых γ -цепей кошек, таких как IgG1, IgG2a или IgG2b. Антитела, содержащие Fc-участок IgG-A, IgG-B, IgG-C или IgG-D, могут обеспечивать более высокие уровни экспрессии в системах рекомбинационного продуцирования.

[0037] Термин «сродство (аффинность)» означает силу суммарной силы нековалентных взаимодействий между одним связывающим участком молекулы (например, антитела) и его партнером по связыванию (например, антигеном). Сродство молекулы X к ее партнеру Y обычно может быть представлено константой диссоциации (K_D). Сродство можно измерить обычными способами, известными в данной области, такими как, например, иммуноблоттинг, ELISA KD, KinEx A, биослойная интерферометрия (BLI) или с помощью устройства поверхностного плазмонного резонанса.

[0038] Термины « K_D », « K_d », « K_d » или «значение K_d », используемые взаимозаменяемо, относятся к равновесной константе диссоциации взаимодействия антитело-антиген. В некоторых вариантах осуществления K_d антитела измеряют методом биослойной интерферометрии с помощью биосенсора, такого как система Octet® (Pall ForteBio LLC, Fremont CA), в соответствии с инструкциями поставщика. Вкратце, биотинилированный антиген связывают с наконечником сенсора, и ассоциацию антител отслеживают в течение девяноста секунд, а диссоциацию отслеживают в течение 600 секунд. Буфер для разведения и связывания представляет собой 20 mM фосфат, 150 mM NaCl, pH 7,2. Пустую кривую, содержащую только буфер, вычитают, чтобы скорректировать любой дрейф. Данные подгоняют к 2:1 модели связывания с помощью программного обеспечения для анализа данных ForteBio для определения константы скорости ассоциации (k_{on}), константы скорости диссоциации (k_{off}) и K_d . Константу равновесной диссоциации (K_d) рассчитывают в виде отношения k_{off}/k_{on} . Термин « k_{on} » относится к константе скорости ассоциации антитела с антигеном, а термин « k_{off} » относится к константе скорости диссоциации антитела из комплекса антитело/антиген.

[0039] Термин «связывается» с антигеном или эпитопом является термином, который хорошо известен в данной области, и способы определения такого связывания

также хорошо известны в данной области. Говорят, что молекула проявляет «связывание», если она реагирует, связывается или имеет сродство к конкретной клетке или веществу, и эту реакцию, ассоциацию или сродство можно обнаружить одним или более методами, известными в данной области, такими как, например, иммуноблот, ELISA KD, KinEx A, биослойная интерферометрия (BLI), устройства поверхностного плазмонного резонанса и т.д.

[0040] «Поверхностный плазмонный резонанс» означает оптическое явление, которое позволяет проводить анализ биоспецифических взаимодействий в реальном времени путем обнаружения изменений концентрации белка в матрице биосенсора, например, с помощью системы BIAcore™ (BIAcore International AB, компании GE Healthcare, Uppsala, Sweden и Piscataway, N.J.). Дополнительное описание см. в Jonsson et al. (1993) *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26.

[0041] «Биослойная интерферометрия» относится к оптическому аналитическому методу, который позволяет анализировать интерференционную картину света, отраженного от слоя иммобилизованного белка на наконечнике биосенсора и внутреннем эталонном слое. Изменения количества молекул, связанных с наконечником биосенсора, вызывают сдвиги в интерференционной картине, которые можно измерить в режиме реального времени. Неограничивающим типичным устройством для биослойной интерферометрии является система Octet® (Pall ForteBio LLC). См., например, Abdiche et al., 2008, *Anal. Biochim.* 377:209-277.

[0042] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31 с константой диссоциации (K_d) менее 5×10^{-6} М, менее 1×10^{-6} М, менее 5×10^{-7} М, менее 1×10^{-7} М, менее 5×10^{-8} М, менее 1×10^{-8} М, менее 5×10^{-9} М, менее 1×10^{-9} М, менее 5×10^{-10} М, менее 1×10^{-10} М, менее 5×10^{-11} М, менее 1×10^{-11} М, менее 5×10^{-12} М или менее 1×10^{-12} М, измеренной методом биослойной интерферометрии. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело связывается с собачьим IL31, кошачьим IL31 или лошадиным IL31 с K_d от 5×10^{-6} М до 1×10^{-6} М, от 5×10^{-6} М до 5×10^{-7} М, от 5×10^{-6} М до 1×10^{-7} М, от 5×10^{-6} М до 5×10^{-8} М, от 5×10^{-6} М до 1×10^{-8} М, от 5×10^{-6} М и 5×10^{-9} М, от 5×10^{-6} М до 1×10^{-9} М, от 5×10^{-6} М до 5×10^{-10} М, от 5×10^{-6} М до 1×10^{-10} М, от 5×10^{-6} М до 5×10^{-11} М, от 5×10^{-6} М до 1×10^{-11} М, от 5×10^{-6} М до 5×10^{-12} М, от 5×10^{-6} М до 1×10^{-12} М, от 1×10^{-6} М до 5×10^{-7} М, от 1×10^{-6} М до 1×10^{-7} М, от 1×10^{-6} М и 5×10^{-8} М, 1×10^{-6} М до 1×10^{-8} М, от 1×10^{-6} М до 5×10^{-9} М, от 1×10^{-6} М до 1×10^{-9} М, от 1×10^{-6} М до 5×10^{-10} М, от 1×10^{-6} М до 1×10^{-10} М, от 1×10^{-6} М до 5×10^{-11} М, от 1×10^{-6} М до 1×10^{-11} М, от 1×10^{-6} М до 5×10^{-12} М, от 1×10^{-6} М до 1×10^{-12} М, от 5×10^{-7} М до 1×10^{-7} М, от 5×10^{-7} М до 5×10^{-8} М, 5×10^{-7} М до 1×10^{-8} М, от 5×10^{-7} М до 5×10^{-9} М, от 5×10^{-7} М до 1×10^{-9} М, от 5×10^{-7} М до 5×10^{-10} М, от 5×10^{-7} М до 1×10^{-10} М, от 5×10^{-7} М до 5×10^{-11} М, от 5×10^{-7} М до 1×10^{-11} М, от 5×10^{-7} М до 5×10^{-12} М, от 5×10^{-7} М до 1×10^{-12} М, от 1×10^{-7} М до 5×10^{-8} М, от 1×10^{-7} М до 1×10^{-8} М, от 1×10^{-7} М до 5×10^{-9} М, от 1×10^{-7} М до 1×10^{-9} М, от 1×10^{-7} М до 5×10^{-10} М, от 1×10^{-7} М до 1×10^{-10} М, от 1×10^{-7} М до 5×10^{-11} М, от 1×10^{-7} М до 1×10^{-11} М, от 1×10^{-7} М до 5×10^{-12} М, от 1×10^{-7} М до 1×10^{-12} М, от 5×10^{-8} М до 1×10^{-8} М, от 5×10^{-8} М до 5×10^{-9} М, от

5×10^{-8} М до 1×10^{-9} М, от 5×10^{-8} М до 5×10^{-10} М, от 5×10^{-8} М до 1×10^{-10} М, от 5×10^{-8} М до 5×10^{-11} М, от 5×10^{-8} М до 1×10^{-11} М, от 5×10^{-8} М до 5×10^{-12} М, от 5×10^{-8} М до 1×10^{-12} М, от 1×10^{-8} М до 5×10^{-9} М, от 1×10^{-8} М до 1×10^{-9} М, от 1×10^{-8} М до 5×10^{-10} М, от 1×10^{-8} М до 1×10^{-10} М, от 1×10^{-8} М до 5×10^{-11} М, от 1×10^{-8} М до 1×10^{-11} М, от 1×10^{-8} М до 5×10^{-12} М, от 1×10^{-8} М до 1×10^{-12} М, от 5×10^{-9} М до 1×10^{-9} М, от 5×10^{-9} М до 5×10^{-10} М, от 5×10^{-9} М до 1×10^{-10} М, от 5×10^{-9} М до 5×10^{-11} М, от 5×10^{-9} М до 1×10^{-11} М, от 5×10^{-9} М до 5×10^{-12} М, от 5×10^{-9} М до 1×10^{-12} М, от 1×10^{-9} М до 5×10^{-10} М, от 1×10^{-9} М до 1×10^{-10} М, от 1×10^{-9} М до 5×10^{-11} М, от 1×10^{-9} М до 1×10^{-11} М, от 1×10^{-9} М до 5×10^{-12} М, от 1×10^{-9} М до 1×10^{-12} М, от 5×10^{-10} М до 1×10^{-10} М, от 5×10^{-10} М до 5×10^{-11} М, от 1×10^{-10} М до 5×10^{-11} М, от 1×10^{-10} М до 1×10^{-11} М, от 1×10^{-10} М до 5×10^{-12} М, от 1×10^{-10} М до 1×10^{-12} М, от 5×10^{-11} М до 1×10^{-12} М, от 5×10^{-11} М до 5×10^{-12} М, от 5×10^{-11} М до 1×10^{-12} М, от 1×10^{-11} М до 5×10^{-12} М или от 1×10^{-11} М до 1×10^{-12} М, измеренной методом биослойной интерферометрии. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31, что определяют методом иммуноблоттинга.

