

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042576**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.01

(51) Int. Cl. **C07K 16/24** (2006.01)
A61P 37/08 (2006.01)

(21) Номер заявки
201991552

(22) Дата подачи заявки
2017.12.20

(54) АНТИ-IL-5 АНТИТЕЛА

(31) **62/438,502**

(32) **2016.12.23**

(33) **US**

(43) **2020.01.09**

(86) **PCT/US2017/067475**

(87) **WO 2018/119016 2018.06.28**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
СЕФАЛОН, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Лиддамент Марк Теренс, Дойл
Энтони, Кларк Адам, Лейн Девид
Хосе Саймон, Кукси Бриджит Энн
(AU)**

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(56) **WO-A2-9621000
EP-A2-1749840**

ZHANG J.I. ET AL.: "Mapping and characterization of the epitope(s) of Sch 55700, a humanized mAb, that inhibits human IL-5", INTERNATIONAL IMMUNOLOGY, OXFORD UNIVERSITY PRESS, vol. 11, no. 12, 1 December 1999 (1999-12-01), pages 1935-1943, XP002374645, ISSN: 0953-8178, DOI: 10.1093/INTIMM/11.12.1935, abstract, page 1936, left-hand column, paragraph 1-2

HART T.K. ET AL.: "Preclinical efficacy and safety of mepolizumab (SB-240563), a humanized monoclonal antibody to IL-5, in cynomolgus monkeys", JOURNAL OF ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 108, no. 2, 1 August 2001 (2001-08-01), pages 250-257, XP002577858, ISSN: 0091-6749, DOI: 10.1067/MAI.2001.116576, abstract, page 250, right-hand column, paragraph 1 - page 251, left-hand column, paragraph 2, Discussion

LIDDAMENT M. ET AL.: "P155 Higher binding affinity and in-vitro potency of reslizumab for interleukin-5 compared with mepolizumab", ANNALS OF ALLERGY, ASTHMA & IMMUNOLOGY, vol. 117, no. 5, 1 November 2016 (2016-11-01), XP029814525, ISSN: 1081-1206, DOI: 10.1016/J.ANAI.2016.09.166, abstract

MANALI MUKHERJEE ET AL.: "Anti-IL5 therapy for asthma and beyond", WORLD ALLERGY ORGANIZATION JOURNAL, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 7, no. 1, 4 December 2014 (2014-12-04), page 32, XP021205455, ISSN: 1939-4551, DOI: 10.1186/1939-4551-7-32, the whole document

WO-A2-03085089

(57) В изобретении раскрыты полностью человеческие молекулы антитела, которые иммуноспецифически связываются с IL-5 человека. Молекулы антител могут связываться с IL-5 человека с равновесной константой аффинности (K_D) по меньшей мере около 40 пМ, которая определена поверхностным плазмонным резонансом.

B1**042576****042576****B1**

Перекрестная ссылка на связанные заявки

Заявка на данный патент испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/438502, поданной 23 декабря 2016 г., раскрытие которой включено в настоящее описание ссылкой во всей полноте.

Перечень последовательностей

Изобретение включает перечень последовательностей, который был представлен в электронном виде в формате ASCII и настоящим полностью включен ссылкой. Указанная копия ASCII, созданная 30 ноября 2017 года, называется 102085.000906_sl.txt и имеет размер 93529 байт.

Область техники, к которой относится изобретение

В настоящем документе раскрыты новые молекулы антител, которые иммуноспецифично связывают IL-5, и применения раскрытых антител.

Предшествующий уровень техники

Интерлейкин-5 (IL-5) представляет собой цитокин Т-хелперов 2 (Th2), который вызывает пролиферацию и дифференцировку как В-клеток, так и эозинофилов. В В-клетках IL-5 также увеличивает секрецию иммуноглобулинов. IL-5 является ключевым модулятором эозинофилов, где он также регулирует созревание, миграцию в ткани, выживание и предотвращение апоптоза.

Посредством двух отдельных мотивов IL5 связывается со своим специфическим рецептором (IL5-R α) и сигнальным рецептором, общей β -цепью (β c) для интерлейкина-3 (IL-3) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF). Сообщалось, что аффинность IL-5 к IL5-R α находится в средне-низком диапазоне нМ (0,2-100 нМ); она смещается в диапазон средних пМ (~100 пМ) в присутствии β c. IL5-R специфически связывается с IL-5, который затем рекрутирует β c на IL5-R.

Терапевтический потенциал направленного воздействия на интерлейкин-5 (IL-5) был продемонстрирован в результате обширной проверки в литературных данных и недавними положительными данными III фазы клинического исследования для реслизумаба и меполизумаба.

Сущность изобретения

В настоящем документе раскрыты молекулы антител человека, которые иммуноспецифично связываются с IL-5 человека с равновесной константой аффинности (K_D), равной по меньшей мере около 40 пМ, определенной поверхностным плазмонным резонансом.

Также предлагаются молекулы антитела, включающие CDR1 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR2 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, CDR3 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, SEQ ID NO: 8, CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 или 66, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 42 или 45 и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, 48, 51, 54, 57, 60 или 63.

Раскрытые молекулы антитела могут включать вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16 и вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17, 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40, 43, 46, 49, 52, 55, 58, 61, 64 или 67, где вариабельность (т.е. по меньшей мере 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичности) имеет место за пределами последовательности CDR.

Описанные молекулы антитела могут включать тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99, или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18 или 20 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65 или 68, где вариабельность (т.е. по меньшей мере 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентичности) имеет место за пределами последовательности CDR.

Также представлены молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие раскрытые молекулы антител, векторы, содержащие молекулы нуклеиновой кислоты, и клетки, трансформированные для экспрессии раскрытых молекул антител.

Также раскрыты фармацевтические композиции, содержащие любую из молекул антител, раскрытых в данном документе.

Настоящее изобретение также относится к способам лечения объекта, имеющего эозинофильную астму, синдром гиперэозинофилии, полипы носа с эозинофильной вовлечением, эозинофильный гранулематоз с поливаскулитом, атопический дерматит или эозинофильный эзофагит, включающий введение объекту терапевтически эффективного количества любого из описанных в данном документе молекул антител или содержащих их фармацевтических композиций, для лечения эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным поражением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, атопического дерматита или эозинофильного эзофагита.

Также предлагается применение эффективного количества любого из описанных в данном документе молекул антител, или содержащих их фармацевтических композиций, при лечении эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным вовлечением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, атопического дерматита или эозинофильного эзофагита.

Кроме того, предлагается применение любой из описанных в данном документе молекул антител, или содержащих их фармацевтических композиций, в производстве лекарственного средства, предназначенного для лечения эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным вовлечением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом атопического дерматита или эозинофильного эзофагита.

Краткое описание чертежей

Краткое описание, а также последующее подробное описание далее понимаются при чтении в сочетании с прилагаемыми чертежами. С целью иллюстрации раскрытых молекул антител, способов и применений на чертежах показаны примерные воплощения молекул антител, способов и применений; однако молекулы, способы и применения антител не ограничиваются раскрытыми конкретными воплощениями.

Фиг. 1 иллюстрирует анализ TF-1.6G4, показывающий, что вариант антитела 3A5.001 (в формате IgG4) сохраняет эффективность, эквивалентную исходному антителу 3A5 (в формате IgG1).

Фиг. 2 иллюстрирует анализ TF-1.6G4, показывающий, что вариант антитела 3A5.040 сохраняет эффективность, эквивалентную исходному антителу 3A5.001.

Фиг. 3 представляет собой графическую матрицу, показывающую положение и идентичность различных единичных аминокислотных замен, которые были сгенерированы в 3A5.040 VH CDR, при выравнивании с исходной последовательностью 3A5.040 VH (верхняя последовательность). Рамки содержат остатки, которые были обозначены как остатки CDR согласно номенклатуре AbM. В дополнение к остаткам CDR были сделаны варианты с номерами остатков по Kabat 93 и 94 (рядом с CDR3 HC), как описано в примере "Функциональное тестирование и характеристика антител". Различные последовательности, приведенные на этой фигуре, представлены в SEQ ID NO: 73.

Фиг. 4 представляет собой графическую матрицу, показывающую положение и идентичность различных единичных аминокислотных замен, которые были сгенерированы для CDR 3A5.040 VL, выровненные с исходной последовательностью 3A5.040 VL (верхняя последовательность). Рамки содержат остатки, которые были обозначены как остатки CDR согласно номенклатуре AbM. Различные последовательности, приведенные на этой фигуре, представлены в SEQ ID NO: 74.

Фиг. 5 иллюстрирует примерные консенсусные последовательности CDR легкой цепи, выровненные с последовательностью 3A5.040 VL (верхняя последовательность). Варианты 3A5.040 VL CDR с одной аминокислотной заменой, которые показали потенциальные улучшения в соответствии с критериями включения, описанными в примерах (отношение k_d варианта к k_d 3A5.040 $\geq 1,5$) и (отношение уровня экспрессии варианта к уровню экспрессии 3A5.040 $\geq 0,5$) были включены в консенсусные последовательности. Определения и нумерация CDR соответствуют номенклатуре AbM и Kabat соответственно. Рамками указаны положения CDR. Различные последовательности, приведенные на этой фигуре, представлены в SEQ ID NO: 75.

Фиг. 6 иллюстрирует мультиметрический кинетический анализ Вiasore связывания антитела 3A5.046 с рекомбинантным IL-5 человека при 2,5, 1,25, 0,625, 0,313 и 0,156 мкг/мл. Сенсограммы показывают снижение концентрации IL-5 с порядка 2,5 мкг/мл IL-5 на верхней кривой до 0,156 мкг/мл IL-5 на нижней кривой.

Фиг. 7А и фиг. 7В иллюстрируют пролиферацию клеток TF-1.6G4 в ответ на IL-5 и эффективность ингибирования пролиферации, управляемой IL-5, с помощью 3A5.046. 3A5.046 был более сильным ингибитором IL-5 человека (фиг. 7А) и IL-5 яванского макака (фиг. 7В), чем меполизумаб.

Фиг. 8А и фиг. 8В показан пример ELISA, разработанного с использованием антитела 3A5 и контрольного захватывающего антитела (R & D Systems). ELISA был способен обнаружить рекомбинантный IL-5 (фиг. 8А) и IL-5, полученный из CD3/CD28/IL-33, активированных первичных Т-клеток человека от 3 доноров (фиг. 8В). Фиг. 8В верхняя панель: донор 1, фиг. 8В средняя панель: донор 3; фиг. 8В нижняя панель: донор 4.

Фиг. 9 иллюстрирует результаты эксперимента, в котором CD34+ клетки пуповинной крови дифференцировались в фенотипически зрелые эозинофилы с использованием IL-5 и других цитокинов, как описано в примерах. Антитело 3A5.046 было более сильным, чем меполизумаб, при ингибировании индуцированной IL-5 дифференцировки эозинофилов.

Фиг. 10А, фиг. 10В, фиг. 10С, фиг. 10D и фиг. 10Е иллюстрируют результаты анализа перекрестной реактивности Вiasore антитела 3A5.046, связывающегося с IL-5 человека (фиг. 10А), IL-5 яванского макака (фиг. 10В), IL-5 мыши (фиг. 10С), IL-5 крысы (фиг. 10D) и IL-5 морской свинки (фиг. 10Е). Сенсограммы с двойными ссылками показаны для связывания с цитокинами в концентрации 1 мкг/мл или 10 мкг/мл.

Фиг. 11А, фиг. 11В, фиг. 11С и фиг. 11D иллюстрируют результаты специфичности анализа Вiasore

для антитела 3A5.046. Сенсограммы с двойными ссылками показаны для связывания с цитокинами при 10 мкг/мл (фиг. 11A и фиг. 11B) или 1 мкг/мл (фиг. 11C и фиг. 11D).

Фиг. 12 иллюстрирует результаты провокационной пробы *Ascaris suum* (*A. suum* в модели эозинофилии дыхательных путей у яванского макака. На 2-й день наблюдалось существенное различие в количестве эозинофилов в легких (BALF) при сравнении животных, обработанных 3A5.046, и животных, получавших носитель (плацебо) ($p < 0,01$; тест Манна-Уитни).

Фиг. 13A и фиг. 13B иллюстрируют ответ эозинофилов в крови в течение 10 дней после провокационной пробы *A. suum* у яванского макака, которых предварительно обрабатывали 3A5.046 или контрольным антителом с сопоставимым изотипом ("плацебо") за неделю до провокационной пробы *A. suum* (фиг. 13A). Фиг. 13B иллюстрирует дополнительные детали подсчета эозинофилов в крови у животных, получавших антитело 3A5.046, до 45 дней после провокационной пробы (52 дня после введения дозы). Количество эозинофилов оставалось ниже исходного уровня в течение по меньшей мере 45 дней после провокационной пробы после однократного приема 3A5.046 за неделю до провокационной пробы.

На фиг. 14 показаны уровни эозинофилов BALF в крысиной модели knock-in (KI) с IL-5 человека в ответ на провокационную пробу *Alternaria alternata*. Эта модель может быть использована для проверки эффективности антитела против IL-5 для модуляции количества эозинофилов BALF после провокационной пробы *Alternaria*.

Подробное описание иллюстративных воплощений

Описанные молекулы антител, способы и применения могут быть поняты более легко при ссылке на следующее подробное описание в сочетании с сопровождающими фигурами, которые составляют часть данного описания. Следует понимать, что раскрытые молекулы антител, способы и применения не ограничиваются конкретными молекулами антител, способами и применениями, описанными и/или показанными в данном документе, и что терминология, используемая в данном документе, предназначена для описания конкретных воплощений только в качестве примера и не предназначена для ограничения заявленных молекул антител, способов и применений.

Если специально не указано иное, любое описание относительно возможного механизма или способа действия или причины улучшения предназначено только для иллюстрации, и раскрытые молекулы, способы и применения антител не должны быть ограничены правильностью или неправильностью любого такого предложенного механизма или способа действия или причины для улучшения.

По всему тексту описания относятся к молекулам антител и способам применения указанных молекул антител. В тех случаях, когда раскрытие описывает или заявляет признак или воплощение, связанные с молекулой антитела, такой признак или воплощение в равной степени применимы к способам применения указанной молекулы антитела. Аналогичным образом, когда в описании описывается или заявляется признак или воплощение, связанные со способом применения молекулы антитела, такой признак или воплощение в равной степени применимы к молекуле антитела.

Если диапазон числовых значений приведен или установлен в данном документе, то этот диапазон включает его конечные точки и все отдельные целые числа и дроби в пределах диапазона, а также включает каждый из более узких диапазонов, образованных всеми возможными комбинациями этих конечных точек и внутренних целых чисел и дробей для формирования подгрупп большей группы значений в пределах указанного диапазона в той же степени, как если бы каждый из этих более узких диапазонов был явно указан. Когда диапазон числовых значений указан в данном документе как превышающий заявленное значение, диапазон, тем не менее, конечен и ограничен на своем верхнем конце значением, которое действует в контексте изобретения, как описано в данном документе. Если диапазон числовых значений указан в данном документе как меньший, чем указанное значение, диапазон, тем не менее, ограничен на своем нижнем конце ненулевым значением. Не предполагается, что объем изобретения ограничен конкретными значениями, указанными при определении диапазона. Все диапазоны включаются и комбинируются.

Ссылка на конкретное числовое значение включает, по меньшей мере, это конкретное значение, если контекст явно не предписывает иное.

Когда значения выражены в виде аппроксимаций с использованием предшествующего "около", будет понятно, что конкретное значение образует другой воплощение. Термин "около" при использовании в отношении числовых диапазонов, предельных значений или конкретных значений используется для обозначения того, что приведенные значения могут отличаться на величину до 10% от указанного значения. Таким образом, термин "около" используется для охвата отклонений $\pm 10\%$ или менее, отклонений $\pm 5\%$ или менее, отклонений $\pm 1\%$ или менее, отклонений $\pm 0,5\%$ или менее или отклонений $\pm 0,1\%$ или менее указанного значения.

Следует отметить, что некоторые признаки раскрытых молекул антител, способов и применений, которые, для ясности, описаны в настоящее описание в контексте отдельных воплощений, также могут быть представлены в комбинации в одном воплощении. И наоборот, различные признаки раскрытых молекул антител, способов и применений, которые для краткости описаны в контексте одного воплощения, также могут быть предоставлены отдельно или в любой субкомбинации.

При использовании в данном документе терминов в единственном числе они также включают в себя множественное число.

Различные термины, относящиеся к аспектам описания, используются в описании и формуле изобретения. Такие термины должны иметь свое обычное значение в данной области, если не указано иное. Другие конкретно определенные термины должны толковаться в соответствии с определениями, представленными в настоящем документе.

Термин "включающий" предназначен для включения, но без обязательного ограничения, примеров, охватывающих термины "состоящий по существу из" и "состоящий из"; аналогично, термин "состоящий по существу из" предназначен для включения, но без обязательного ограничения, примеров, охватываемых термином "состоящий из".

Термин "молекула антитела" имеет значение в широком смысле и включает полноразмерные молекулы иммуноглобулинов и антигенсвязывающие фрагменты.

Имуноглобулины могут быть отнесены к пяти основным классам, а именно: IgA, IgD, IgE, IgG, IgM, в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи. IgA и IgG дополнительно подразделяются на изотипы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любого вида позвоночных могут быть отнесены к одному из двух четко различимых типов, а именно каппа (κ) и лямбда (λ), на основе аминокислотных последовательностей их постоянных доменов.

"Антигенсвязывающий фрагмент" относится к части молекулы иммуноглобулина, которая сохраняет антигенсвязывающие свойства родительского полноразмерного антитела (т.е. "его антигенсвязывающий фрагмент"). Типичные антигенсвязывающие фрагменты могут иметь: области, определяющие комплементарность тяжелой цепи (HCDR) 1, 2 и/или 3; области, определяющие комплементарность легкой цепи (LCDR) 1, 2 и/или 3; варибельную область тяжелой цепи (VH); варибельную область легкой цепи (VL); и их комбинации. Антигенсвязывающие фрагменты включают: Fab-фрагмент, одновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, константного домена легкой цепи (CL) и константного домена тяжелой цепи 1 (CH1); фрагмент F(ab)₂, двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1; фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела; и фрагмент доменного антитела (dAb) (Ward et al., Nature 341: 544- 546, 1989), который состоит из домена VH или домена VL. Домены VH и VL могут быть сконструированы и связаны вместе через синтетический линкер для образования различных типов конструкций одноцепочечных антител, где домены VH/VL спариваются внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются отдельным одноцепочечным антителом конструкции для образования моновалентного сайта связывания антигена, такого как одноцепочечный Fv (scFv) или диатело, описанное, например, в публикации международного патента № WO1998/44001, WO1988/01649, WO1994/13804 и WO1992/01047. Эти фрагменты антител получают с использованием методов, хорошо известных специалистам в данной области техники, и фрагменты проверяют на пригодность таким же образом, как и полноразмерные антитела.

Выражение "иммуноспецифически связывается" относится к способности раскрытых молекул антител преимущественно связываться с его мишенью (IL-5, в случае молекул анти-IL-5 антител) без преимущественного связывания других молекул в образце, содержащем смешанную популяцию молекул. Молекулы антител, которые иммуноспецифически связывают IL-5, по существу не содержат других антител, обладающих различной антигенной специфичностью (например, антителу против IL-5 по существу не содержит антител, которые специфически связывают антигены, отличные от IL-5). Однако молекулы антител, которые иммуноспецифически связывают IL-5, могут иметь перекрестную реактивность с другими антигенами, такими как ортологи IL-5 человека, в том числе IL-5 *Macaca flavicularis* (яванского макака). Молекулы антител, раскрытые в данном документе, способны иммуноспецифически связывать как природно-продуцированный IL-5 человека, так и IL-5, который рекомбинантно продуцируется в клетках млекопитающих или прокариот.

Варибельные области антитела состоят из четырех "каркасных" областей, прерываемых тремя "антигенсвязывающими сайтами". Сайты связывания антигена задают с использованием различных определений: (i) Области определения комплементарности (CDR), три в VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) и три в VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), на основании варибельности последовательности (Wu and Kabat J Exp Med 132: 211-50, 1970; Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991); и (ii) "Гиперварибельные области" ("HVR" или "HV"), три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3), которым относят те области варибельных доменов антител, которые являются гиперварибельными по структуре, как определено Chothia и Lesk (Chothia and Lesk Mol Biol 196: 901-17, 1987). Определение CDR AbM также широко используется; это компромисс между схемами нумерации Kabat и Chothia и назван так, потому что он использовался программным обеспечением Oxford Molecular для моделирования антител AbM (Rees, AR, Searle, SMJ, Henry, AHand Pedersen, JT (1996) In Sternberg M.J.E. (ed.), Protein Structure Prediction. Oxford University Press, Oxford, 141-172). Другие определения включают "IMGT-CDR" (Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27: 55-77, 2003) и "использование остатков, определяющих специфичность" (SDRU) (Almagro Mol Recognit 17: 132-43, 2004). Международная база данных ImMunoGeneTics (IMGT) (http://www_imgt_org) обеспе-

чивает стандартизированную нумерацию и определение антигенсвязывающих сайтов. Соответствие между CDR, HV и границами IGH описано в Lefranc et al., *Dev Comparat Immunol*. 27: 55-77, 2003.

"Каркас" или "каркасные последовательности" представляют собой остальные последовательности варибельной области, отличные от тех, которые определены как антигенсвязывающие участки. Поскольку сайты связывания антигена могут быть определены различными терминами, как описано выше, точная аминокислотная последовательность каркаса зависит от того, как был определен сайт связывания антигена. "Человеческое антитело", "полностью человеческое антитело" и подобные термины относятся к антителу, имеющему варибельные области тяжелой и легкой цепи, в которых как каркас, так и сайты связывания антигена получены из последовательностей человеческого происхождения. Если антитело содержит константную область, константная область также происходит от последовательностей человеческого происхождения. Человеческое антитело содержит варибельные области тяжелой и/или легкой цепи, которые "получены" из последовательностей человеческого происхождения, если варибельные области антитела получены из системы, в которой используются гены человеческого иммуноглобулина зародышевой линии или перегруппированные иммуноглобулины. Такие системы включают библиотеки генов иммуноглобулинов человека, презентруемые на фаге, и трансгенных животных, отличных от человека, таких как мышь, несущие локусы иммуноглобулина человека, как описано в данном документе. "Человеческое антитело" может содержать аминокислотные различия по сравнению с последовательностями человеческой зародышевой линии или перестроенных иммуноглобулинов, например, вследствие естественных соматических мутаций или преднамеренного введения замен в варибельный домен (каркас и сайты связывания антигена) или константный домен. Как правило, "человеческое антитело" идентично, по меньшей мере, на около 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% по аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии человека или перестроенным геном иммуноглобулина. В некоторых случаях "человеческое антитело" может содержать консенсусные каркасные последовательности, полученные из анализа каркасных последовательностей человека, например, как описано в Knapik et al., *J Mol Biol* 296: 57-86, 2000, или синтетический HCDR3, включенный в библиотеки генов человеческих иммуноглобулинов, презентруемых на фаге, как описано, например, в Shi et al., *J Mol Biol* 397: 385-96, 2010 и межд. пат. публ. № WO2009/085462. Антитела, в которых сайты связывания антигена происходят из вида, не являющегося человеком, не включены в определение "человеческого антитела".

Человеческие антитела, полученные из последовательностей иммуноглобулина человека, могут быть получены с использованием систем, таких как фаговый дисплей, включающий синтетические CDR, и/или синтетические каркасы, или могут быть подвергнуты мутагенезу *in vitro* для улучшения свойств антител в варибельных областях или константных областях или в обоих, что приводит к антителам, которые в природе не существуют в репертуаре человеческих антител зародышевой линии *in vivo*.

"Рекомбинантное антитело" включает все антитела, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными способами, такими как: антитела, выделенные из животного (например, мыши), которое является трансгенным или трансхромосомным геном иммуноглобулинов человека или гибридомы приготовленные из них (описанные ниже); антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированной для экспрессии антитела; антитела, выделенные из библиотеки рекомбинантных комбинаторных антител; и антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, которые включают сплайсинг последовательностей генов иммуноглобулина человека с другими последовательностями ДНК, или антитела, которые генерируются *in vitro* с использованием обмена Fab-плечей.

"Моноклональное антитело" относится к популяции молекул антител одного молекулярного состава. Композиция моноклонального антитела проявляет одну специфичность связывания и аффинность к конкретному эпитопу или, в случае биспецифического моноклонального антитела, специфичность двойного связывания к двум отдельным эпитопам. Таким образом, моноклональное антитело относится к популяции антител с одним аминокислотным составом в каждой тяжелой и каждой легкой цепях, за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление С-концевого лизина из тяжелой цепи антитела. Моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование в популяции антител. Моноклональное антитело может быть моноспецифичным или полиспецифичным, или моновалентным, бивалентным или поливалентным. Биспецифическое антитело включено в термин моноклональное антитело.

"Эпитоп" относится к части антигена, с которой антитело специфически связывается. Эпитопы обычно состоят из химически активных (таких как полярные, неполярные или гидрофобные) поверхностных группировок групп, таких как боковые цепи аминокислот или полисахаридов, и могут иметь специфические трехмерные структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Эпитоп может состоять из смежных и/или смежных аминокислот, которые образуют конформационную пространственную единицу. Для непрерывного эпитопа аминокислоты из разных частей линейной последовательности антигена находятся в непосредственной близости в 3-мерном пространстве посредством сворачивания молекулы белка.

"Вариант" относится к полипептиду или полинуклеотиду, который отличается от эталонного поли-

пептида или эталонного полинуклеотида одной или несколькими модификациями, например, заменой, вставкой или делецией. Используемый в данном документе термин "мутация" предназначен для обозначения одной или нескольких преднамеренных замен, которые сделаны в полипептиде или полинуклеотиде.

В данном описании "на 90% идентичен" включает по меньшей мере на 90% идентичен, 91% идентичен, 92% идентичен, 93% идентичен, 94% идентичен, на 95% идентичен, 96% идентичен, 97% идентичен, 98% идентичен, 99% идентичен или 100% идентичен эталонному элементу (например, биологической последовательности). В текущем описании термин "% идентичен" используется для описания ряда последовательностей. Следует понимать, что термин "% идентичен" означает, что при сравнении двух последовательностей в указанной области две последовательности имеют указанное количество идентичных остатков в одном и том же положении. Уровень идентичности может быть определен с использованием CLUSTAL W с параметрами по умолчанию.

Термины "лечить", "лечение" и тому подобные термины относятся как к терапевтическому лечению, так и к профилактическим или превентивным мерам, и включают уменьшение тяжести и/или частоты симптомов, устранение симптомов и/или основной причины симптомов, уменьшение частоты или вероятность появления симптомов и/или их первопричины, улучшение или устранение повреждений, вызванных, прямо или косвенно, эозинофильной астмой, гиперэозинофильным синдромом, полипозом носа с эозинофильным поражением, эозинофильным гранулематозом с полиангиитом, атопическим дерматитом или эозинофильным эзофагитом. Лечение также включает продление выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью объекта, не получающего лечение. Объекты, подлежащие лечению, включают тех, у кого есть состояние или расстройство, а также тех, кто склонен иметь это состояние или расстройство, или тех, у кого необходимо предотвратить состояние или расстройство.

При использовании в данном описании термин "введение объекту" и подобные термины указывают на процедуру, с помощью которой раскрытые молекулы антитела или композиции, содержащие их, инъецируют в тело пациента таким образом, что целевые клетки, ткани или сегменты организма объекта связываются с раскрытыми молекулами антител.

Выражение "терапевтически эффективное количество" относится к количеству молекул антител, как описано в данном документе, эффективным для достижения конкретного биологического или терапевтического результата, таких как, без ограничения указанным, биологические или терапевтические результаты, раскрытые, описанные, или приведенные в качестве примеров в данном описании. Терапевтически эффективное количество может варьировать в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса индивидуума и способность композиции вызывать желаемый ответ у объекта. Типичные показатели количества терапевтического эффекта включают, например, улучшение самочувствия пациента, уменьшение симптомов заболевания, остановку или замедление прогрессирования симптомов заболевания и/или отсутствие симптомов заболевания.