[0043] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело не связывается с человеческим IL31 согласно результатам анализа методом иммуноблоттинга и/или биослойной интерферометрии.

[0044] В некоторых вариантах осуществления предложено анти-IL31 антитело, которое конкурирует с M14 за связывание с IL31.

[0045] «Вариант» означает биологически активный полипептид с аминокислотной последовательностью, который на по меньшей мере примерно 50% идентичен полипептиду с нативной последовательностью после выравнивания последовательностей и введения гэпов, при необходимости, для достижения максимального процента идентичности последовательности, и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательности. Такие варианты включают, например, полипептиды, в которых один или более аминокислотных остатков добавлены или удалены на N- или C-конце полипептида.

[0046] В некоторых вариантах осуществления вариант имеет аминокислотную последовательность, на по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 65%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 75%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 85%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 97%, по меньшей мере примерно 98%, по меньшей мере примерно 99% идентичную полипептиду с нативной последовательностью.

[0047] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело содержит:

а) (i) последовательность вариативной тяжелой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:7; (ii) последовательность вариативной легкой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере

97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 или SEQ ID NO:10; или (iii) последовательность вариабельной тяжелой цепи, как указано в (i), и последовательность вариабельной легкой цепи, как указано в (ii); или

b) (i) последовательность вариабельной тяжелой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51 или SEQ ID NO:90; (ii) последовательность вариабельной легкой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54; или (iii) последовательность вариабельной тяжелой цепи, как указано в (i), и последовательность вариабельной легкой цепи, как указано в (ii).

[0048] В контексте настоящего описания термин «процент (%) идентичности аминокислотной последовательности» и «гомология» по отношению к последовательности пептида, полипептида или антитела определяют как процент аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны аминокислотным остаткам в конкретной пептидной или полипептидной последовательности после выравнивания последовательностей и введения гэпов, при необходимости, для достижения максимального процента идентичности последовательности, и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательности. Выравнивание с целью определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть достигнуто различными способами, известными специалистам в данной области, например, с помощью общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALINETM (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

[0049] Аминокислотная замена может включать, без ограничения, замену одной аминокислоты в полипептиде другой аминокислотой. Примеры замен показаны в таблице 2. Аминокислотные замены могут быть введены в представляющее интерес антитело, и продукты могут быть подвергнуты скринингу на наличие желаемой активности, например сохранение/улучшение связывания антигена, снижение иммуногенности или улучшение ADCC или CDC.

[0050] Таблица 2

Первоначальный остаток	Иллюстративные замещения
Ala (A)	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys; Gln; Asn

Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин
Leu (L)	норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин

[0051] Аминокислоты могут быть сгруппированы в соответствии с общими свойствами боковой цепи:

- (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислые: Asp, Glu;
- (4) основные: His, Lys, Arg;
- (5) остатки, влияющие на ориентацию цепи: Gly, Pro;
- (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

[0052] Неконсервативные замены влекут за собой замену члена одного из этих классов на другой класс.

[0053] Термин «вектор» используется для описания полинуклеотида, который можно сконструировать таким образом, чтобы он содержал клонированный полинуклеотид или полинуклеотиды, которые можно размножить в клетке-хозяине. Вектор может включать один или более из следующих элементов: точку начала репликации, одну или более регуляторных последовательностей (таких как, например, промоторы или энхансеры), которые регулируют экспрессию представляющего интерес полипептида, или один или более селективируемых маркерных генов (такие как, например, гены устойчивости к антибиотикам и гены, которые можно использовать в колориметрических анализах, например, β -галактозидазу). Термин «вектор экспрессии»

относится к вектору, который используется для экспрессии представляющего интерес полипептида в клетке-хозяине.

[0054] «Клетка-хозяин» относится к клетке, которая может быть или была реципиентом вектора или выделенного полинуклеотида. Клетки-хозяева могут представлять собой прокариотические клетки или эукариотические клетки. Примеры эукариотических клеток включают клетки млекопитающих, такие как клетки приматов или животных, не являющихся приматами; клетки грибов, таких как дрожжи; растительные клетки; и клетки насекомых. Неограничивающие примеры клеток млекопитающих включают, без ограничения, клетки NS0, клетки PER.C6® (Crucell), клетки 293 и клетки CHO и их производные, такие как клетки 293-6E, DG44, CHO-S и CHO-K. Клетки-хозяева включают потомство одной клетки-хозяина, и это потомство не обязательно может быть полностью идентичным (по морфологии или комплементарности геномной ДНК) исходной родительской клетке в связи с естественной, случайной или преднамеренной мутацией. Клетка-хозяин включает клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом(ами), кодирующим(и) аминокислотную(ые) последовательность(и), представленную(ые) в настоящем описании.

[0055] В контексте настоящего описания термин «выделенный» относится к молекуле, которая была отделена по меньшей мере от некоторых компонентов, с которыми она обычно встречается в природе или продуцируется. Например, полипептид называется «выделенным», когда он отделен по меньшей мере от некоторых компонентов клетки, в которой был продуцирован. Когда полипептид секретируется клеткой после экспрессии, физическое отделение супернатанта, содержащего полипептид, от клетки, которая его продуцирует, считается «выделением» полипептида. Точно так же полинуклеотид называется «выделенным», если он не является частью более крупного полинуклеотида (например, геномной ДНК или митохондриальной ДНК, в случае ДНК-полинуклеотида), в котором он обычно встречается в природе, или отделен по меньшей мере от некоторых компонентов клетки, в которой он был получен, например, в случае РНК-полинуклеотида. Таким образом, ДНК-полинуклеотид, содержащийся в векторе внутри клетки-хозяина, можно назвать «выделенным». В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело очищают с помощью хроматографии, такой как эксклюзионная хроматография, ионообменная хроматография, колоночная хроматография с белком А, хроматография гидрофобного взаимодействия и хроматография СНТ.

[0056] Термин «вид животного-компаньона» относится к животному, подходящему для человека в качестве компаньона. В некоторых вариантах осуществления вид животного-компаньона относится к мелкому млекопитающему, такому как представитель псовых, кошачьих, собака, кошка, лошадь, кролик, хорек, морская свинка, грызун и т.д. В некоторых вариантах осуществления вид животного-компаньона относится к сельскохозяйственному животному, например, лошади, корове, свинье и т.д.

[0057] Термин «сигнальная функция IL31» относится к любой одной из или комбинации последующих видов активности, которые возникают, когда IL31 связывается

со своим рецептором или рецепторным комплексом. В некоторых вариантах осуществления сигнальная функция IL31 включает активацию сигнальных молекул янус-киназы (Jak) 1 или Jak 2. В некоторых вариантах осуществления сигнальная функция IL31 включает фосфорилирование белков STAT-3 или STAT-5. В некоторых вариантах осуществления сигнальная функция IL31 включает активацию сигнального пути MAP-киназы ERK1/2. В некоторых вариантах осуществления сигнальная функция IL31 включает активацию сигнального пути PI3K/AKT. В некоторых вариантах осуществления сигнальная функция IL31 включает активацию сигнального пути Jak1/2.