Следующие сокращения используются в данном документе: *Alternaria alternata* (*Alternaria*), *Ascaris suum* (*A. suum*); область, определяющая комплементарность (CDR); тяжелая цепь (HC); легкая цепь (LC); переменная область тяжелой цепи (VH); переменная область легкой цепи (VL); поверхностный плазмонный резонанс (SPR).

Молекулы антител.

Раскрытое в данном документе, являются молекулами антител человека, которые иммуноспецифично связываются с IL-5 человека. Молекулы человеческого антитела могут иммуноспецифически связываться с IL-5 человека с равновесной константой аффинности (K_D), по меньшей мере, около 40 пМ, что определено поверхностным плазмонным резонансом (SPR). Используемый в данном документе термин "по меньшей мере около 40 пМ" означает, что раскрытые антитела иммуноспецифически связывают IL-5 человека с K_D , меньшим или равным около 40 пМ. Например, раскрытые антитела могут иммуноспецифично связывать IL-5 человека с K_D , равным около 40, около 30, около 20, около 10 или менее чем 10 пМ.

Описанные молекулы человеческого антитела могут включать CDR1 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR2 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, CDR3 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, консенсусную CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, консенсусную CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2, и консенсусную CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3.

Консенсусная CDR1, легкой цепи включает аминокислотную последовательность GX1X2X3X4X5X6KX7X8Y (SEQ ID NO: 1), в которой:

- X₁ представляет собой G или K;
- X₂ представляет собой N или D;
- X₃ представляет собой N или H;
- X₄ представляет собой I или A;
- X₅ представляет собой G или D;

Таблица 1
Сводная информация о цепи/доменном составе антител

ID Антитела	Белок VH / (SEQ ID)	Белок VL / (SEQ ID)	Белок HC / (SEQ ID)	Белок LC / (SEQ ID)
3A5	3A5 VH (SEQ ID NO: 10)	3A5 VL (SEQ ID NO: 11)	3A5 HC (SEQ ID NO: 12)	3A5 LC (SEQ ID NO: 13)
3A5.001	3A5 VH (SEQ ID NO: 10)	3A5 VL (SEQ ID NO: 11)	3A5.001 HC (SEQ ID NO: 14)	3A5 LC (SEQ ID NO: 13)
3A5.040	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL (SEQ ID NO: 17)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC (SEQ ID NO: 19)
3A5.046	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL (SEQ ID NO: 17)	3A5.046 HC (SEQ ID NO: 20)	3A5.040 LC (SEQ ID NO: 19)
3A5.063	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + G25K (SEQ ID NO: 22)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + G25K (SEQ ID NO: 23)
3A5.070	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + N26D (SEQ ID NO: 25)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + N26D (SEQ ID NO: 26)
3A5.082	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + N27H (SEQ ID NO: 28)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + N27H (SEQ ID NO: 29)
3A5.084	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + I28A (SEQ ID NO: 31)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + I28A (SEQ ID NO: 32)
3A5.097	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + G29D (SEQ ID NO: 67)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + G29D (SEQ ID NO: 68)
3A5.107	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + S30K (SEQ ID NO: 34)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + S30K (SEQ ID NO: 35)

3A5.125	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + N32H (SEQ ID NO: 37)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + N32H (SEQ ID NO: 38)
3A5.127	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + V33A (SEQ ID NO: 40)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + V33A (SEQ ID NO: 41)
3A5.161	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + S52L (SEQ ID NO: 43)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + S52L (SEQ ID NO: 44)
3A5.169	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + D53S (SEQ ID NO: 46)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + D53S (SEQ ID NO: 47)
3A5.232	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + D92L (SEQ ID NO: 49)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + D92L (SEQ ID NO: 50)
3A5.276*	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + H95bS (SEQ ID NO: 52)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + H95bS (SEQ ID NO: 53)
3A5.278*	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + H95bY (SEQ ID NO: 55)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + H95bY (SEQ ID NO: 56)
3A5.279*	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + H95bD (SEQ ID NO: 58)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + H95bD (SEQ ID NO: 59)
3A5.294	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + V97A (SEQ ID NO: 61)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + V97A (SEQ ID NO: 62)
3A5.302	3A5.040 VH (SEQ ID NO: 16)	3A5.040 VL + V97W (SEQ ID NO: 64)	3A5.040 HC (SEQ ID NO: 18)	3A5.040 LC + V97W (SEQ ID NO: 65)

* Строчная буква "b" в каждой из этих последовательностей относится к нумерации Kabat для положения CDR. Нумерация по Kabat допускает CDR переменного размера, используя буквенно-цифровую нумерацию для обозначения вставок аминокислот в определенных положениях. В этих последовательностях CDR присутствовали дополнительные аминокислоты, которые были пронумерованы как положения 95a и 95b (соответствующие положениям Kabat 95A и 95B соответственно). Так, например, для антитела 3A5.276 H95bS указывает на мутацию гистидина ("H") в серии ("S") в положении 95B в соответствии с числом Kabat относительно цепи VL 3A5.040. Поэтому в данном документе используется строчная запись, чтобы отличить число Kabat, отдельно от мутации в указанном положении Kabat.

В некоторых воплощениях, раскрытые молекулы антитела могут включать вариабельную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99, или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16 и

а) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17;

б) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 22;

с) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 25;

д) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 28;

е) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 31;

ф) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ

ID NO: 34;

g) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 37;

h) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 40;

i) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 43;

j) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46;

k) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 49;

l) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 52;

m) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 55;

n) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 58;

o) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 61;

p) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 64; или

q) вариабельную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 67, где вариабельность (т.е. идентичность, по меньшей мере, на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%) имеет место вне последовательности CDR.

Описанные молекулы антитела могут включать одну или несколько мутаций, делеций или вставок, в каркасных и/или константных областях. В некоторых воплощениях молекула антитела IgG4 может содержать мутацию S228P. S228 расположена в шарнирной области молекулы антитела IgG4. Мутация серина ("S") на пролин ("P") служит для стабилизации шарнира IgG4 и предотвращения обмена Fab-плечами *in vitro* и *in vivo*. В некоторых воплощениях молекулы антитела могут включать одну или несколько модификаций, которые увеличивают время полувыведения молекул антител *in vivo*. Например, в некоторых воплощениях антитело может содержать мутацию M252Y, мутацию S254T и мутацию T256E (в совокупности называемые мутацией "YTE"). M252, S254 и T256 расположены в домене CH2 тяжелой цепи. Мутация этих остатков на тирозин ("Y"), треонин ("T") и глутамат ("E"), соответственно, защищает молекулы антител от лизосомальной деградации, тем самым увеличивая период полувыведения в сыворотке молекул антител. На основании примера других антител предполагается, что введение мутации YTE в антитело против IL-5 может обеспечить достаточное продление периода полувыведения в сыворотке, чтобы обеспечить режимы введения с интервалами между дозами 3 месяца или более. В некоторых воплощениях молекулы антитела могут включать делецию С-концевого остатка лизина тяжелой цепи. Удаление С-концевого остатка лизина тяжелой цепи снижает гетерогенность молекул антител при продуцировании клетками млекопитающих. В некоторых воплощениях молекулы антител могут включать комбинацию мутаций, делеций или вставок. Например, в некоторых аспектах раскрытые молекулы антитела могут включать мутацию S228P и делецию С-концевого остатка лизина тяжелой цепи. Раскрытые антитела, содержащие последовательность тяжелой цепи SEQ ID NO: 18, например, содержат мутацию S228P и делецию С-концевого остатка лизина тяжелой цепи. В некоторых аспектах раскрытая молекула антитела может содержать мутацию S228P, мутацию M252Y, мутацию S254T, мутацию T256E и делецию С-концевого остатка лизина тяжелой цепи. Например, антитело 3A5.046, которое содержит тяжелую цепь SEQ ID NO: 20, содержит мутацию S228P, мутацию M252Y, мутацию S254T, мутацию T256E и делецию С-концевого остатка лизина тяжелой цепи.

Молекула антитела может содержать константную область тяжелой цепи IgG1 или IgG4 и константную область легкой цепи лямбда. В некоторых воплощениях молекула антитела включает константную область тяжелой цепи IgG1 и константную область легкой цепи лямбда (например, антитело

3A5). В некоторых воплощениях молекула антитела включает константную область тяжелой цепи IgG4 и константную область легкой цепи лямбда.

Описанные молекулы антитела могут включать тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99, или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65 или 68, где вариабельность (т.е. идентичность по меньшей мере 90%) имеет место за пределами последовательности CDR. Типичные молекулы антител представлены в табл. 1 и табл. 15. В некоторых воплощениях молекулы антитела могут включать тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18 и

- a) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19;
- b) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 23;
- c) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 26;
- d) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 29;
- e) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 32;
- f) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 35;
- g) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 38;
- h) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41;
- i) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 44;
- j) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 47;
- k) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 50;
- l) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 53;
- m) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56;
- n) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 59;
- o) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 62;
- p) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 65; или
- q) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68, где вариабельность (т.е. идентичность, по меньшей мере, на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%) имеет место вне последовательности CDR.

Описанные молекулы антитела могут включать тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99, или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20 и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19 где вариабельность (т.е. идентичность, по меньшей мере, на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%) имеет место вне последовательности CDR.

В некоторых воплощениях молекулы антитела являются полными молекулами антител длиной (с или без удаления С-концевого остатка лизина тяжелой цепи). В других воплощениях молекулы антитела представляют собой антигенсвязывающие фрагменты. Подходящие фрагменты, связывающие антитела, включают, без ограничения указанным, фрагмент Fab, фрагмент Fab2 или одноцепочечное антитело.

Молекулы антител могут иметь одно или несколько из следующих свойств:

- a) связываться с IL-5 человека с равновесной константой аффинности (K_D), равной по меньшей мере около 40 пМ, определенной по поверхностным плазмонным резонансом;
- b) уменьшать связывание IL-5 с рецептором IL-5;

- с) иметь период полувыведения в сыворотке по меньшей мере около 20 дней; или
- д) связывать IL-5 человека и яванского макака, но не IL-5 мыши, крысы или морской свинки.

Также предлагаются фармацевтические композиции, содержащие любую из раскрытых молекул антител.

Также предлагаются молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие любые из раскрытых молекул антител и векторы, содержащие раскрытые молекулы нуклеиновых кислот.

Также предлагаются клетки, трансформированные для экспрессии любой из раскрытых молекул антител.

Способы и применения

Описанные молекулы антител или фармацевтические композиции, содержащие их, могут быть использованы для лечения эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным поражением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, атопического дерматита и эозинофильного эзофагита. Любые характеристики молекулы антитела, раскрытые в данном документе, в равной степени применимы к антителам, используемым в раскрытых способах и применениях.

Раскрытое в данном документе представляет собой способы лечения объекта, имеющего эозинофильную астму, синдром гиперэозинофилии, полипоз носа с эозинофильной вовлечением, эозинофильный гранулематоз с поливаскулитом, атопический дерматит или эозинофильный эзофагит, включающие введение объекту терапевтически эффективного количества любой из молекул антител, описанные или фармацевтические композиции, содержащие его, для лечения эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным поражением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, атопического дерматита или эозинофильного эзофагита.

Также предлагается применение эффективного количества любой из описанных молекул антител, или содержащих их фармацевтических композиций, при лечении эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным вовлечением, эозинофильного гранулематоза с поливаскулитом, атопического дерматита или эозинофильного эзофагита.

Кроме того, предлагается применение любой из описанных молекул антител, или фармацевтических композиций, содержащих их, в производстве лекарственного средства, предназначенного для лечения эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным вовлечением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, атопического дерматита или эозинофильного эзофагита.

Примеры

Следующие примеры приведены для дальнейшего описания некоторых из воплощений, раскрытых в данном документе. Примеры предназначены для иллюстрации, а не для ограничения раскрытых воплощений.

Получение антител против IL-5 человека.

Антитела против IL-5 человека были получены из трансгенных крыс (ОМТ) с клонированными в их геномы человеческими V-генами, которые продуцируют антитела с человеческими V-доменами и крысиными Fc-доменами. Вкратце, трансгенных крыс генетически иммунизировали ДНК, кодирующей IL-5, четыре раза в течение 21 дня (в дни 0, 7, 14, 21) и стимулировали рекомбинантным IL-5 человека на 28 день протокола иммунизации. Титры сывороточных антител определяли в дни 0 и 38 протокола иммунизации с помощью анализа ELISA с использованием рекомбинантного IL-5 человека. Вкратце, сыворотки от каждого животного разводили в PBS 1% BSA и тестировали с использованием планшетов ELISA, покрытых 1 мкг/мл IL-5 человека или BSA в качестве контроля. Конъюгат козьего антитела против крысиных IgG с R-фикоэритрином (SouthernBiotech, № 3030-09) использовали в качестве вторичного антитела в концентрации 10 мкг/мл. Конкретные животные были выбраны для слияния гибридом на основе этих сывороточных титров.

Для получения гибридом, которые продуцируют моноклональные антитела к IL-5 человека, спленоциты и/или клетки лимфатических узлов от иммунизированных животных выделяли и объединяли с клетками P3X63Ag8.653 несекретирующей мышинной миеломы (ATCC, CRL-1580). Клетки высевали при около 1×10^5 клеток/мл в планшеты для микротитрования с плоским дном с последующей двухнедельной инкубацией в селективной среде, которая включала 10% фетальной клональной сыворотки и 1 х НАТ (Sigma). Гибридомы размножали путем последовательных пассажей через четыре смены среды в 96-луночных планшетах (96-луночные стадии 1-4), затем во флаконах T25 и, наконец, T75.

Надосадочные жидкости гибридомных клонов анализировали во время процесса размножения гибридом, первоначально в ELISA на цельных клетках с использованием клеток, трансфицированных GPI-заякоренным IL-5 человека, а затем ELISA с использованием теста ELISA на рекомбинантный IL-5 человека (последний как описано выше). Гибридомы, которые пережили процесс масштабирования до стадии T75 и которые давали сигналы связывания выше заданного порога в обоих из этих анализов, были заморожены в виде клеточных гранул для клонирования и секвенирования Ig v-доменов. После этих стадий скрининга приблизительно 20 гибридом, продуцирующих химерные IgG, отобрали для клонирования.