[0058] «Фосфорилирование STAT» означает постэкспрессионную модификацию белка STAT путем фосфорилирования. Например, «фосфорилирование STAT-3» относится к фосфорилированию STAT-3, а «фосфорилирование STAT-5» относится к фосфорилированию STAT-5. В некоторых вариантах осуществления фосфорилирование STAT-3 измеряют методом иммуноблоттинга.

[0059] Например, клетки (например, собачьи моноцитарные клетки DH82 или клетки млекопитающих (например, клетки HeLa), трансфицированные собачьим и/или кошачьим IL31Ra) высевают в 96-луночный планшет для культивирования клеток с плотностью 1×10^5 клеток на лунку в питательной среде (например, MEM, Life Technologies®), содержащей 15% термоинактивированной фетальной бычьей сыворотки, 2 ммоль/л GlutaMax, 1 ммоль/л пирувата натрия и 10 нм/мл собачьего интерферона-с (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) в течение 24 часов при 37°C в присутствии анти-IL31 антитела, как раскрыто в настоящем описании. Для определения концентраций фосфорилированного белка STAT и нефосфорилированного белка STAT относительно друг друга и по сравнению с бета-актином в качестве контроля можно использовать анализ клеточного лизата методом иммуноблоттинга с использованием анти-фосфо STAT-3, анти-STAT-3, анти-фосфо STAT-1, анти-STAT-1, анти-фосфо STAT-5 или анти-STAT-5 антител (R&D Systems). Специалистам в данной области известны способы либо качественного, либо количественного определения концентрации белков с помощью иммуноблота. В некоторых вариантах осуществления качественное определение относительной концентрации осуществляется путем визуального осмотра иммуноблота. В некоторых вариантах осуществления количественное определение концентрации фосфорилированного белка STAT и нефосфорилированного белка STAT осуществляется путем цифровой визуализации иммуноблота, определения интенсивности полос и использования линейной стандартной кривой известных концентраций белка STAT для обратного расчета концентрации фосфорилированного или нефосфорилированного белка STAT в образце.

[0060] «Уменьшать» или «ингибировать» означает снижать, уменьшать или устранять активность, функцию или количество по сравнению с эталоном. В некоторых вариантах осуществления под «снижением» или «ингибированием» подразумевается способность вызывать общее снижение на 20% или более. В некоторых вариантах осуществления под «снижением» или «ингибированием» подразумевается способность

вызывать общее снижение на 50% или более. В некоторых вариантах осуществления под «снижением» или «ингибированием» подразумевается способность вызывать общее снижение на 75%, 85%, 90%, 95% или более. В некоторых вариантах осуществления количество, указанное выше, ингибируется или уменьшается в течение определенного периода времени по сравнению с ингибированием или уменьшением контрольной дозы (такой как плацебо) в течение того же периода времени. Используемый в настоящем описании термин «эталон» относится к любому образцу, стандарту или уровню, используемому с целью сравнения. Эталон может быть получен из здорового или не имеющего заболевания образца. В некоторых примерах эталон получают из не имеющего заболевания или не обработанного образца животного-компаньона. В некоторых примерах эталон получают от одного или более здоровых животных определенного вида, которые не являются тестируемыми или получающими лечение животными.

[0061] Термин «существенно уменьшенный», используемый в настоящем описании, обозначает степень уменьшения между числовым значением и эталонным числовым значением, достаточно высокую, чтобы специалист в данной области мог считать разницу между двумя значениями статистически значимой в контексте биологической характеристики, измеряемой указанными значениями. В некоторых вариантах осуществления значительно уменьшенные числовые значения уменьшены более чем на любое из следующих значений: 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100% по сравнению с эталонным значением.

[0062] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело может снижать сигнальную функцию IL31 у животных-компаньонов на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или 100% по сравнению с сигнальной функцией IL31 в отсутствие антитела, как измерено по уменьшению фосфорилирования STAT-3. В некоторых вариантах осуществления снижение сигнальной функции IL31 или уменьшение фосфорилирования STAT-3 составляет от 10% до 15%, от 10% до 20%, от 10% до 25%, от 10% до 30%, от 10% до 35%, от 10% до 40%, от 10% до 45%, от 10% до 50%, от 10% до 60%, от 10% до 70%, от 10% до 80%, от 10% до 90%, от 10% до 100%, от 15% до 20%, от 15% до 25%, от 15% до 30%, от 15% до 35%, от 15% до 40%, от 15% до 45%, от 15% до 50%, от 15% до 60%, от 15% до 70%, от 15% до 80%, от 15% до 90%, от 15% до 100%, от 20% до 25%, от 20% до 30%, от 20% до 35%, от 20% до 40%, от 20% до 45%, от 20% до 50%, от 20% до 60%, от 20% до 70%, от 20% до 80%, от 20% до 90%, от 20% до 100%, от 25% до 30%, от 25% до 35%, от 25% до 40%, от 25% до 45%, от 25% до 50%, от 25% до 60%, от 25% до 70%, от 25% до 80%, от 25% до 90%, от 25% до 100%, от 30% до 35%, от 30% до 40%, от 30% до 45%, от 30% до 50%, от 30% до 60%, от 30% до 70%, от 30% до 80%, от 30% до 90%, от 30% до 100%, от 35% до 40%, от 35% до 45%, от 35% до 50%, от 35% до 60%, от 35% до 70%, от 35% до 80%, от 35% до 90%, от 35% до 100%, от 40% до 45%, от 40% до 50%, от

40% до 60%, от 40% до 70%, от 40% до 80%, от 40% до 90%, от 40% до 100%, от 45% до 50%, от 45% до 60%, от 45% до 70%, от 45% до 80%, от 45% до 90%, от 45% до 100%, от 50% до 60%, от 50% до 70%, от 50% до 80%, от 50% до 90%, от 50% до 100%, от 60% до 70%, от 60% до 80%, от 60% до 90%, от 60% до 100%, от 70% до 80%, от 70% до 90%, от 70% до 100%, от 80% до 90%, от 80% до 100% или от 90% до 100%.

Примеры фармацевтических композиций

[0063] Термины «фармацевтический состав» и «фармацевтическая композиция» относятся к препарату, который находится в форме, обеспечивающей эффективность биологической активности активного(ых) ингредиента(ов) и не содержащей дополнительных компонентов, неприемлемо токсичных для субъекта, которому будет вводиться состав.

[0064] «Фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, вспомогательному веществу, используемому для приготовления состава, или носителю, общепринятому в данной области техники для применения с терапевтическим агентом, которые вместе содержат «фармацевтическую композицию», предназначенную для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель является нетоксичным для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и совместимым с другими ингредиентами препарата. Фармацевтически приемлемый носитель подходит для используемой композиции. Примеры фармацевтически приемлемых носителей включают оксид алюминия; стеарат алюминия; лецитин; сывороточные белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, собачий или другой животный альбумин; буферы, такие как фосфатный, цитратный, триметиловый или HEPES буферы; глицин; сорбиновую кислоту; сорбат калия; смеси неполных глицеридов насыщенных растительных жирных кислот; воду; соли или электролиты, такие как сульфат протамина, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный кремнезем или трисиликат магния; поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы; полиэтиленгликоль; сахарозу; маннит; или аминокислоты, включая, без ограничения, аргинин.

[0065] Фармацевтическая композиция может храниться в лиофилизированной форме. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления процесс приготовления включает этап лиофилизации. Затем перед введением собаке, кошке или лошади состав лиофилизированной композиции может быть изменен для получения, как правило, водной композиции, подходящей для парентерального введения. В других вариантах осуществления, в частности, когда антитело обладает высокой стабильностью к термической и окислительной денатурации, фармацевтическую композицию можно хранить в виде жидкости, т.е. в виде водной композиции, которую можно вводить непосредственно или после соответствующего разбавления собаке, кошке или лошади. Лيوфилизированную композицию можно восстановить стерильной водой для инъекций (WFI). Могут быть включены антибактериальные агенты (например, бактериостатические

реагенты, такие как бензиловый спирт). Таким образом, изобретение относится к фармацевтической композиции в твердой или жидкой форме.

[0066] Значение pH фармацевтических композиций при введении может находиться в диапазоне от примерно pH 5 до примерно pH 8. Композиции по изобретению являются стерильными, если они предназначены для использования в терапевтических целях. Стерильность может быть достигнута любым из нескольких способов, известных в данной области, включая фильтрацию через стерильные фильтрационные мембраны (например, 0,2-микронные мембраны). Стерильность можно поддерживать с помощью антибактериальных средств или без них.

Примеры применения антител и фармацевтических композиций

[0067] Антитела или фармацевтические композиции, содержащие антитела по изобретению, могут быть полезными для лечения IL-31-индуцированного состояния. В контексте настоящего описания термин «IL-31-индуцированное состояние» означает заболевание, связанное, вызванное или характеризующееся повышенными уровнями или измененными градиентами концентрации IL-31. Такие IL-31-индуцированные состояния включают, без ограничения, зудящее или аллергическое заболевание. В некоторых вариантах осуществления IL-31-индуцированное состояние представляет собой атопический дерматит, аллергический дерматит, зуд, астму, псориаз, склеродермию или экзему. IL-31-индуцированное состояние может проявляться у животного-компаньона, включая, без ограничения, собаку или кошку.

[0068] В контексте настоящего описания термин «лечение» представляет собой подход для получения полезных или желаемых клинических результатов. В контексте настоящего описания термин «лечение» охватывает любое введение или применение терапевтического агента для лечения заболевания у млекопитающего, включая животное-компаньон. Для целей настоящего изобретения благоприятные или желаемые клинические результаты включают, без ограничения, любой один или более из следующих факторов: облегчение одного или более симптомов, уменьшение распространенности заболевания, предотвращение или замедление распространения заболевания, предотвращение или замедление рецидива заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, улучшение болезненного состояния, ингибирование заболевания или прогрессирования заболевания, ингибирование или замедление заболевания или его прогрессирования, остановку его развития и ремиссию (частичную или полную). Под «лечением» также понимают уменьшение патологических последствий пролиферативного заболевания. Предложенные в настоящем описании способы предусматривают любой один или более из этих аспектов лечения. В соответствии с вышеизложенным термин «лечение» не требует стопроцентного устранения всех аспектов расстройства.

[0069] В некоторых вариантах осуществления анти-IL-31 антитело или содержащие его фармацевтические композиции можно использовать в соответствии со способами, раскрытыми в настоящем описании, для лечения IL-31-индуцированных состояний. В некоторых вариантах осуществления анти-IL-31 антитело или фармацевтические

композиции вводят животному-компаньону, такому как представитель псовых или кошачьих, для лечения IL31-индуцированного состояния.

[0070] «Терапевтически эффективное количество» вещества/молекулы, агониста или антагониста может меняться в зависимости от таких факторов, как тип заболевания, подлежащего лечению, болезненное состояние, тяжесть и течение заболевания, тип терапевтической цели, любая предыдущая терапия, история болезни, ответ на предшествующее лечение, усмотрение лечащего ветеринара, возраст, пол и вес животного, а также способность вещества/молекулы, агониста или антагониста вызывать желаемый ответ у животное. Терапевтически эффективное количество также представляет собой такое количество, при котором терапевтически полезные эффекты перевешивают любые токсические или вредные эффекты вещества/молекулы, агониста или антагониста. Терапевтически эффективное количество может быть доставлено за одно или более введений. Терапевтически эффективное количество относится к количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического или профилактического результата.

[0071] В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело или фармацевтическую композицию, содержащую анти-IL31 антитело, вводят парентерально, подкожно, путем внутривенной инфузии или внутримышечной инъекции. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело или фармацевтическую композицию, содержащую анти-IL31 антитело, вводят в виде болюсной инъекции или непрерывной инфузии в течение определенного периода времени. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело или фармацевтическую композицию, содержащую анти-IL31 антитело, вводят внутримышечно, внутривентально, интрацереброспинально, подкожно, внутриартериально, интрасиновиально, подболоочно или путем ингаляции.

[0072] Представленные в настоящем описании анти-IL31 антитела можно вводить в количестве от 0,01 мг/кг массы тела до 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитела можно вводить в количестве от 0,5 мг/кг массы тела до 50 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитела можно вводить в количестве от 0,1 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитела можно вводить в количестве от 0,1 мг/кг массы тела до 100 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитела можно вводить в количестве от 1 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитела можно вводить в количестве от 0,5 мг/кг массы тела до 100 мг/кг массы тела, от 1 мг/кг массы тела до 100 мг/кг массы тела, от 5 мг/кг массы тела до 100 мг/кг массы тела, от 10 мг/кг массы тела до 100 мг/кг массы тела, от 20 мг/кг массы тела до 100 мг/кг массы тела, от 50 мг/кг массы тела до 100 мг/кг массы тела, от 1 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела, от 5 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела, от 0,5 мг/кг массы тела до 10 мг/кг массы тела, от 0,01 мг/кг массы тела до 0,5 мг/кг массы тела, от 0,01 мг/кг массы тела до 0,1 мг/кг массы тела или от 5 мг/кг массы тела до 50 мг/кг массы тела.

[0073] Анти-IL31 антитело или фармацевтическая композиция, содержащая анти-IL31 антитело, может быть введена животному-компаньону за один раз или в ходе нескольких процедур. Например, анти-IL31 антитело или фармацевтическую композицию, содержащую анти-IL31-антитело, можно вводить по меньшей мере один раз, более одного раза, по меньшей мере два раза, по меньшей мере три раза, по меньшей мере четыре раза или по меньшей мере пять раз.

[0074] В некоторых вариантах осуществления дозу вводят один раз в неделю в течение по меньшей мере двух или трех последовательных недель, и в некоторых вариантах осуществления этот цикл лечения повторяют два или более раз, необязательно чередуя с одной или более неделями без лечения. В других вариантах осуществления терапевтически эффективную дозу вводят один раз в сутки в течение двух-пяти дней подряд, и в некоторых вариантах осуществления этот цикл лечения повторяют два или более раз, необязательно чередуя с одним или более днями или неделями без лечения.

[0075] Введение «в комбинации с» одним или более дополнительными терапевтическими агентами включает одновременное (параллельное) и последовательное введение или следующие друг за другом введения в любом порядке. Термин «одновременно» используется в настоящем описании для обозначения введения двух или более терапевтических агентов, когда по меньшей мере введения одного терапевтического агента частично перекрывается во времени с введением другого терапевтического агента или когда введение одного терапевтического агента приходится на короткий промежуток времени введения другого терапевтического агента. Например, два или более терапевтических агента вводят с временным интервалом не более чем примерно определенное количество минут. Термин «последовательно» используется в настоящем описании для обозначения введения двух или более терапевтических агентов, когда введение одного или более агентов продолжается после прекращения введения одного или более других агентов, или когда введение одного или более агентов начинается до введения одного или более других агентов. Например, введение двух или более терапевтических агентов осуществляется с временным интервалом, превышающим определенное количество минут. В контексте настоящего описания термин «в комбинации с» относится к применению одного лечебного воздействия в дополнение к другому лечебному действию. Таким образом, «в комбинации с» относится к применению одного лечебного воздействия до, во время или после оказания другого лечебного воздействия на организм животного.

[0076] В некоторых вариантах осуществления способ включает введение в комбинации с анти-IL31 антителом или фармацевтической композицией, содержащей анти-IL31 антитело, ингибитор Jak, ингибитор PI3K, ингибитор АКТ или ингибитор MAPK. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение анти-IL31 антитела или фармацевтической композиции, содержащей анти-IL31 антитело, в комбинации с анти-IL17 антителом, анти-TNF α антителом, анти-CD20 антителом, анти-CD19 антителом, анти-CD25 антителом, анти-IL4 антителом, анти-IL13 антителом, анти-IL23 антителом,

анти-IgE антителом, анти-CD11 α антителом, анти-IL6R антителом, антителом к α 4-интергину, анти-IL12 антителом, анти-IL1 β антителом или анти-BlyS антителом.