Человеческие v-домены из кандидатных химерных IgG выделяли путем получения кДНК из клеточных осадков гибридом, ПЦР-амплификации v-областей, субклонирования и секвенирования ДНК. В

результате секвенирования этих гибридом было получено около 35 комбинаций тяжелых и легких цепей. Все антитела клонировали в экспрессирующий вектор для млекопитающих и транзитивно трансфицировали в клетки НЕК-293. Антитела очищали с использованием стандартных протоколов очистки с протеином А.

Функциональное тестирование и характеристика антител.

Отдельные антитела в формате человеческого IgG1 сначала анализировали на специфичность в ELISA с IL-5 человека. Вкратце, антитела разводили в PBS 0,1% BSA и тестировали с использованием планшетов для ELISA, покрытых 1 мкг/мл IL-5 человека или нерелевантного контрольного белка. Антитело против IgG, конъюгированное с пероксидазой хрена, использовали в качестве вторичного антитела.

Антитела, которые показали иммуноспецифическое связывание с IL-5 человека были ранжированы по активности в анализе IL-5-зависимой пролиферации Т-клеток человека с помощью человеческих клеток TF-1.6G4 (производные от линии эритролейкозных клеток человека TF-1). Клеточную линию TF-1.6G4 субклонировали и отбирали для усиления поверхностной экспрессии IL-5R и последовательного пролиферативного ответа на IL-5 человека. Клеточную линию TF-1.6G4 поддерживали в культуре в соответствии со стандартными условиями, используемыми для линии эритролейкозных клеток человека TF-1 (ATCC: CRL-2003). Вкратце, разведения каждого антитела инкубировали в присутствии 45 пМ IL-5 человека и 5×10^4 клеток TF-1.6G4 на лунку в течение 48 ч и определяли пролиферацию клеток с использованием CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay (Promega, Висконсин). Все кривые пролиферации и ингибирования были построены с использованием трех- или четырехпараметрической модели доза-ответ в программном обеспечении GraphPad Prism 6 (версия 6.04). Табл. 2 суммирует эти результаты.

Таблица 2

Сводка данных скрининга и характеристики первоначальной тестовой панели в формате IgG1

Тестируемое антитело	IC50 (пМ) в TF1,6G4	Равновесная аффинность (K _D)	ингибирует связывание с IL-5Rα	Специфичность, подтвержденная с помощью ELISA
3A5	35,07	36 пМ	Да	Да
1A3	55,5	18 пМ	Да	Да
2B4	56,75	42 пМ	Да	Да
6G10	72,34	61 пМ	Да	Да
1E8	72,45	28 пМ	Да	Да
3G4	80,92	41 пМ	Да	Да
6C9	81,89	41 пМ	Да	Да
5H1	86,42	36 пМ	Да	Да
1H10	93,26	18 пМ	Да	Да
5H11	109,3	36 пМ	Нет	Да
5G9	184,4	52 пМ	Да	Да
1B2	214,4	45 пМ	Да	Да

В табл. 2 результаты тестов ранжированы в порядке эффективности анализа на TF1.6G4. Первоначальная тестовая панель была выбрана на основе активности, аффинности, ингибирования IL-5R и последовательностей (иммуногенность и проявляющая способность).

Для определения аффинности тестируемых антител к рекомбинантному IL-5 человека и их активности при ингибировании связывания IL-5Rα с IL-5 человека были использованы анализы Biacore. Табл. 2 суммирует эти результаты. Аффинность связывания тестируемых антител с IL-5 человека (K_D; фиг. 6) определяли с помощью системы Biacore T200 (GE Healthcare), покрывая сенсорный чип Biacore "Series S Sensor Chip Protein A" (GE Healthcare) выбранным очищенным антителом IgG с уровнем захвата 75 RU, затем вводили рекомбинантный IL-5 человека со скоростью 60 мкл/мин в 7-стадийном диапазоне двукратного серийного разведения, начиная с 1 мкг/мл. Все эксперименты проводили с использованием буфера HBS-EP+ (GE Healthcare). Полученные сенсограммы имели двойной контроль (значения тестируемой проточной ячейки вычитали из значений проточной ячейки контроля (поверхность с протеином А без антитела), а также пустого буфера). Константы связывания определяли путем подгонки модели связывания Ленгмюра 1:1 к сенсограммам с двойным контролем.

Для того, чтобы определить, ингибирует ли каждое тестируемое антитело связывание IL-5 с IL-5Rα, использовали либо систему Biacore T200, либо систему Biacore 3000 (GE Healthcare). Чип датчика Biacore CM5 сначала дериватизировали с помощью набора для захвата Fab (GE Healthcare) в соответствии с инструкциями производителя на двух соседних (тестируемая и контрольная) проточных ячейках. Эту поверхность использовали для захвата каждого очищенного тестируемого антитела IgG на одной

тестируемой проточной ячейке. Затем через тестовую и контрольную проточные ячейки вводили рекомбинантный IL-5 человека в концентрации 5 мкг/мл или пустой буфер для насыщения поверхности тестируемой проточной ячейки и контроля неспецифической ассоциации IL-5, соответственно. Вторую инъекцию очищенного тестируемого антитела IgG в концентрации 10 мкг/мл или пустого буфера выполняли на тестируемой проточной ячейке для блокирования свободных сайтов связывания IL-5 и контроля диссоциации тестируемого антитела IgG от антитела, захватывающего Fab, соответственно.

Последующие инъекции IL-5R α -Fc (R & D Systems) в концентрации 5 или 20 мкг/мл или пустого буфера через обе проточные ячейки использовали для определения блокирует ли тестируемое антитело IgG, взаимодействие между IL-5 и IL-5R α или для контроля диссоциации антитела IgG от антитела захвата Fab во время этой стадии. Антитела, которые ингибировали связывание IL-5 с IL-5R, демонстрировали заметно сниженный сигнал при инъекции IL-5R (табл. 2). Способ тройного вычитания контроля использовали для анализа данных, как описано выше. Все данные были экспортированы из оценочного программного обеспечения Biosoft и вычтены в программном обеспечении Excel (Microsoft). Все эксперименты проводили с использованием буфера HBS-EP+ (GE Healthcare).

На основании этих результатов была выбрана меньшая панель тестируемых антител (3A5, 2B4 и 5H11 в табл. 2). Антитела были переформатированы в человеческий IgG4 и протестированы в тех же анализах. IgG4-Версия антитела 3A5 (первоначально IgG1) была обозначена как 3A5.001. Было продемонстрировано, что это полностью человеческое антитело обладает эффективностью, эквивалентной исходному тесту 3A5 в формате IgG1 (фиг. 1).

Вариант антитела 3A5.001 (обозначенный 3A5.040) получали с конкретными аминокислотными заменами (VH: S[68]T, N[82A]S; VL: S[2]Y, I[3]V, Y[92]D, где остатки в квадратных скобках представляют положения Kabat), введенные в области V-домена для удаления спрогнозированных Т-клеточных эпитопов. Было продемонстрировано, что в анализе с TF-1.6G4 антитело 3A5.040 обладает активностью, эквивалентной его родительскому антителу 3A5.001 (фиг. 2).

Сканирование CDR антитела 3A5.040.

Получение вариантов антитела 3A5.040 - варианты антитела 3A5.040 с одной мутацией были сделаны путем замены одной из группы из девяти репрезентативных аминокислот -A, S, L, Y, D, Q, K, H, W- в каждом аминокислотном положении в CDR1 легкой цепи (CDR-L1), CDR2 легкой цепи (CDR-L2), CDR1 тяжелой цепи (CDR-H1) и CDR2 тяжелой цепи (CDR-H2) (определенных по номенклатуре AbM). Варианты антител также были созданы путем замены одной из группы из десяти репрезентативных аминокислот -A, S, L, Y, D, Q, K, H, W, P- в каждом аминокислотном положении CDR в CDR3 легкой цепи (CDR-L3), CDR3 тяжелой цепи (CDR-H3) и в положениях Kabat 93 и 94 в вариабельной области тяжелой цепи. Полный список всех созданных вариантов одного мутантного антитела показан на фиг. 3 (вариабельная тяжелая цепь) и фиг. 4 (вариабельная легкая цепь), соответственно.

Конструирование векторов экспрессии антител - варианты вариабельной области были получены с помощью обратной трансляции аминокислотных последовательностей в ДНК-последовательности, которые впоследствии были синтезированы de novo путем сборки синтетических олигонуклеотидов. Варианты вариабельной тяжелой цепи (VH) субклонировали в экспрессирующий вектор для млекопитающих, содержащий константную область человека, для получения полноразмерных тяжелых цепей антител человека (домены CH1, шарнирные, CH2 и CH3 тяжелой цепи человеческого IgG4). Сходным образом варианты вариабельной легкой цепи (VL) субклонировали в экспрессирующий вектор для млекопитающих, содержащий константную область легкой цепи лямбда человека, для получения полноразмерных лямбда-цепей антител.

Экспрессия вариантов антител - антитела были получены путем совместной трансфекции отдельных экспрессирующих векторов, кодирующих тяжелые цепи и легкие цепи антитела в клетках EXP1293® (Life Technologies, Карлсбад, Калифорния). Каждая цепь с одной мутацией была спарена с родительской цепью для экспрессии белка в системе EXP1293®. Для каждых 20 мл трансфекции требовалось $3,6 \times 10^7$ клеток в 20 мл среды для экспрессии EXP1293®. За день до трансфекции клетки высевали с плотностью $0,9 \times 10^6$ жизнеспособных клеток/мл и инкубировали в течение ночи при 37°C в увлажненной атмосфере с 8% CO₂ в воздухе на орбитальном шейкере, вращающемся со скоростью 200 об/мин. В день трансфекции количество клеток и их жизнеспособность определяли с использованием автоматического счетчика клеток. Использовали только культуры с >98% жизнеспособных клеток. Для каждых 20 мл трансфекции липид-ДНК-комплексы готовили путем разбавления 10 мкг ДНК тяжелой цепи и 10 мкг ДНК легкой цепи в среде со сниженным количеством сыворотки OPTI-MEM® I (Life Technologies, Карлсбад, Калифорния) (кат. № 31985-062) до общего объема 1,0 мл. 54 мкл реагента EXPIFECTAMINE® 293 (Life Technologies, Карлсбад, Калифорния) разводили в среде OPTI-MEM® I до общего объема 1,0 мл. Оба флакона осторожно перемешивали и инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре. После инкубации разбавленную ДНК смешивали с разведенным реагентом EXPIFECTAMINE® 293 и смесью ДНК-реагент EXPIFECTAMINE® 293 и инкубировали еще 20 мин при комнатной температуре для образования комплексов ДНК-реагент EXPIFECTAMINE® 293. После инкубации 2 мл комплекса ДНК-реагент EXPIFECTAMINE® 293 добавляли в каждую биореакторную пробирку емкостью 50 мл (TPP Techno Plastic

Products AG). 2 мл среды OPTI-MEM® I (Life Technologies, Карлсбад, Калифорния) добавляли в пробирку с отрицательным контролем вместо комплекса ДНК-реагент EXPIFECTAMINE® 293. Клетки инкубировали в инкубаторе при 37°C с увлажненной атмосферой с 8% CO₂ в воздухе на орбитальном шейкере, вращающемся со скоростью 200 об/мин. Приблизительно через 16-18 ч после трансфекции в каждый биореактор добавляли 100 мкл усилителя трансфекции "EXPIFECTAMINE® 293 Transfection Enhancer 1" и 1,0 мл усилителя трансфекции "EXPIFECTAMINE® 293 Transfection Enhancer 2". Надосадочные жидкости собирали через около 48 ч после трансфекции.

Очистка вариантов антител - каждый вариант антитела экспрессировали в клетках EXPI293® либо в 20, либо в 100 мл клеточной культуры. Культуры центрифугировали в 50 мл пробирках типа "Falcon" при 3000 g в течение 20 мин и надосадочные жидкости фильтровали с использованием фильтра 0,22 мкм. Надосадочные жидкости очищали с использованием робота Gilson ASPEC GX274. Вкратце, картриджи SPE (Agilent, 12131014), заполненные 1,2 мл смолой с протеином A MABSELECT SURE® (GE Healthcare), предварительно уравнивали 3 объемами колонки 1X PBS. Надосадочную жидкость пропускали через колонки с последующей промывкой 4 мл 1X PBS. Каждую колонку промывали 9 мл 1 M лимонной кислоты, pH 2,9. Антитела элюировали 2 мл 0,1 M лимонной кислоты, pH 2,9. Антитела обезсоливали в Sørensen PBS (5 mM KH₂PO₄, 3 mM Na₂HPO₄·2H₂O, 145,4 mM NaCl (pH ~5,8)) с использованием колонок PD-10 (GE Healthcare).

Определение титра вариантного антитела 3A5.040 в надосадочной жидкости с помощью Biacore - надосадочную жидкость, содержащую антитела из экспрессии в клетках EXPI293® анализировали с использованием чипа Protein A series S на Biacore T200 для того, чтобы определить их титр и ранжировать их по отношению к родительскому антителу 3A5.040. Каждый образец надосадочной жидкости разбавляли рабочим буфером (1×HBS-EP+, 350 mM NaCl) и переносили инъекцией со скоростью 60 мкл/мин в проточную ячейку (FC) 2. Результирующий уровень захвата в единицах ответа (RU) измеряли на FC 2-1 путем вычитания точки отчета через 5 с после начала цикла из точки отчета через 5 с после введения. Поверхность регенерировали путем впрыскивания 50 mM NaOH в течение 12 с при скорости потока 60 мкл/мин на FC 1 и 2 каждые 4 цикла. После каждой регенерации поверхность и сенсограмму стабилизировали в течение 120 с путем введения рабочего буфера. Из-за большого количества антител, которые были подвергнуты скринингу таким образом, было проведено множество прогонов партий.