[0077] В настоящем описании представлены способы воздействия на клетку анти-IL31 антителом или фармацевтической композицией, содержащей анти-IL31 антитело, в условиях, допускающих связывание антитела с IL31. В некоторых вариантах осуществления клетка подвергается воздействию антитела или фармацевтической композиции *ex vivo*. В некоторых вариантах осуществления клетка подвергается воздействию антитела или фармацевтической композиции *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления клетка подвергается воздействию анти-IL31 антитела или фармацевтической композиции в условиях, допускающих связывание антитела с внутриклеточным IL31. В некоторых вариантах осуществления клетка подвергается воздействию анти-IL31 антитела или фармацевтической композиции в условиях, допускающих связывание антитела с внеклеточным IL31. В некоторых вариантах осуществления клетка может подвергаться воздействию анти-IL31 антитела или фармацевтической композиции *in vivo* с помощью любого одного или нескольких способов введения, раскрытых в настоящем описании, включая, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутривенную инъекцию субъекту. В некоторых вариантах осуществления клетка может подвергаться воздействию анти-IL31 антитела или фармацевтической композиции *ex vivo* путем воздействия на клетку культуральной среды, содержащей антитело или фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления перед воздействием на клетку в культуральной среде, содержащей антитело или фармацевтическую композицию, на проницаемость клеточной мембраны может быть оказано влияние любым количеством способов, известных специалистам в данной области (таких как электропорация клеток или воздействие на клетки раствора, содержащего хлорид кальция).

[0078] В некоторых вариантах осуществления связывание приводит к снижению сигнальной функции IL31 клеткой. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело может снижать сигнальную функцию IL31 в клетке на по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или 100% по сравнению с сигнальной функцией IL31 в отсутствие антитела, как измерено по уменьшению фосфорилирования STAT-3. В некоторых вариантах осуществления снижение сигнальной функции IL31 или уменьшение фосфорилирования STAT-3 составляет от 10% до 15%, от 10% до 20%, от 10% до 25%, от 10% до 30%, от 10% до 35%, от 10% до 40%, от 10% до 45%, от 10% до 50%, от 10% до 60%, от 10% до 70%, от 10% до 80%, от 10% до 90%, от 10% до 100%, от 15% до 20%, от 15% до 25%, от 15% до 30%, от 15% до 35%, от 15% до 40%, от 15% до 45%, от 15% до 50%, от 15% до 60%, от 15% до 70%, от 15% до 80%, от 15% до 90%, от 15% до 100%, от 20% до 25%, от 20% до 30%, от 20% до 35%, от 20% до 40%, от 20% до 45%, от 20% до 50%, от 20% до 60%, от

20% до 70%, от 20% до 80%, от 20% до 90%, от 20% до 100%, от 25% до 30%, от 25% до 35%, от 25% до 40%, от 25% до 45%, от 25% до 50%, от 25% до 60%, от 25% до 70%, от 25% до 80%, от 25% до 90%, от 25% до 100%, от 30% до 35%, от 30% до 40%, от 30% до 45%, от 30% до 50%, от 30% до 60%, от 30% до 70%, от 30% до 80%, от 30% до 90%, от 30% до 100%, от 35% до 40%, от 35% до 45%, от 35% до 50%, от 35% до 60%, от 35% до 70%, от 35% до 80%, от 35% до 90%, от 35% до 100%, от 40% до 45%, от 40% до 50%, от 40% до 60%, от 40% до 70%, от 40% до 80%, от 40% до 90%, от 40% до 100%, от 45% до 50%, от 45% до 60%, от 45% до 70%, от 45% до 80%, от 45% до 90%, от 45% до 100%, от 50% до 60%, от 50% до 70%, от 50% до 80%, от 50% до 90%, от 50% до 100%, от 60% до 70%, от 60% до 80%, от 60% до 90%, от 60% до 100%, от 70% до 80%, от 70% до 90%, от 70% до 100%, от 80% до 90%, от 80% до 100% или от 90% до 100%.

[0079] В настоящем описании представлены способы применения анти-IL31 антител, полипептидов и полинуклеотидов для детектирования, диагностики и мониторинга IL31-индуцированного состояния. В настоящем описании представлены способы определения того, будет ли животное-компаньон реагировать на терапию анти-IL31 антителом. В некоторых вариантах осуществления способ включает определение с помощью анти-IL31 антитела наличия у животного клеток, экспрессирующих IL31. В некоторых вариантах осуществления способ детектирования включает приведение образца в контакт с антителом, полипептидом или полинуклеотидом и определение, отличается ли уровень связывания от уровня связывания эталонного или образца сравнения (такого как контроль). В некоторых вариантах осуществления способ может быть полезен для определения, являются ли антитела или полипептиды, представленные в настоящем описании, подходящим средством для лечения подлежащего воздействию животного.

[0080] В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой биологический образец. Термин «биологический образец» означает некоторое количество вещества, полученное от живого или ранее живого существа. В некоторых вариантах осуществления биологический образец представляет собой лизат клеток или клеток/тканей. В некоторых вариантах осуществления биологический образец включает, без ограничения, кровь (например, цельную кровь), плазму, сыворотку, мочу, синовиальную жидкость и эпителиальные клетки.

[0081] В некоторых вариантах осуществления клетки или лизат клеток/тканей приводят в контакт с анти-IL31 антителом и определяют связывание между антителом и клеткой. Когда тестируемые клетки проявляют связывающую активность при сравнении с контрольной клеткой того же типа ткани, это может указывать на то, что субъекту будет полезно лечение анти-IL31 антителом. В некоторых вариантах осуществления тестируемые клетки получают из ткани животного-компаньона.

[0082] Для детектирования специфического связывания антитело-антиген можно использовать различные способы, известные в данной области техники. Типичные иммуноанализы, которые можно выполнять, включают флуоресцентный

поляризационный иммуноанализ (FPIA), флуоресцентный иммуноанализ (FIA), иммуноферментный анализ (EIA), нефелометрический иммуноферментный анализ (NIA), твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA) и радиоиммуноанализ (RIA). К рассматриваемым антителам может быть присоединен индикаторный фрагмент или группа, содержащая метку, которую выбирают таким образом, чтобы она удовлетворяла потребности различных применений способа, которые часто диктуются наличием оборудования для анализа и совместимыми процедурами иммуноанализа. Соответствующие метки включают, без ограничения, радионуклиды (например, ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , ^3H или ^{32}P), ферменты (например, щелочную фосфатазу, пероксидазу хрена, люциферазу или β -гликозидазу), флуоресцентные фрагменты или белки (например, флуоресцеин), родамин, фикоэритрин, GFP или BFP) или люминесцентные фрагменты (например, наночастицы QdotTM, поставляемые Quantum Dot Corporation, Palo Alto, CA). Общие методы, используемые при проведении упомянутых выше различных иммунологических анализов известны специалистам в данной области.

[0083] В целях диагностики антитела, включающие полипептид, могут быть меченым детектируемым фрагментом, включая, без ограничения, радиоизотопы, флуоресцентные метки и различные фермент-субстратные метки, известные в данной области. Способы конъюгации меток с антителом известны в данной области. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитела не нужно метить, и их присутствие можно обнаружить с помощью второго меченого антитела, которое связывается с первым анти-IL31 антителом. В некоторых вариантах осуществления анти-IL31 антитело можно использовать в любом известном методе анализа, таком как анализы конкурентного связывания, прямые и непрямые сэндвич-анализы и анализы иммунопреципитации. Zola, *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques*, pp. 147-158 (CRC Press, Inc., 1987). Анти-IL31 антитела и полипептиды также можно использовать для диагностических анализов *in vivo*, таких как визуализация *in vivo*. Как правило, антитело или полипептид метят радионуклидом (таким как ^{111}In , ^{99}Tc , ^{14}C , ^{131}I , ^{125}I , ^3H или любой другой радионуклидной меткой, включая представленные в настоящем описании) для обеспечения возможности локализации представляющей интерес клетки или ткани с помощью иммуносцинтиграфии. Антитело также можно использовать при патологии в качестве окрашивающего реагента, используя методы, хорошо известные в данной области техники.