Уровни захвата (в единицах ответа Biacore "RU"), полученные для каждого образца надосадочной жидкости были скорректированы путем умножения значения, полученного для каждой инъекции 30 сек на коэффициент разбавления надосадочной жидкости, что позволяет сравнить уровни захвата между надосадочными жидкостями разбавленными в разной степени среди разных экспериментальных прогонов. Относительный уровень экспрессии антител (титр) каждого мутанта сравнивали с надосадочной жидкостью, специфичной для партии 3A5.040 (табл. 3) с использованием следующей формулы:

(скорректированный RU эталонного 3A5.040 для 30-секундной инъекции/скорректированный RU вариантного антитела для 30-секундной инъекции) × 100 = пропорциональный титр родительского антитела (% титра 3A5.040)

Формула 1

Вариантные антитела с более высоким титром, чем родительское антитело 3A5.040 имели значение "% титра 3A5.040" > 100%, а антитела с более низким титром, имеют значение < 100%. Это позволило идентифицировать варианты антител, которые могли бы иметь улучшенную экспрессию по сравнению с родительским антителом 3A5.040. Титры некоторых вариантов не определяли анализом Biacore образцов надосадочных жидкостей, но экспрессировали и очищали, как указано выше, и их очищенные выходы определяли спектрофотометрическим анализом (A₂₈₀), а затем сравнивали с родительским антителом 3A5.040 (табл. 5).

Определение IL-5-связывающей кинетики вариантного антитела 3A5.040 с помощью Biacore - надосадочную жидкость, содержащую антитела из экспрессии в клетках EXPI293® или очищенные антитела анализировали с использованием чипа Protein A series S в системе Biacore T200 (GE Healthcare), определяли их аффинность связывания с рекомбинантным IL-5 человека и ранжировали их по отношению к родительскому антителу 3A5.040.

Каждое антитело разводили в рабочем буфере (1×HBS-EP+, 350 mM NaCl), и захватывали при 60 мкл/мин до около 50 RU на FC 2. Затем поверхность и сенсограмму стабилизировали в течение 120 с путем введения рабочего буфера. Рекомбинантный IL-5 человека в концентрации 5 мкг/мл или рабочий буфер вводили в FC 1 и 2 со скоростью потока 60 мкл/мин в течение 70 с. IL-5 давали возможность диссоциировать в рабочем буфере в течение 300 с. Поверхность регенерировали путем впрыскивания 50 mM NaOH в течение 12 с при скорости потока 60 мкл/мин в FC 1 и 2. Буфер вводили для дальнейшего дрейфа при очистке в течение 60 с при скорости потока 60 мкл/мин на FC 1 и 2. Поверхность стабилизировали в течение 300 с с помощью проточного буфера над FC 1 и 2. Надосадочную жидкость, содержащую родительское антитело 3A5.040 и которое было трансфецировано каждой партией, прогоняли примерно каждые 25 циклов в течение каждого прогона. Очищенный образец 3A5.040 и изотипического контрольного IgG4 ламбда прогоняли с каждой партией для измерения вариативности результатов между анализами.

Из-за большого количества антител, которые были подвергнуты скринингу таким образом, было проведено множество прогонов партий.

Данные имели двойной контроль (проточная ячейка 2 вычиталась из проточной ячейки 1 и пустого буфера) и сенсограммы подгонялись к модели связывания Ленгмюра 1:1 с помощью программного обеспечения Biacore Evaluation. Значение kd (скорость диссоциации) рассчитывали для каждого образца надосадочной жидкости 3A5.040 на протяжении всего цикла, и они были усреднены для получения эталонного kd, за исключением прогона 2.1, в котором был только один образец надосадочной жидкости 3A5.040 (табл. 3 и 6-11). Рассчитанное значение kd для каждого антитела надосадочной жидкости сравнивали со средним эталонным kd 3A5.040 по следующей формуле:

$$(\text{эталонное kd 3A5.040} / \text{kd вариантного антитела}) \times 100 = \text{пропорциональное kd родительского антитела (\% 3A5.040 kd)}$$

Формула 2

Вариантные антитела с более низким kd (более медленная скорость диссоциации), чем родительское антитело 3A5.040, имели значение "% 3A5.040 kd" > 100%, а антитела с более высоким kd (более быстрой скоростью диссоциации) имели значение < 100%. Это позволило идентифицировать вариантные антитела, которые могли бы улучшить кинетику связывания с IL-5 и, следовательно, улучшить функцию по сравнению с родительским антителом, 3A5.040. Для вариантов, в которых был получен только очищенный белок (Табл. 6), кинетический анализ Biacore проводили в трех повторях, как указано выше, с использованием этих очищенных антител, а средние значения из каждого анализа в трех повторях использовали для выполнения расчета пропорционального kd, как указано выше (табл. 4 и 8-11).

Таблица 3

Определение титра антитела-варианта 3A5.040 в надосадочной жидкости и кинетики связывания с IL-5 с помощью Biacore

№ прогона	ID Антитела	Номер параллельного анализа	Аминокислотная замена	Уровень захвата	ka (1/Mc)	kd (1/c)	K _D (M)	R _{max} (RU)	% 3A5,040 kd	% титра 3A5,040
1.1	3A5.040	1	Дикий тип	51,6	7,20E+05	1,15E-04	1,60E-10	16,3		
1.1	3A5.040	2	Дикий тип	51,6	7,27E+05	8,96E-05	1,23E-10	16,6		
1.1	3A5.040	3	Дикий тип	51,8	7,18E+05	9,21E-05	1,28E-10	16,7		
1.1	3A5.040	4	Дикий тип	52	6,96E+05	9,95E-05	1,43E-10	16,8		
1.1	3A5.040	Среднее	Дикий тип	51,75	7,15E+05	9,91E-05	1,39E-10	16,6	100	100
1.1	Изотип IgG4			54,4	N/A	N/A	N/A	0,7	N/A	N/A
1.1	3A5.040 (Очищенное)		Дикий тип	56,4	7,17E+05	1,06E-04	1,48E-10	17,8	93,0	
1.1	3A5.304		VH_G26A	54,6	7,41E+05	7,73E-05	1,04E-10	17,1	128	49
1.1	3A5.305		VH_G26S	53,1	7,36E+05	1,09E-04	1,48E-10	16,7	91	59
1.1	3A5.306		VH_G26L	49,1	7,49E+05	8,74E-05	1,17E-10	15,6	113	15
1.1	3A5.308		VH_G26D	52,5	6,75E+05	8,57E-05	1,27E-10	16,4	116	61
1.1	3A5.309		VH_G26Q	55,1	7,47E+05	9,23E-05	1,24E-10	17,4	107	86
1.1	3A5.310		VH_G26K	51,8	7,36E+05	1,01E-04	1,37E-10	16,4	98	100
1.1	3A5.311		VH_G26H	50,9	7,60E+05	1,11E-04	1,46E-10	16,3	89	85
1.1	3A5.312		VH_G26W	56,1	8,54E+05	1,21E-04	1,41E-10	18	82	107
1.1	3A5.313		VH_G27A	54,5	6,97E+05	1,17E-04	1,68E-10	17,3	85	99
1.1	3A5.314		VH_G27S	50,9	7,16E+05	9,81E-05	1,37E-10	16,2	101	95
1.1	3A5.315		VH_G27L	54,3	7,01E+05	1,31E-04	1,87E-10	17,1	76	118
1.1	3A5.316		VH_G27Y	56	6,66E+05	8,56E-04	1,29E-09	16,9	12	80
1.1	3A5.317		VH_G27D	57,4	6,56E+05	1,16E-04	1,76E-10	17,8	85	73
1.1	3A5.318		VH_G27Q	55,2	7,31E+05	1,49E-04	2,04E-10	17,4	67	82
1.1	3A5.319		VH_G27K	54,8	7,70E+05	2,04E-04	2,65E-10	17,5	49	95
1.1	3A5.320		VH_G27H	54,4	7,12E+05	2,43E-04	3,42E-10	16,9	41	71

1.1	3A5.322		VH_S28A	58	7,49E+05	1,05E-04	1,41E-10	18	94	62
1.1	3A5.323		VH_S28L	53,8	7,18E+05	9,30E-05	1,30E-10	17	107	70
1.1	3A5.324		VH_S28Y	54,8	8,13E+05	8,60E-05	1,06E-10	17	115	51
1.1	3A5.325		VH_S28D	54,9	6,03E+05	9,16E-05	1,52E-10	17	108	68
1.1	3A5.326		VH_S28Q	56,9	6,78E+05	9,97E-05	1,47E-10	17,7	99	77
1.1	3A5.327		VH_S28K	53,7	7,22E+05	1,15E-04	1,59E-10	16,9	86	84
1.1	3A5.328		VH_S28H	54	7,82E+05	1,23E-04	1,57E-10	16,9	81	71
1.1	3A5.329		VH_S28W	55	8,33E+05	1,36E-04	1,63E-10	17	73	41
1.1	3A5.330		VH_I29A	56,3	6,54E+05	1,69E-04	2,58E-10	16,8	59	30
1.1	3A5.331		VH_I29S	53,3	5,87E+05	2,04E-04	3,48E-10	15,7	49	28
1.1	3A5.332		VH_I29L	55,3	8,26E+05	1,16E-04	1,41E-10	17,5	85	75
1.1	3A5.333		VH_I29Y	55,4	5,44E+05	9,31E-04	1,71E-09	15,7	11	24
1.1	3A5.334		VH_I29D	52,8	3,53E+06	5,37E-03	1,52E-09	11,9	2	21
1.1	3A5.336		VH_I29K	53,7	6,17E+05	6,75E-04	1,10E-09	14,8	15	29
1.1	3A5.338		VH_I29W	56,6	1,31E+06	2,34E-03	1,78E-09	14,9	4	38
1.1	3A5.340		VH_S30L	48,7	6,51E+05	1,47E-04	2,25E-10	15,6	67	153
1.1	3A5.341		VH_S30Y	54,3	7,54E+05	1,37E-04	1,82E-10	17,3	72	103
1.1	3A5.342		VH_S30D	54,9	6,17E+05	1,23E-04	2,00E-10	17,4	81	103
1.1	3A5.347		VH_N31A	53,8	7,53E+05	6,75E-04	8,97E-10	17,3	15	118
1.1	3A5.348		VH_N31S	54,6	7,82E+05	5,03E-04	6,44E-10	17,7	20	107
1.1	3A5.350		VH_N31Y	56,2	9,01E+05	8,80E-04	9,76E-10	17,6	11	NE
1.1	3A5.351		VH_N31D	59,8	6,40E+05	2,03E-04	3,17E-10	19,2	49	75
1.1	3A5.352		VH_N31Q	54,8	6,93E+05	4,21E-04	6,07E-10	17,7	24	156
1.1	3A5.353		VH_N31K	55,5	6,85E+05	7,54E-04	1,10E-09	17,7	13	170
1.1	3A5.354		VH_N31H	53,7	7,63E+05	1,32E-04	1,73E-10	17,5	75	143
1.1	3A5.356		VH_G32A	52,3	5,25E+05	3,02E-04	5,76E-10	16,4	33	179
1.1	3A5.357		VH_G32S	49,2	6,02E+05	1,23E-03	2,04E-09	15,3	8	153
1.1	3A5.495		VH_S94K	55	6,76E+05	2,91E-04	4,31E-10	17,6	34	127
1.1	3A5.497		VH_S94W	56,8	1,67E+06	2,92E-03	1,75E-09	12,5	3	38
1.1	3A5.498		VH_S94P	55,5	4,45E+05	1,17E-04	2,63E-10	16	85	17
1.1	3A5.500		VH_L95S	2,7					NE	NE
1.1	3A5.504		VH_L95K	51,7	1,53E+06	3,12E-03	2,03E-09	11,3	3	67
1.1	3A5.505		VH_L95H	52,9	5,59E+05	6,66E-04	1,19E-09	16,3	15	88
1.1	3A5.507		VH_L95P	54,7					NB	40
1.1	3A5.509		VH_G96S	54,4	5,94E+05	1,92E-04	3,23E-10	17	52	88
1.1	3A5.510		VH_G96L	54	4,11E+06	7,90E-03	1,92E-09	8,5	1	63
1.1	3A5.513		VH_G96Q	54,8	4,45E+05	5,13E-04	1,15E-09	16,5	19	64
1.1	3A5.514		VH_G96K	54,9	5,14E+06	6,84E-03	1,33E-09	11,4	1	147
1.1	3A5.515		VH_G96H	53,2	4,37E+05	1,20E-03	2,74E-09	15,3	8	117
1.1	3A5.516		VH_G96W	53	1,31E+06	1,40E-02	1,07E-08	6,7	1	55
1.1	3A5.517		VH_G96P	47,8	1,35E+05	5,04E-04	3,73E-09	11,7	20	15
1.1	3A5.518		VH_N97A	52	5,35E+05	1,72E-04	3,21E-10	16,3	58	95
1.1	3A5.520		VH_N97L	54,5	4,73E+05	1,11E-04	2,35E-10	16	89	96
1.1	3A5.521		VH_N97Y	54,7	5,05E+05	3,34E-04	6,62E-10	16,1	30	75
1.1	3A5.523		VH_N97Q	53,7	5,06E+05	9,79E-05	1,94E-10	16,6	101	127
1.1	3A5.524		VH_N97K	52,5	2,89E+05	1,37E-04	4,75E-10	15,1	72	167
1.1	3A5.525		VH_N97H	53,1	4,11E+05	2,14E-04	5,20E-10	15	46	113
1.1	3A5.526		VH_N97W	53,7	5,28E+05	5,26E-04	9,95E-10	15,5	19	56
1.1	3A5.527		VH_N97P	55,1	4,21E+05	4,38E-04	1,04E-09	15,5	23	68
1.1	3A5.528		VH_W98A	57,6	7,26E+05	1,87E-04	2,57E-10	18,4	53	114
1.1	3A5.529		VH_W98S	53,9	6,23E+05	2,36E-04	3,78E-10	16,8	42	83
1.1	3A5.530		VH_W98L	54,3	3,38E+05	1,72E-04	5,08E-10	14,9	58	38

1.1	3A5.531		VH_W98Y	56,3	7,15E+05	1,12E-04	1,56E-10	18,1	88	143
1.1	3A5.532		VH_W98D	56,4	2,17E+05	8,87E-05	4,09E-10	14,6	112	42
1.1	3A5.533		VH_W98Q	53,8	5,01E+05	1,54E-04	3,08E-10	15,8	64	51
1.1	3A5.534		VH_W98K	53,4	3,46E+05	8,25E-04	2,38E-09	11,5	12	73
1.1	3A5.535		VH_W98H	53,8	6,13E+05	1,45E-04	2,37E-10	17	68	81
1.1	3A5.536		VH_W98P	56,1	9,97E+04	8,17E-04	8,20E-09	14,2	12	31
1.1	3A5.537		VH_F99A	54,2	1,54E+05	4,90E-04	3,18E-09	13,7	20	37
1.1	3A5.538		VH_F99S	53,3	1,18E+05	1,02E-03	8,67E-09	9,9	10	40
1.1	3A5.539		VH_F99L	54,2	7,05E+05	1,15E-04	1,63E-10	16,7	86	55
1.1	3A5.540		VH_F99Y	55,6	5,27E+05	9,13E-05	1,73E-10	14,9	109	41
1.1	3A5.541		VH_F99D	53,9	1,46E+05	1,11E-02	7,56E-08	4,4	1	32
1.1	3A5.542		VH_F99Q	53,8	9,93E+04	1,00E-03	1,01E-08	13	10	35
1.1	3A5.543		VH_F99K	54,6					NB	38
1.1	3A5.544		VH_F99H	54,8	2,05E+05	9,50E-05	4,64E-10	14,5	104	41
1.1	3A5.545		VH_F99W	54,5	5,35E+04	4,09E-04	7,66E-09	6	24	29
1.1	3A5.546		VH_F99P	53,1					NB	43
1.1	3A5.547		VH_D101A	55,6	1,68E+05	1,40E-04	8,37E-10	14,7	71	69
1.1	3A5.548		VH_D101S	55,2	2,38E+05	1,11E-04	4,67E-10	15,3	89	78
1.1	3A5.549		VH_D101L	53,6	5,94E+05	4,76E-04	8,01E-10	16,3	21	43
1.1	3A5.551		VH_D101Q	54,5	5,93E+05	2,19E-04	3,69E-10	17,1	45	78
1.2	3A5.040	1	Дикий тип	50,3	7,40E+05	1,33E-04	1,80E-10	16,3		
1.2	3A5.040	2	Дикий тип	50,3	7,14E+05	8,22E-05	1,15E-10	16,1		
1.2	3A5.040	3	Дикий тип	50	7,28E+05	1,01E-04	1,39E-10	16,1		
1.2	3A5.040	4	Дикий тип	50,2	7,32E+05	1,10E-04	1,50E-10	16,2		
1.2	3A5.040	5	Дикий тип	50,1	7,27E+05	9,36E-05	1,29E-10	16,1		
1.2	3A5.040	Среднее	Дикий тип	50,2	7,28E+05	1,04E-04	1,43E-10	16,2	100	100
1.2	Изотип IgG4			50,8	N/A	N/A	N/A	0	N/A	
1.2	3A5.040 (Очищенное)		Дикий тип	52,6	7,35E+05	1,11E-04	1,51E-10	16,6	94	
1.2	3A5.553		VH_D101H	51,9	4,41E+05	1,63E-04	3,69E-10	15,5	64	66
1.2	3A5.555		VH_D101P	51,3	7,54E+03	8,00E-04	1,06E-07	23,6	13	39
1.2	3A5.556		VH_Y102A	50,6	6,60E+05	8,94E-05	1,35E-10	16,4	116	106
1.2	3A5.557		VH_Y102S	53,5	6,85E+05	1,11E-04	1,61E-10	17,2	94	135
1.2	3A5.558		VH_Y102L	53,2	7,40E+05	1,14E-04	1,54E-10	16,8	91	51
1.2	3A5.559		VH_Y102D	52,8	7,03E+05	1,41E-04	2,01E-10	16,7	74	51
1.2	3A5.560		VH_Y102Q	52,6	7,14E+05	1,08E-04	1,51E-10	16,9	96	87
1.2	3A5.561		VH_Y102K	55,9	7,23E+05	8,01E-05	1,11E-10	17,7	130	90
1.2	3A5.562		VH_Y102H	50,4	7,22E+05	1,00E-04	1,39E-10	16,4	104	132
1.2	3A5.563		VH_Y102W	50,9	7,51E+05	1,16E-04	1,54E-10	16,8	90	117
1.2	3A5.564		VH_Y102P	53	6,44E+05	1,29E-04	2,01E-10	15	81	32
2.1	3A5.040	1	Дикий тип	68,5	7,13E+05	1,16E-04	1,63E-10	22,6		
2.1	3A5.040	Среднее	Дикий тип	68,5	7,13E+05	1,16E-04	1,63E-10	22,6	100	100
2.1	Изотип IgG4			60,7	N/A	N/A	N/A	1,6	N/A	
2.1	3A5.040 (Очищенное)		Дикий тип	75,6	7,37E+05	1,05E-04	1,42E-10	24,3	110	
2.1	3A5.048		VL_G24A	69	7,16E+05	9,18E-05	1,28E-10	22,7	126	104
2.1	3A5.049		VL_G24S	72,5	6,98E+05	1,03E-04	1,47E-10	23,7	113	104
2.1	3A5.050		VL_G24L	73,8	6,79E+05	8,13E-05	1,20E-10	23,9	143	103
2.1	3A5.051		VL_G24Y	61,7	6,40E+05	1,12E-04	1,75E-10	20,3	104	91
2.1	3A5.052		VL_G24D	66,7	7,16E+05	9,71E-05	1,36E-10	21,9	119	104

2.1	3A5.053		VL_G24Q	72,6	6,99E+05	9,84E-05	1,41E-10	23,6	118	95
2.1	3A5.054		VL_G24K	74,2	7,12E+05	9,59E-05	1,35E-10	24,1	121	98
2.1	3A5.055		VL_G24H	60,9	6,90E+05	9,17E-05	1,33E-10	20,2	126	99
2.1	3A5.056		VL_G24W	64,4	6,41E+05	8,06E-05	1,26E-10	21,1	144	111
2.1	3A5.057		VL_G25A	69,9	7,04E+05	8,75E-05	1,24E-10	22,9	133	109
2.1	3A5.059		VL_G25L	63,1	7,16E+05	1,04E-04	1,45E-10	21	112	83
2.1	3A5.060		VL_G25Y	67,7	7,05E+05	8,55E-05	1,21E-10	22,2	136	96
2.1	3A5.061		VL_G25D	71,9	7,26E+05	1,11E-04	1,53E-10	23,4	105	94
2.1	3A5.062		VL_G25Q	73,2	6,52E+05	9,24E-05	1,42E-10	23,5	126	94
2.1	3A5.064		VL_G25H	60,4	6,90E+05	9,21E-05	1,33E-10	20,1	126	108
2.1	3A5.065		VL_G25W	70,8	7,37E+05	8,97E-05	1,22E-10	23,1	129	81
2.1	3A5.066		VL_N26A	76,8	7,27E+05	8,75E-05	1,20E-10	24,7	133	77
2.1	3A5.069		VL_N26Y	71,2	6,79E+05	8,73E-05	1,28E-10	22,9	133	100
2.1	3A5.070		VL_N26D	62,7	7,22E+05	7,87E-05	1,09E-10	20,7	147	95
2.1	3A5.071		VL_N26Q	67,4	7,05E+05	1,08E-04	1,53E-10	22	107	95
2.1	3A5.072		VL_N26K	69,7	7,04E+05	1,17E-04	1,66E-10	22,7	99	99
2.1	3A5.073		VL_N26H	74,8	7,15E+05	1,11E-04	1,55E-10	24	105	95
2.1	3A5.074		VL_N26W	62,6	6,41E+05	9,82E-05	1,53E-10	20,3	118	87
2.1	3A5.075		VL_N27A	62,7	6,55E+05	9,29E-05	1,42E-10	20,7	125	120
2.1	3A5.076		VL_N27S	71,7	7,04E+05	1,09E-04	1,55E-10	23,2	106	93
2.1	3A5.077		VL_N27L	71,7	6,73E+05	8,98E-05	1,33E-10	23,4	129	102
2.1	3A5.078		VL_N27Y	61,5	6,16E+05	1,02E-04	1,65E-10	20,3	114	103
2.1	3A5.080		VL_N27Q	68,3	6,52E+05	1,07E-04	1,64E-10	22,1	108	91
2.1	3A5.081		VL_N27K	71,5	6,89E+05	8,84E-05	1,28E-10	23,2	131	96
2.1	3A5.082		VL_N27H	74,7	7,06E+05	7,85E-05	1,11E-10	24,1	148	90
2.1	3A5.084		VL_I28A	62,1	6,71E+05	6,20E-05	9,24E-11	20,3	187	91
2.1	3A5.085		VL_I28S	91,9	6,37E+05	1,16E-04	1,82E-10	31,3	100	47
2.1	3A5.086		VL_I28L	81,5	6,02E+05	1,04E-04	1,73E-10	27,2	112	62
2.1	3A5.087		VL_I28Y	73,1	7,07E+05	8,52E-05	1,20E-10	23,8	136	93
2.1	3A5.088		VL_I28D	80,3	5,56E+05	9,83E-05	1,77E-10	27,9	118	40
2.1	3A5.089		VL_I28Q	79,8	5,80E+05	1,03E-04	1,77E-10	27,8	113	54
2.1	3A5.093		VL_G29A	68,4	5,42E+05	1,10E-04	2,04E-10	22,6	105	59
2.1	3A5.094		VL_G29S	67,6	6,98E+05	9,31E-05	1,33E-10	21,9	119	93
2.2	3A5.040	1	Дикий тип	52,4	7,77E+05	1,05E-04	1,35E-10	17,9		
2.2	3A5.040	2	Дикий тип	52,7	7,89E+05	1,09E-04	1,38E-10	17,9		
2.2	3A5.040	3	Дикий тип	52,7	7,72E+05	1,37E-04	1,77E-10	18,1		
2.2	3A5.040	Среднее	Дикий тип	52,6	7,79E+05	1,17E-04	1,50E-10	17,9	100	100
2.2	Изотип IgG4			56,6	N/A	N/A	N/A	0,5	N/A	
2.2	3A5.040 (Очищенное)		Дикий тип	54,9	7,93E+05	1,06E-04	1,33E-10	18,7	110	
2.2	3A5.095		VL_G29L	55,4	7,17E+05	9,08E-05	1,27E-10	18,7	122	75
2.2	3A5.096		VL_G29Y	56,7	6,92E+05	1,33E-04	1,92E-10	19,2	83	58
2.2	3A5.097		VL_G29D	56,2	7,31E+05	7,19E-05	9,84E-11	18,7	154	85
2.2	3A5.099		VL_G29K	49,9	7,18E+05	9,08E-05	1,26E-10	17,2	122	71
2.2	3A5.100		VL_G29H	52	7,38E+05	8,65E-05	1,17E-10	17,7	128	100
2.2	3A5.101		VL_G29W	55,8	7,59E+05	9,40E-05	1,24E-10	18,7	118	114
2.2	3A5.102		VL_S30A	56,3	6,85E+05	1,09E-04	1,58E-10	18,7	102	84
2.2	3A5.103		VL_S30L	49,5	7,87E+05	9,94E-05	1,26E-10	16,9	112	126
2.2	3A5.104		VL_S30Y	54,7	8,17E+05	1,08E-04	1,33E-10	18,5	103	93
2.2	3A5.105		VL_S30D	56,4	8,20E+05	8,91E-05	1,09E-10	18,8	125	119
2.2	3A5.106		VL_S30Q	58,3	7,22E+05	9,10E-05	1,26E-10	19,7	122	78