[0084] В некоторых вариантах осуществления первое антитело используется для диагностики, а второе антитело используется в качестве терапевтического агента. В некоторых вариантах осуществления первое и второе антитела различаются. В некоторых вариантах осуществления первое и второе антитела могут одновременно связываться с антигеном, связываясь с отдельными эпитопами.

[0085] Приведенные ниже примеры иллюстрируют отдельные аспекты изобретения и никоим образом не предназначены для его ограничения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Созревание аффинности *in vitro* для усиленного связывания с IL31

[0086] Идентифицировали последовательности вариабельной тяжелой цепи (VH) и вариабельной легкой цепи (VL) мышинового моноклонального антитела M14, индуцированного против IL-31 (SEQ ID NO:1 и 2). См. WO 2018/156367, которая полностью включена в настоящее описание посредством ссылки для любых целей. Последовательности VH и VL M14 канинизировали (SEQ ID NO:3 и 4) путем поиска и выбора подходящих последовательностей антител собачьей зародышевой линии в качестве матрицы для прививки CDR с последующим моделированием белка.

[0087] Фаговую библиотеку вариантов полипептидов Fab, имеющих мутации внутри и вокруг CDR канинизированных последовательностей VH и VL M14 (SEQ ID NO:3 и 4), получали и подвергали скринингу на более низкую скорость k_{off} с помощью анализа диссоциации собачьего IL31. После трех раундов пэннинга фаговой библиотеки антител к собачьему IL31 идентифицировали фаговые колонии, экспрессирующие варианты полипептидов Fab, потенциально обладающие повышенным связыванием собачьего IL31, и эти полипептиды секвенировали.

[0088] Отдельные колонии *E. coli*, экспрессирующие каждый из идентифицированных вариантов полипептидов Fab с меткой SASA, культивировали и индуцировали для экспрессии полипептидов. Среду для культивирования клеток, содержащую варианты полипептидов Fab, подвергали воздействию иммобилизованного BSA либо на планшете, либо на чипе Biacore. Планшеты или чипы со связанными вариантами полипептидами Fab подвергали воздействию растворимого собачьего IL31 для скрининга на низкую скорость k_{off} .

[0089] Были отобраны три ведущих канинизированных зрелых вариабельных полипептида тяжелой цепи (cmVH1 (SEQ ID NO:5), cmVH2 (SEQ ID NO:6) и cmVH3 (SEQ ID NO:7)) и три канинизированных зрелых полипептида легкой цепи (cmVL1 (SEQ ID NO:8), cmVL2 (SEQ ID NO:9) и cmVL3 (SEQ ID NO:10)). Примеры последовательностей CDR ведущих канинизированных зрелых вариабельных цепей приведены в SEQ ID NO:11, 12, 13, 14, 15, 20, 21, 22, 23 и 24, а последовательности каркасной области приведены в SEQ ID NO:16, 17, 18, 19, 25, 26, 27 и 28.

[0090] Создавали химерные антитела, состоящие из различных комбинаций cmVH1, cmVH2 или cmVH3, слитых с тяжелой цепью человеческого IgG1, и cmVL1, cmVL2 и cmVL3, слитых с человеческой константной легкой цепью каппа. Также создавали канинизированные VH M14 (SEQ ID NO:3), слитые с тяжелой цепью человеческого IgG1, и канинизированные VL M14 (SEQ ID NO:4), слитые с человеческой константной легкой цепью каппа. Сродство собачьего IL31 к различным химерным антителам измеряли с помощью Biacore 8K, как описано в таблице 3 ниже:

[0091] Таблица 3.

Материалы и способы	
Инструмент	Biacore 8K

Сенсорный чип	Сенсорный чип с протеином А серии S
Рабочий буфер	1x HBS-EP+ (10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0,05% P20, pH 7,4)
Лиганд	собачий IL31
Анализаты химерного антитела	1. Канинизированное VH-VL M14 2. cmVH1+cmVL1 3. cmVH2+cmVL2 4. cmVH2+cmVL3 5. cmVH3+cmVL2 6. cmVH3+cmVL3
Уровень иммобилизации (отн. ед.)	~200
Константа ассоциации, время (с)	180
Константа диссоциации, время (с)	600
Скорость потока (мкл/мин)	30
Концентрации образца (нМ)	3,125, 6,25, 12,5, 25, 50, 100

[0092] Сродство и кинетика каждого из протестированных химерных антител к собачьему IL31 суммированы в таблице 4 ниже. Каждое из протестированных антител с созревшей аффинностью (аналиты 2-6) продемонстрировало более высокое сродство (о чем свидетельствует более низкое значение K_d) и более медленную скорость диссоциации (о чем свидетельствует более низкое значение k_{off}) по сравнению с контрольным канинизированным антителом VH-VL M14 (аналит 1).

[0093] Таблица 4.

Аналит	k_{on} (1/Mc)	k_{off} (1/c)	K_d (M)	Rmax	χ^2 (RU ²)
1. Канинизированное VH-VL M14	$2,40 \times 10^5$	$5,23 \times 10^{-4}$	$2,18 \times 10^{-9}$	49,2	$6,99 \times 10^{-2}$
2. cmVH1+cmVL1	$2,28 \times 10^5$	$1,82 \times 10^{-4}$	$8,00 \times 10^{-10}$	32	$2,93 \times 10^{-2}$
3. cmVH2+cmVL2	$1,74 \times 10^5$	$1,59 \times 10^{-4}$	$9,14 \times 10^{-10}$	34,7	$2,36 \times 10^{-2}$
4. cmVH2+cmVL3	$1,86 \times 10^5$	$1,62 \times 10^{-4}$	$8,68 \times 10^{-10}$	33,8	$1,45 \times 10^{-2}$
5. cmVH3+cmVL2	$1,87 \times 10^5$	$1,68 \times 10^{-4}$	$9,00 \times 10^{-10}$	35,9	$3,59 \times 10^{-2}$
6. cmVH3+cmVL3	$2,16 \times 10^5$	$1,85 \times 10^{-4}$	$8,58 \times 10^{-10}$	32,1	$3,05 \times 10^{-2}$

Пример 2: Мутации с усиленным связыванием с кошачьим IL31

[0094] Шесть химерных антител, протестированных на сродство к собачьему IL-31 в таблицах 3 и 4 (выше), также были протестированы на сродство к кошачьему IL31.

Анализ связывания выполняли с помощью биосенсора OctetRed следующим образом. Вкратце, кошачий IL31 биотинилировали. Свободный непрореагировавший биотин удаляли из биотинилированного IL31 путем интенсивного диализа. Биотинилированный кошачий IL31 захватывали покрытыми стрептавидином наконечниками сенсора. Ассоциацию антитела (20 мкг/мл) и кошачьего IL31 отслеживали в течение 300 секунд. Диссоциацию контролировали в течение 300 секунд. Буфер для разведений и всех этапов связывания был следующим: 20 mM фосфат, 150 mM NaCl, pH 7,2. Результаты анализа связывания представлены на фиг. 2. Сродство тестируемых антител ранжировали следующим образом: (cmVH3+cmVL2) или (cmVH3+cmVL3) > (cmVH2+cmVL3) > (cmVH2+cmVL2) > (cmVH1+cmVL1) > (канинизированное VH-VL M14).

Пример 3: Канинизированные зрелые переменные цепи с собачьими константными доменами

[0095] Канинизированные зрелые VH (например, SEQ ID NO:5, 6 и 7) и VL (например, SEQ ID NO:8, 9 и 10) могут быть слиты с константным доменом тяжелой цепи собачьего IgG-A, IgG-B, IgG-C или IgG-D (например, SEQ ID NO:83, 84, 85 и 86) и собачьим константным доменом легкой цепи каппа (например, SEQ ID NO:87), соответственно. Примеры канинизированных, зрелых последовательностей тяжелой и легкой цепей, содержащих собачий константный домен, включают SEQ ID NO:34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47 и 48.