2.2	3A5.107		VL_S30K	50,6	7,85E+05	7,34E-05	9,34E-11	17,3	151	102
2.2	3A5.113		VL_K31Y	53,8	8,35E+05	8,73E-05	1,05E-10	18,4	127	99
2.2	3A5.114		VL_K31D	54,5	4,89E+05	4,73E-04	9,65E-10	17,9	23	105
2.2	3A5.115		VL_K31Q	57,9	4,65E+05	4,60E-04	9,91E-10	19	24	85
2.2	3A5.116		VL_K31H	49,5	5,52E+05	2,46E-04	4,46E-10	16,7	45	104
2.2	3A5.117		VL_K31W	52,7	5,34E+05	1,33E-04	2,49E-10	17,7	83	125
2.2	3A5.118		VL_N32A	55,8	5,07E+05	6,39E-04	1,26E-09	18,3	17	67
2.2	3A5.121		VL_N32Y	56,1	9,57E+05	9,68E-05	1,01E-10	19,1	115	91
2.2	3A5.122		VL_N32D	49,8	5,68E+05	1,25E-04	2,20E-10	15,8	89	115
2.2	3A5.123		VL_N32Q	53,9	8,85E+05	1,25E-04	1,41E-10	18,6	89	102
2.2	3A5.125		VL_N32H	56,4	9,01E+05	7,73E-05	8,58E-11	19,2	144	90
2.2	3A5.126		VL_N32W	56,6	6,35E+05	9,26E-05	1,46E-10	18,8	120	79
2.2	3A5.127		VL_V33A	49,1	7,15E+05	8,05E-05	1,13E-10	16,6	138	74
2.2	3A5.128		VL_V33S	51,5	2,85E+05	9,65E-05	3,38E-10	13,7	115	126
2.2	3A5.130		VL_V33Y	56,1	7,41E+05	9,16E-05	1,24E-10	19	121	68
2.2	3A5.131		VL_V33D	52,4	7,40E+05	9,67E-05	1,31E-10	19,3	115	40
2.2	3A5.132		VL_V33Q	48,7	6,61E+05	1,38E-04	2,09E-10	16,7	80	50
2.2	3A5.135		VL_V33W	48,4	5,26E+05	1,04E-04	1,99E-10	18,8	107	24
2.2	3A5.137		VL_Y34S	48,3	6,96E+05	9,88E-05	1,42E-10	19	112	32
2.2	3A5.138		VL_Y34L	49,4	5,94E+05	2,16E-04	3,64E-10	16,6	51	56
2.2	3A5.139		VL_Y34D	52,8	4,63E+05	4,90E-04	1,06E-09	13,1	23	68
2.2	3A5.140		VL_Y34Q	54,4	7,01E+05	5,40E-04	7,71E-10	18,2	21	55
2.2	3A5.141		VL_Y34K	56	8,16E+05	3,72E-04	4,56E-10	18,8	30	64
2.2	3A5.142		VL_Y34H	48,8	6,71E+05	5,00E-04	7,46E-10	16,3	22	82
2.2	3A5.143		VL_Y34W	53,5	6,98E+05	2,19E-03	3,13E-09	9,7	5	58
2.2	3A5.165		VL_S52K	52,6	5,32E+05	9,30E-04	1,75E-09	16,6	12	167
2.2	3A5.168		VL_D53A	57,2	1,20E+06	2,04E-03	1,71E-09	17,1	5	51
2.2	3A5.172		VL_D53Q	50,3	7,13E+05	1,08E-04	1,51E-10	17,1	103	97
2.2	3A5.174		VL_D53H	53	7,45E+05	1,23E-04	1,65E-10	17,7	90	120
2.2	3A5.186		VL_P55S	55,8	7,97E+05	1,08E-04	1,35E-10	18,6	103	108
2.2	3A5.199		VL_S56K	57,3	7,71E+05	1,18E-04	1,54E-10	18,8	94	104
2.2	3A5.201		VL_S56W	49,6	7,41E+05	1,24E-04	1,67E-10	17,1	90	92
2.2	3A5.210		VL_Q89P	53,5	3,80E+05	4,78E-04	1,26E-09	18	25	72
2.2	3A5.211		VL_V90A	55,7	7,65E+05	1,06E-04	1,39E-10	18,8	105	78
3.1	3A5.040	1	Дикий тип	53,3	7,72E+05	1,32E-04	1,71E-10	18,2		
3.1	3A5.040	2	Дикий тип	53,4	7,76E+05	1,15E-04	1,48E-10	18,1		
3.1	3A5.040	3	Дикий тип	53,3	7,73E+05	1,03E-04	1,34E-10	18,1		
3.1	3A5.040	4	Дикий тип	54	7,69E+05	1,14E-04	1,49E-10	18,5		
3.1	3A5.040	5	Дикий тип	53,8	7,84E+05	1,20E-04	1,53E-10	18,4		
3.1	3A5.040	Среднее	Дикий тип	53,6	7,75E+05	1,17E-04	1,51E-10	18,2	100	100
3.1	Изотип IgG4			56	N/A	N/A	N/A	0,7	N/A	
3.1	3A5.040 (Очищенное)		Дикий тип	52,5	8,07E+05	1,40E-04	1,74E-10	17,9	83	
3.1	3A5.213		VL_V90L	53,7	7,49E+05	1,55E-04	2,06E-10	18,2	75	58
3.1	3A5.214		VL_V90Y	54	6,50E+05	2,92E-04	4,49E-10	18	40	85
3.1	3A5.215		VL_V90D	52,9	5,54E+05	4,19E-04	7,56E-10	19,9	28	27
3.1	3A5.216		VL_V90Q	48,6	5,93E+05	1,88E-04	3,18E-10	16,3	62	74
3.1	3A5.217		VL_V90K	44,3	6,34E+05	8,30E-05	1,31E-10	17	141	48
3.1	3A5.218		VL_V90H	47,5	5,90E+05	2,99E-04	5,07E-10	17,6	39	60
3.1	3A5.219		VL_V90W	53,4	5,69E+05	6,64E-04	1,17E-09	17,9	18	77
3.1	3A5.220		VL_V90P	47,7	2,72E+05	7,61E-03	2,79E-08	1,7	2	76

3.1	3A5.221		VL_W91A	51,8	3,05E+05	7,08E-03	2,32E-08	2,4	2	79
3.1	3A5.223		VL_W91L	53,6	2,59E+06	2,55E-02	9,83E-09	7,7	0	98
3.1	3A5.224		VL_W91Y	45,1	8,82E+05	9,03E-04	1,02E-09	15,8	13	64
3.1	3A5.226		VL_W91Q	51,1	5,38E+06	3,79E-02	7,05E-09	6,8	0	75
3.1	3A5.227		VL_W91K	51,8					NB	71
3.1	3A5.228		VL_W91H	50,9	1,53E+06	7,24E-03	4,74E-09	9	2	62
3.1	3A5.229		VL_W91P	39,4	4,02E+05	7,40E-03	1,84E-08	1,4	2	36
3.1	3A5.230		VL_D92A	51,2	5,63E+05	9,94E-05	1,77E-10	16,5	118	113
3.1	3A5.231		VL_D92S	53,2	7,67E+05	9,46E-05	1,23E-10	17,5	124	113
3.1	3A5.232		VL_D92L	54,3	9,17E+05	7,59E-05	8,27E-11	18	154	130
3.1	3A5.233		VL_D92Y	47,7	1,11E+06	1,10E-04	9,92E-11	16,4	106	72
3.1	3A5.234		VL_D92Q	50,9	5,25E+05	1,39E-04	2,64E-10	15,7	84	194
3.1	3A5.235		VL_D92K	54,7	7,63E+05	8,84E-05	1,16E-10	18	132	92
3.1	3A5.236		VL_D92H	54,3	7,93E+05	1,09E-04	1,37E-10	17,6	107	122
3.1	3A5.237		VL_D92W	0,5					NE	NE
3.1	3A5.238		VL_D92P	46,8	5,21E+05	1,43E-04	2,75E-10	16,1	82	63
3.1	3A5.239		VL_S93A	52,2	3,12E+06	3,65E-03	1,17E-09	15,9	3	112
3.1	3A5.240		VL_S93L	54,8	2,39E+07	2,45E-01	1,03E-08	6,5	0	124
3.1	3A5.241		VL_S93Y	50,1	6,20E+05	7,48E-03	1,21E-08	2	2	118
3.1	3A5.242		VL_S93D	51,6	5,18E+05	1,68E-02	3,25E-08	2,9	1	73
3.1	3A5.243		VL_S93Q	54,4	1,90E+06	1,51E-02	7,95E-09	8,2	1	111
3.1	3A5.244		VL_S93K	55,5					NB	162
3.1	3A5.245		VL_S93H	49,7	2,92E+06	2,23E-02	7,64E-09	7,3	1	133
3.1	3A5.246		VL_S93W	52,8	3,27E+05	4,33E-03	1,33E-08	0,8	3	115
3.1	3A5.247		VL_S93P	53,8	6,94E+05	5,33E-02	7,68E-08	1,7	0	112
3.1	3A5.248		VL_S94A	56,1	8,15E+05	1,22E-04	1,50E-10	19,1	96	101
3.1	3A5.249	-----	VL_S94L	49,7	7,81E+05	5,00E-04	6,41E-10	17,1	23	90
3.1	3A5.253		VL_S94K	53	6,74E+05	1,48E-04	2,20E-10	17,9	79	109
3.1	3A5.254		VL_S94H	53,7	6,24E+05	1,51E-04	2,42E-10	18,1	77	104
3.1	3A5.256		VL_S94P	49,7	6,97E+05	1,27E-04	1,82E-10	16,7	92	139
3.1	3A5.257		VL_S95A	52,1	7,34E+05	1,19E-04	1,62E-10	17,7	98	99
3.1	3A5.258		VL_S95L	54	7,73E+05	1,13E-04	1,47E-10	18,3	104	99
3.1	3A5.259		VL_S95Y	55,7	8,35E+05	1,07E-04	1,28E-10	18,7	109	83
3.1	3A5.260		VL_S95D	49,2	6,07E+05	1,25E-04	2,07E-10	16,5	94	109
3.1	3A5.261		VL_S95Q	48,6	7,87E+05	9,19E-05	1,17E-10	17,8	127	62
3.1	3A5.262		VL_S95K	53,1	7,99E+05	1,01E-04	1,26E-10	18,2	116	118
3.1	3A5.263		VL_S95H	55,4	7,83E+05	1,00E-04	1,28E-10	18,7	117	101
3.1	3A5.264		VL_S95W	49	7,95E+05	1,27E-04	1,60E-10	16,5	92	87
3.1	3A5.265		VL_S95P	52,7	6,45E+05	5,55E-03	8,61E-09	7,1	2	147
3.1	3A5.266		VL_D95aA	53,7	5,78E+06	8,07E-03	1,40E-09	10,4	1	109
3.1	3A5.267		VL_D95aS	55,3	4,53E+05	1,21E-03	2,68E-09	16,7	10	101
3.1	3A5.268		VL_D95aL	48,5	9,19E+06	1,35E-02	1,47E-09	8,7	1	71
3.1	3A5.269		VL_D95aY	51,8	1,77E+06	6,74E-03	3,80E-09	8	2	95
3.1	3A5.270		VL_D95aQ	53,6	5,26E+06	7,11E-03	1,35E-09	11,4	2	110
3.1	3A5.271		VL_D95aK	53,8	3,92E+05	3,83E-02	9,77E-08	2	0	70
3.1	3A5.272		VL_D95aH	49,7	2,56E+06	4,90E-03	1,92E-09	10,1	2	188
3.1	3A5.273		VL_D95aW	53,1	1,27E+06	1,47E-02	1,15E-08	7,1	1	94
3.1	3A5.274		VL_D95aP	54,6	1,17E+06	3,05E-03	2,61E-09	9,8	4	150
3.1	3A5.276		VL_H95bS	52,1	8,47E+05	7,33E-05	8,66E-11	19,6	160	61
3.1	3A5.281		VL_H95bK	45,5	7,08E+05	9,58E-05	1,35E-10	16,3	122	64
3.1	3A5.307		VH_G26Y	48,1	8,73E+05	1,02E-04	1,17E-10	18,3	115	60
3.1	3A5.321		VH_G27W	55	7,64E+05	5,59E-04	7,31E-10	18,4	21	97

3.1	3A5.335		VH_I29Q	37,9	5,64E+05	3,90E-04	6,92E-10	14,9	30	37
3.1	3A5.343		VH_S30Q	51,9	7,55E+05	1,06E-04	1,40E-10	17,7	110	121
3.1	3A5.344		VH_S30K	53,9	7,41E+05	1,39E-04	1,88E-10	18	84	156
3.1	3A5.345		VH_S30H	54,8	7,34E+05	1,46E-04	1,99E-10	18,7	80	77
3.1	3A5.349		VH_N31L	47,1	7,69E+05	7,13E-04	9,27E-10	16,3	16	69
3.1	3A5.355		VH_N31W	45,3	8,52E+05	4,80E-04	5,63E-10	17,3	24	59
3.1	3A5.359		VH_G32Y	53,7	3,28E+06	4,30E-03	1,31E-09	15,5	3	90
3.1	3A5.360		VH_G32D	54,2	1,05E+06	6,78E-03	6,44E-09	8,1	2	105
3.1	3A5.361		VH_G32Q	49,5	3,98E+06	6,22E-03	1,56E-09	11,8	2	133
3.1	3A5.362		VH_G32K	52,6	6,07E+05	2,20E-03	3,62E-09	7,6	5	171
3.1	3A5.363		VH_G32H	55,4	1,81E+06	3,01E-03	1,66E-09	15,3	4	114
3.1	3A5.364		VH_G32W	52,3	1,46E+07	1,27E-02	8,65E-10	13,5	1	66
3.1	3A5.365		VH_G33A	48,7	6,97E+05	9,24E-05	1,33E-10	16,6	127	116
3.1	3A5.366		VH_G33S	53	8,56E+05	2,68E-03	3,14E-09	8,3	4	117
3.1	3A5.367		VH_G33L	54,2	8,03E+05	3,05E-04	3,79E-10	17,9	38	82
3.1	3A5.368		VH_G33Y	55,4	3,97E+06	4,08E-03	1,03E-09	13,4	3	107
3.2	3A5.040	1	Дикий тип	54,7	6,75E+05	9,46E-05	1,40E-10	19		
3.2	3A5.040	2	Дикий тип	55,2	6,82E+05	7,26E-05	1,07E-10	19		
3.2	3A5.040	3	Дикий тип	55,7	7,17E+05	9,30E-05	1,30E-10	19,3		
3.2	3A5.040	4	Дикий тип	55,3	7,08E+05	8,82E-05	1,25E-10	19,1		
3.2	3A5.040	5	Дикий тип	55,2	6,95E+05	1,05E-04	1,51E-10	19,2		
3.2	3A5.040	Среднее	Дикий тип	55,2	6,95E+05	9,07E-05	1,31E-10	19,1	100	100
3.2	Изотип IgG4			55,8	N/A	N/A	N/A	0	N/A	
3.2	3A5.040 (Очищенное)		Дикий тип	54,5	7,12E+05	8,25E-05	1,16E-10	1,85E+01	110	
3.2	3A5.369		VH_G33D	52,4	9,85E+05	2,46E-03	2,50E-09	9,4	4	277
3.2	3A5.370		VH_G33Q	54,5	5,33E+05	1,07E-03	2,00E-09	17,2	8	279
3.2	3A5.371		VH_G33K	58,5	2,08E+06	2,02E-03	9,72E-10	14,1	4	350
3.2	3A5.372		VH_G33H	51,5	1,45E+06	2,67E-03	1,83E-09	14,4	3	273
3.2	3A5.373		VH_G33W	52,4	6,71E+05	1,32E-03	1,96E-09	15,9	7	172
3.2	3A5.374		VH_Y34A	56,4	5,91E+05	1,27E-04	2,16E-10	19,2	71	162
3.2	3A5.375		VH_Y34S	56,4	6,23E+05	1,24E-04	2,00E-10	19,1	73	159
3.2	3A5.376		VH_Y34L	50	5,79E+05	1,60E-04	2,77E-10	17,2	57	160
3.2	3A5.377		VH_Y34D	54,7	5,40E+05	6,04E-04	1,12E-09	18,1	15	103
3.2	3A5.378		VH_Y34Q	54,4	5,98E+05	1,51E-04	2,53E-10	18,5	60	165
3.2	3A5.379		VH_Y34K	56,6	6,17E+05	4,91E-04	7,96E-10	19,1	18	407
3.2	3A5.380		VH_Y34H	49,8	6,40E+05	7,06E-04	1,10E-09	16,7	13	223
3.2	3A5.382		VH_Y35A	52,8	2,48E+05	2,46E-03	9,91E-09	0,9	4	289
3.2	3A5.383		VH_Y35S	55,8	3,34E+05	8,50E-03	2,54E-08	1,9	1	129
3.2	3A5.384		VH_Y35L	57	5,98E+05	1,42E-03	2,37E-09	17,5	6	190
3.2	3A5.385		VH_Y35D	48,5	2,75E+06	6,13E-03	2,23E-09	8,1	1	87
3.2	3A5.386		VH_Y35Q	51,8	1,18E+07	2,72E-01	2,31E-08	5,4	0	127
3.2	3A5.387		VH_Y35K	56,2					NB	382
3.2	3A5.388		VH_Y35H	58	3,40E+05	9,25E-03	2,72E-08	3,3	1	195
3.2	3A5.389		VH_Y35W	50	3,65E+06	5,41E-03	1,48E-09	8,8	2	225
3.2	3A5.390		VH_W35aA	47	6,84E+05	1,74E-03	2,55E-09	15,4	5	37
3.2	3A5.392		VH_W35aL	55	4,59E+05	1,14E-03	2,49E-09	17,1	8	100
3.2	3A5.393		VH_W35aY	49,1	6,34E+05	1,87E-04	2,94E-10	16,7	49	104
3.2	3A5.394		VH_W35aD	0,7					NE	NE
3.2	3A5.395		VH_W35aQ	50,4	5,46E+05	8,47E-04	1,55E-09	18,8	11	34
3.2	3A5.397		VH_W35aH	39,6	5,07E+05	2,44E-04	4,82E-10	15,8	37	53