Пример 4: Фелинизация и экспрессия переменных тяжелых и легких цепей с повышенным сродством

[0096] Переменные области тяжелой и легкой цепей с повышенным сродством (например, cmVH1-3 и cmVL1-3) могут быть фелинизированы способами, известными в данной области. Например, cmVH2 (SEQ ID NO:6) фелинизировали до иллюстративной SEQ ID NO:90; cmVH3 (SEQ ID NO:7) фелинизировали до иллюстративных SEQ ID NO:49, 50 и 51; и cmVL3 (SEQ ID NO:10) фелинизировали в любую из SEQ ID NO:52, 53 и 54. Фелинизированные VH и VL могут быть экспрессированы с кошачьим константным доменом тяжелой цепи IgG (например, SEQ ID NO:88) и кошачьим константным доменом легкой цепи каппа (например, SEQ ID NO:89), соответственно. Примеры фелинизированных, зрелых последовательностей тяжелой и легкой цепей, имеющих кошачью константную область, включают SEQ ID NO:73, 74, 75, 91, 76, 77 и 78.

[0097] Последовательности ДНК, кодирующие фелинизированное анти-IL-31 антитело, имеющее тяжелую цепь SEQ ID NO:91 (VH2) и легкую цепь SEQ ID NO:78 (VL3с), экспрессировали в клетках млекопитающих и очищали. С помощью клеточного анализа из примера 5 было показано, что фелинизированное VH2-VL3 анти-IL31-антитело дозозависимым образом блокировало индуцированное кошачьим IL31 фосфорилирование STAT3 в клетках HeLa, трансфицированных как кошачьим IL31R, так и собачьим IL31R.

Пример 5: Разработка клеточного анализа передачи сигнала собачьего IL31

[0098] Приобретали клеточную линию HeLa, линию человеческих эпителиальных клеток (Американская коллекция типовых культур (ATCC), № по каталогу CCL 2),

которую культивировали в минимальной основной среде Игла, разработанной ATCC (ATCC, № по каталогу 30-2033), дополненной 10% эмбриональной телячьей сыворотки (FBS) (ATCC, № по каталогу 30-2020). Клетки HeLa, стабильно трансфицированные экспрессионной плазмидой, несущей собачий/кошачий IL31Ra-FLAG (pcDNA3.1_canine IL31Ra_FLAG (SEQ ID NO:92), или pcDNA3.1_feline IL31Ra-FLAG экспрессионной плазмидой (SEQ ID NO:93), получали с помощью липофектаминового метода (Thermo Fisher, № по каталогу 11668027) и отбирали на наличие устойчивых к G418 трансфектантов (Thermo Fisher, № по каталогу 10131035) с использованием G418 в конечной концентрации 400 мкг/мл. Устойчивые к G418 клоны подвергали скринингу методом вестерн-блоттинга на фосфорилирование STAT1, STAT3 и STAT5 в ответ на индукцию собачьим IL31 или кошачьим IL31. Для последующих исследований использовали клоны HeLa, стабильно трансфицированные IL31Ra, которые реагировали на индукции IL31.

[0099] Фосфорилирование белка STAT, опосредованное собачьим или кошачьим IL31, осуществляли путем посева клеток HeLa/IL31Ra по 10e5 клеток на лунку в 96-луночные планшеты и инкубирования при 37°C, 5% CO₂ в течение ночи (в 10% FBS D-MEM в соответствии с рекомендациями ATCC). Сывороточного голодания клеток достигали заменой среды в каждой лунке средой без добавления FBS на 1 час при 5% CO₂, 37°C. Серийно разведенное анти-IL31 антитело предварительно инкубировали в течение 1 часа с цитокином IL31 перед добавлением к лишенным сыворотки клеткам в каждую лунку 96-луночного планшета на 5 минут при комнатной температуре. Затем в каждую лунку добавляли по 20 мкл стоп-раствора (M-PER от Thermo Fisher, № по каталогу 78501) для лизиса клеток. Клеточные лизаты разделяли с помощью SDS-PAGE (4-12% Bis-Tris Gel, Invitrogen, № по каталогу NP0329). IL31-индуцированное фосфорилирование STAT анализировали вестерн-блоттингом, используя либо анти-фосфо-STAT3 антитело (RnD, № по каталогу AF 4607), либо анти-фосфо-STAT1 антитело (Cell Signaling, № по каталогу 7649), либо анти-фосфо-STAT5 антитело (Cell Signaling, № по каталогу 9359).

[00100] Неожиданно оказалось, что для передачи сигнала IL31 экспрессия собачьего или кошачьего корцептора OSMR не является необходимой.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело, которое связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31, содержащее:

а) тяжелую цепь, содержащую последовательность CDR-H3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:14 или SEQ ID NO:15; и/или

б) легкую цепь, содержащую последовательность CDR-L1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20; и/или

с) легкую цепь, содержащую последовательность CDR-L3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:23 или SEQ ID NO:24.

2. Выделенное антитело, которое связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31, содержащее:

а) тяжелую цепь, содержащую последовательность CDR-H1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:11, последовательность CDR-H2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:12, и последовательность CDR-H3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14 или SEQ ID NO:15; и/или

б) легкую цепь, содержащую последовательность CDR-L1 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:20, последовательность CDR-L2 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:21, и последовательность CDR-L3 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23 или SEQ ID NO:24.

3. Антитело по любому из предшествующих пунктов, где указанное антитело связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31 с константой диссоциации (K_d) менее чем 5×10^{-8} М, менее чем 1×10^{-8} М, менее чем 5×10^{-9} М, менее чем 1×10^{-9} М, менее чем 5×10^{-10} М, менее чем 1×10^{-10} М, менее чем 5×10^{-11} М, менее чем 1×10^{-11} М, менее чем 5×10^{-12} М или менее чем 1×10^{-12} М, измеренной методом биослойной интерферометрии.

4. Антитело по любому из предшествующих пунктов, где указанное антитело снижает сигнальную функцию IL31 у животных-компаньонов, как измерено по уменьшению фосфорилирования STAT-1, STAT-3 и/или STAT-5.

5. Антитело по п.4, где животные-компаньоны относятся к собачьим или кошачьим.

6. Антитело по любому из предшествующих пунктов, где антитело связывается с собачьим IL31 или кошачьим IL31 согласно результатам анализа методом иммуноблоттинга и/или биослойной интерферометрии.

7. Антитело по любому из предшествующих пунктов, где указанное антитело конкурирует с моноклональным антителом M14 за связывание с собачьим IL31.

8. Антитело по любому из предшествующих пунктов, где указанное антитело конкурирует с моноклональным антителом M14 за связывание с кошачьим IL31.

9. Антитело по любому из предшествующих пунктов, где антитело не связывается с человеческим IL31, согласно результатам анализа методом иммуноблоттинга и/или биослойной интерферометрии.

10. Антитело по любому из предшествующих пунктов, где антитело представляет

собой моноклональное антитело.

11. Антитело по любому из предшествующих пунктов, представляющее собой канинизированное, фелинизированное или химерное антитело.

12. Антитело по любому из предыдущих пунктов, дополнительно содержащее одну или более из (a) последовательности каркаса 1 варибельной области тяжелой цепи (HC-FR1) SEQ ID NO:16; (b) последовательности HC-FR2 SEQ ID NO:17; (c) последовательности HC-FR3 SEQ ID NO:18; (d) последовательности HC-FR4 SEQ ID NO:19; (e) последовательности каркаса 1 варибельной области легкой цепи (LC-FR1) SEQ ID NO:25; (f) последовательности LC-FR2 SEQ ID NO:26; (g) последовательности LC-FR3 SEQ ID NO:27; или (h) последовательности LC-FR4 SEQ ID NO:28.

13. Антитело по любому из пп.1-11, дополнительно содержащее одну или более из (a) последовательности каркаса 1 варибельной области тяжелой цепи (HC-FR1) SEQ ID NO:55 или SEQ ID NO:56; (b) последовательности HC-FR2 SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58, SEQ ID NO:59; (c) последовательности HC-FR3 SEQ ID NO:60 или SEQ ID NO:61; (d) последовательности HC-FR4 SEQ ID NO:62 или SEQ ID NO:63; (e) последовательности каркаса 1 варибельной области легкой цепи (LC-FR1) SEQ ID NO:64 или SEQ ID NO:65; (f) последовательности LC-FR2 SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:67 или SEQ ID NO:68; (g) последовательности LC-FR3 SEQ ID NO:69 или SEQ ID NO:70; или (h) последовательности LC-FR4 SEQ ID NO:71 или SEQ ID NO:72.

14. Антитело по любому из предшествующих пунктов, содержащее:

a) (i) последовательность варибельной тяжелой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:7; (ii) последовательность варибельной легкой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 или SEQ ID NO:10; или (iii) последовательность варибельной тяжелой цепи, как указано в (i), и последовательность варибельной легкой цепи, как указано в (ii); или

b) (i) последовательность варибельной тяжелой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51 или SEQ ID NO:90; (ii) последовательность варибельной области легкой цепи, на по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичную аминокислотной последовательности SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54; или (iii) последовательность варибельной области тяжелой цепи, как указано в (i), и последовательность варибельной области легкой цепи, как указано в (ii).

15. Антитело по любому из предыдущих пунктов, содержащее последовательность варибельной тяжелой цепи SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:49,

SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51 или SEQ ID NO:90.

16. Антитело по любому из предшествующих пунктов, содержащее последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54.

17. Антитело по любому из предшествующих пунктов, содержащее:

а) последовательность вариабельной тяжелой цепи SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:7 или SEQ ID NO:8; и последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10 или SEQ ID NO:11; или

б) последовательность вариабельной тяжелой цепи SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51 или SEQ ID NO:90; и последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54.

18. Антитело по любому из предшествующих пунктов, содержащее собачью или кошачью константную область тяжелой цепи и/или собачью или кошачью константную область легкой цепи.

19. Антитело по любому из предшествующих пунктов, содержащее (а) собачью константную область тяжелой цепи, выбранную из константной области IgG-A, IgG-B, IgG-C и IgG-D; или (б) кошачью константную область тяжелой цепи, выбранную из константной области IgG1, IgG2a и IgG2b.

20. Антитело по любому из предшествующих пунктов, содержащее:

а) (i) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:44 или SEQ ID NO:45; (ii) аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47 или SEQ ID NO:48; или (iii) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, как указано в (i), и аминокислотную последовательность легкой цепи, как указано в (ii); или

б) (i) аминокислотную последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75 или SEQ ID NO:91; (ii) аминокислотную последовательность легкой цепи SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77 или SEQ ID NO:78; или (iii) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, как указано в (i), и аминокислотную последовательность легкой цепи, как указано в (ii).

21. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи SEQ ID NO:3 и/или аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:4.

22. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной тяжелой цепи SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6 или SEQ ID NO:7.

23. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 или SEQ ID NO:10.

24. Выделенное антитело по п.21, содержащее аминокислотную последовательность вариабельной легкой цепи SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 или SEQ ID NO:10.

25. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность варибельной тяжелой цепи SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:50, SEQ ID NO:51 или SEQ ID NO:90.

26. Выделенное антитело, содержащее аминокислотную последовательность варибельной легкой цепи SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54.

27. Выделенное антитело по любому из пп.1-24, содержащее аминокислотную последовательность варибельной легкой цепи SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:53 или SEQ ID NO:54.

28. Антитело по любому из предыдущих пунктов, где антитело представляет собой фрагмент антитела, выбранный из Fv, scFv, Fab, Fab', F(ab')₂ и Fab'-SH.

29. Антитело по любому из предшествующих пунктов, где указанное антитело является биспецифическим, причем указанное антитело связывается с IL31 и одним или более антигенами, выбранными из IL17, TNF α , CD20, CD19, CD25, IL4, IL13, IL23, IgE, CD11 α , IL6R, α 4-интергрин, IL12, IL1 β или BlyS.

30. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из пп.1-29.

31. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по п.30.

32. Способ получения антитела, включающий культивирование клетки-хозяина по п.31 и выделение антитела.

33. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело по любому из пп.1-29 и фармацевтически приемлемый носитель.

34. Способ лечения представителя вида животного-компаньона, страдающего IL31-индуцированным состоянием, включающий введение представителю вида животного-компаньона терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1-29 или фармацевтической композиции по п.33.

35. Способ по п.34, в котором вид животного-компаньона относится к псовым или кошачьим.

36. Способ по п.34 или п.35, где IL31-индуцированное состояние представляет собой зудящее или аллергическое состояние.

37. Способ по любому из пп.34-36, где IL31-индуцированное состояние выбирают из атопического дерматита, аллергического дерматита, зуда, астмы, псориаза, склеродермии и экземы.

38. Способ по любому из пп.34-37, где антитело или фармацевтическую композицию вводят парентерально.

39. Способ по любому из пп.34-38, где антитело или фармацевтическую композицию вводят внутримышечно, внутривенно, интрацеребрально, подкожно, внутриартериально, интрасиновиально, интратекально или путем ингаляции.

40. Способ по любому из пп.34-39, включающий введение антитела или фармацевтической композиции в комбинации с ингибитором Jak, ингибитором PI3K, ингибитором АКТ или ингибитором MAPK.

41. Способ по любому из пп.34-40, включающий введение антитела или

фармацевтической композиции в комбинации с одним или более антителами, выбранными из анти-IL17 антитела, анти-TNF α антитела, анти-CD20 антитела, анти-CD19 антитела, анти-CD25 антитела, анти-IL4 антитела, анти-IL13 антитела, анти-IL23 антитела, анти-IgE антитела, анти-CD11 α антитела, анти-IL6R антитела, антитела к α 4-интергрину, анти-IL12 антитела, анти-IL1 β антитела и анти-BlyS антитела.

42. Способ снижения сигнальной функции IL31 в клетке, включающий воздействие на клетку антителом по любому из пп.1-29 или фармацевтической композицией по п.33 в условиях, допускающих связывание антитела с внеклеточным IL31, тем самым снижая связывание с рецептором IL31 и/или снижая сигнальную функцию IL31 в клетке.

43. Способ по п.42, где клетку подвергают воздействию антитела или фармацевтической композиции *ex vivo*.

44. Способ по п.42, где клетку подвергают воздействию антитела или фармацевтической композиции *in vivo*.

45. Способ по любому из пп.42-44, где клетка представляет собой собачью клетку или кошачью клетку.

46. Способ детектирования IL31 в образце, полученном от представителя вида животного-компаньона, включающий приведение образца в контакт с антителом по любому из пп.1-29 или фармацевтической композицией по п.33 в условиях, допускающих связывание антитела с IL31, и детектирование образования в образце комплекса между антителом и IL31.

47. Способ по п.46, где образец представляет собой биологический образец, полученный от представителя псовых или кошачьих.

48. Способ идентификации антагониста IL31, включающий приведение в контакт сконструированной клеточной линии с кандидатом-антагонистом IL31, где сконструированная клеточная линия представляет собой клеточную линию млекопитающего, которая не происходит от псовых или кошачьих, и где сконструированная клеточная линия экспрессирует собачий IL31Ra и/или кошачий IL31Ra.

49. Способ по п.48, где сконструированная клеточная линия представляет собой клеточную линию HeLa.

50. Способ по п.48 или п.49, где сконструированная клеточная линия экспрессирует собачий IL31Ra или кошачий IL31Ra.

51. Способ по любому из пп.48-50, где сконструированная клеточная линия экспрессирует полипептид с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:92 или SEQ ID NO:93.

52. Способ по любому из пп.48-51, где сконструированная клеточная линия не экспрессирует собачий или кошачий рецептор онкостатина M (OSMR).

53. Способ по любому из пп.48-52, где кандидат-антагонист IL31 представляет собой анти-IL31 антитело, растворимый рецептор IL31, анти-IL31Ra антитело или малую молекулу, аптамер или пептид.

54. Способ по любому из пп.48-53, включающий измерение сигнальной функции IL31.

55. Способ по п.54, где сигнальную функцию IL31 измеряют по уровню фосфорилирования STAT-1, STAT-3 и/или STAT-5.

56. Способ по п.55, где кандидат-антагонист IL31 идентифицируют путем детектирования уменьшения фосфорилирования STAT-1, STAT-3 и/или STAT-5.

По доверенности

ФИГ.1

Выбранный этап: исходный уровень (положение сенсора, положение лунки)