3.2	3A5.399		VH_S35bL	46	1,08E+05	2,86E-04	2,64E-09	14,1	32	39
3.2	3A5.400		VH_S35bY	51,7	4,43E+05	7,06E-03	1,59E-08	1,8	1	88
3.2	3A5.402		VH_S35bQ	38,8	1,84E+05	5,15E-04	2,80E-09	13,6	18	45
3.2	3A5.404		VH_S35bH	48,8	6,18E+05	1,88E-03	3,05E-09	13,3	5	75
3.2	3A5.405		VH_S35bW	49,6	2,93E+05	7,19E-03	2,45E-08	0,7	1	50
3.2	3A5.406		VH_Y50A	50,6	4,79E+05	5,88E-04	1,23E-09	16,1	15	268
3.2	3A5.407		VH_Y50S	56,1	4,95E+05	3,64E-04	7,34E-10	17,5	25	327
3.2	3A5.408		VH_Y50L	57	4,31E+05	3,22E-04	7,46E-10	17,3	28	122
3.2	3A5.409		VH_Y50D	56,9	7,63E+05	1,45E-03	1,90E-09	16	6	169
3.2	3A5.410		VH_Y50Q	50,9	5,95E+05	3,69E-04	6,20E-10	17,1	25	241
3.2	3A5.411		VH_Y50K	53,5	5,51E+05	4,47E-04	8,11E-10	17,5	20	135
3.2	3A5.412		VH_Y50H	55,5	6,72E+05	7,88E-04	1,17E-09	18,2	12	300
3.2	3A5.413		VH_Y50W	57,2	6,67E+05	1,61E-03	2,41E-09	16,9	6	131
3.2	3A5.414		VH_I51A	51,9	7,29E+05	1,13E-04	1,56E-10	17,7	80	244
3.2	3A5.415		VH_I51S	54,2	7,38E+05	1,15E-04	1,56E-10	18,6	79	130
3.2	3A5.416		VH_I51L	54,6	6,62E+05	1,39E-04	2,10E-10	19	65	87
3.2	3A5.417		VH_I51Y	57,2	5,42E+05	7,77E-03	1,43E-08	7,9	1	106
3.2	3A5.418		VH_I51D	40,4	5,15E+05	6,36E-04	1,23E-09	15,8	14	48
3.2	3A5.419		VH_I51Q	51,6	6,26E+05	5,02E-04	8,01E-10	17,7	18	95
3.2	3A5.420		VH_I51K	53,3	7,42E+05	1,16E-03	1,57E-09	17,3	8	124
3.2	3A5.421		VH_I51H	54,1	7,46E+06	8,34E-03	1,12E-09	13,4	1	93
3.2	3A5.422		VH_I51W	49,7	3,18E+05	3,31E-03	1,04E-08	0,9	3	139
3.2	3A5.423		VH_Y52A	54,9	1,49E+07	1,08E-02	7,23E-10	11,8	1	304
3.2	3A5.424		VH_Y52S	57,3	6,79E+05	1,29E-03	1,89E-09	11,7	7	325
3.2	3A5.425		VH_Y52L	59,4	1,90E+06	8,83E-03	4,66E-09	10,1	1	209
3.2	3A5.426		VH_Y52D	51,7					NB	333
3.2	3A5.427		VH_Y52Q	55,5	1,86E+06	8,86E-03	4,76E-09	9,2	1	264
3.2	3A5.428		VH_Y52K	58,4					NB	348
3.2	3A5.429		VH_Y52H	61,5	5,62E+05	2,91E-04	5,17E-10	20,6	31	286
3.2	3A5.430		VH_Y52W	48,6	6,79E+05	1,26E-03	1,86E-09	15,9	7	102
3.2	3A5.431		VH_Y53A	53	6,79E+05	5,21E-04	7,67E-10	17,9	17	249
3.2	3A5.432		VH_Y53S	55	6,94E+05	1,57E-04	2,26E-10	18,8	58	226
3.2	3A5.433		VH_Y53L	57,3	6,02E+05	4,43E-04	7,36E-10	19,1	20	102
3.2	3A5.434		VH_Y53D	50,8	4,80E+05	5,94E-04	1,24E-09	16,6	15	182
3.2	3A5.435		VH_Y53Q	53,4	6,27E+05	4,41E-04	7,03E-10	17,9	21	206
3.2	3A5.436		VH_Y53K	56,7	6,17E+05	9,61E-04	1,56E-09	18,1	9	232
3.2	3A5.437		VH_Y53H	57	6,71E+05	1,91E-04	2,85E-10	19,1	47	206
3.2	3A5.438		VH_Y53W	49,2	6,91E+05	2,35E-04	3,40E-10	16,8	39	152
3.2	3A5.439		VH_S54A	53,1	6,98E+05	1,54E-04	2,20E-10	18,1	59	112
3.2	3A5.440		VH_S54L	53,4	9,17E+06	8,95E-03	9,76E-10	13,6	1	158
3.2	3A5.441		VH_S54Y	55	1,57E+06	2,17E-03	1,38E-09	16,5	4	92
3.2	3A5.442		VH_S54D	51,4	8,06E+05	2,02E-03	2,50E-09	14,4	4	200
3.2	3A5.443		VH_S54Q	54	6,04E+05	1,07E-03	1,77E-09	17,6	8	150
3.2	3A5.444		VH_S54K	55,6	2,65E+06	3,55E-03	1,34E-09	15,5	3	201
3.2	3A5.445		VH_S54H	57,5	7,10E+05	4,59E-04	6,46E-10	19,3	20	97
3.2	3A5.446		VH_S54W	46,7	7,24E+05	8,68E-04	1,20E-09	14,8	10	112
3.2	3A5.447		VH_G55A	45,7	6,76E+05	1,05E-04	1,55E-10	17,1	86	68
3.2	3A5.448		VH_G55S	48,4	7,30E+05	1,24E-04	1,70E-10	18	73	72
3.2	3A5.449		VH_G55L	47,7	6,14E+05	6,30E-04	1,03E-09	17,7	14	66
3.2	3A5.450		VH_G55Y	38,6	6,88E+05	7,06E-04	1,03E-09	14,2	13	49
4.1	3A5.040	1	Диккий тип	82,7	1,00E+06	1,16E-04	1,16E-10	24,9		

4.1	3A5.040	2	Дикий тип	82,7	1,02E+06	1,07E-04	1,04E-10	25,1		
4.1	3A5.040	3	Дикий тип	85,2	1,03E+06	1,12E-04	1,09E-10	25,1		
4.1	3A5.040	4	Дикий тип	85,1	1,01E+06	1,06E-04	1,05E-10	25,3		
4.1	3A5.040	5	Дикий тип	83,5	9,91E+05	9,29E-05	9,37E-11	25,3		
4.1	3A5.040	Среднее	Дикий тип	83,84	1,01E+06	1,07E-04	1,06E-10	25,14	100	100
4.1	Изотип IgG4			61,4	N/A	N/A	N/A	0	N/A	
4.1	3A5.040 (Очищенное)		Дикий тип	84,2	1,06E+06	1,09E-04	1,03E-10	23,8	98	
4.1	3A5.133		VL_V33K	52,7	7,83E+05	1,34E-04	1,71E-10	15,9	80	15
4.1	3A5.222		VL_W91S	62,8	1,38E+06	2,85E-03	2,06E-09	12,5	4	14
4.1	3A5.391		VH_W35aS	68,4	6,35E+05	1,19E-03	1,87E-09	15,6	9	22
4.1	3A5.396		VH_W35aK	65,9	7,21E+05	2,08E-03	2,88E-09	9,4	5	26
4.1	3A5.401		VH_S35bD	53,1	5,96E+05	1,19E-04	2,01E-10	14,5	90	16
4.1	3A5.403		VH_S35bK	53,1	1,83E+05	1,23E-02	6,68E-08	2,8	1	12
4.1	3A5.275		VL_H95bA	69,7	5,47E+05	1,62E-04	2,95E-10	18	66	24
4.1	3A5.282		VL_H95bW	77,5	7,18E+05	1,07E-04	1,49E-10	21,1	100	152
4.1	3A5.283		VL_H95bP	63,4	5,90E+05	4,22E-02	7,15E-08	3,6	0	154
4.1	3A5.285		VL_V96S	74,4	9,02E+05	2,01E-04	2,23E-10	19,9	53	21
4.1	3A5.287		VL_V96Y	92,4	7,33E+06	1,50E-03	2,05E-10	17,6	7	62
4.1	3A5.288		VL_V96D	68,8	7,32E+05	1,30E-03	1,78E-09	16,8	8	9,5
4.1	3A5.289		VL_V96Q	77,1	1,62E+06	6,54E-04	4,03E-10	20,4	16	25
4.1	3A5.290		VL_V96K	64,6	8,08E+05	2,32E-03	2,87E-09	13,1	5	15
4.1	3A5.291		VL_V96H	5,2					NB	45
4.1	3A5.292		VL_V96W	66,4	3,83E+07	2,01E-02	5,26E-10	10,6	1	19
4.1	3A5.293		VL_V96P	81,5	8,54E+05	5,22E-04	6,11E-10	23,4	20	106
4.1	3A5.110		VL_K31A	74	7,01E+05	1,86E-04	2,65E-10	21,1	58	122
4.1	3A5.111		VL_K31S	79,2	7,10E+05	1,36E-04	1,92E-10	23,6	79	109
4.1	3A5.112		VL_K31L	79,9	6,30E+05	3,91E-04	6,21E-10	22,3	27	125
4.1	3A5.134		VL_V33H	5,8					NB	52
4.1	3A5.136		VL_Y34A	59,9	1,05E+06	3,45E-04	3,28E-10	17,2	31	170
4.1	3A5.206		VL_Q89D	71,6	5,68E+05	8,76E-05	1,54E-10	18,6	122	12
4.1	3A5.225		VL_W91D	114,2	6,31E+05	1,05E-02	1,66E-08	3,7	1	74
4.1	3A5.250		VL_S94Y	74,6	8,14E+05	3,48E-04	4,27E-10	20,3	31	147
4.1	3A5.252		VL_S94Q	63,4	8,25E+05	1,65E-04	2,00E-10	18	65	136
4.2	3A5.040	1	Дикий тип	50,4	6,96E+05	1,03E-04	1,48E-10	16,2		
4.2	3A5.040	2	Дикий тип	50,5	7,10E+05	1,06E-04	1,49E-10	16		
4.2	3A5.040	Среднее	Дикий тип	50,4	7,03E+05	1,05E-04	1,49E-10	16,1	100	100
4.2	Изотип IgG4			52,5	N/A	N/A	N/A		N/A	
4.2	3A5.040 (Очищенное)		Дикий тип	48,7	7,21E+05	6,63E-05	9,20E-11	16,5	150	
4.2	3A5.451		VH_G55D	33,1	4,54E+05	2,50E-04	5,50E-10	9,9	42	39
4.2	3A5.452		VH_G55Q	37,2	6,09E+05	1,94E-04	3,18E-10	11,7	54	42
4.2	3A5.453		VH_G55K	43,8	5,49E+05	2,07E-04	3,76E-10	12,4	50	51
4.2	3A5.454		VH_G55H	38,2	5,92E+05	1,81E-04	3,05E-10	11,7	58	41
4.2	3A5.455		VH_G55W	31,2	6,17E+05	6,65E-04	1,08E-09	10	16	33
4.2	3A5.456		VH_S56A	49,7	6,44E+05	1,18E-04	1,84E-10	15,5	89	104
4.2	3A5.457		VH_S56L	51,1	5,49E+05	8,63E-05	1,57E-10	15,6	121	101
4.2	3A5.458		VH_S56Y	47,6	5,44E+05	1,92E-04	3,53E-10	14,2	54	85
4.2	3A5.459		VH_S56D	49	5,05E+05	4,57E-04	9,06E-10	15	23	84
4.2	3A5.460		VH_S56Q	50,2	5,90E+05	9,69E-05	1,64E-10	15,8	108	106
4.2	3A5.461		VH_S56K	52,9	6,11E+05	7,84E-05	1,28E-10	16,6	133	119

4.2	3A5.463		VH_S56W	47,7	4,72E+05	2,85E-04	6,03E-10	13,9	37	98
4.2	3A5.464		VH_T57A	50	7,50E+05	1,26E-04	1,67E-10	16,1	83	104
4.2	3A5.465		VH_T57S	48,5	7,29E+05	1,26E-04	1,73E-10	15,6	83	69
4.2	3A5.467		VH_T57Y	44	7,66E+05	9,50E-05	1,24E-10	13,8	110	49
4.2	3A5.468		VH_T57D	42,5	7,02E+05	9,89E-05	1,41E-10	14	106	46
4.2	3A5.469		VH_T57Q	45,1	7,24E+05	1,07E-04	1,48E-10	14,2	98	58
4.2	3A5.470		VH_T57K	46,5	7,28E+05	1,21E-04	1,66E-10	14,6	86	61
4.2	3A5.471		VH_T57H	43,8	7,34E+05	1,09E-04	1,49E-10	13,9	96	50
4.2	3A5.472		VH_T57W	39,2	7,57E+05	1,34E-04	1,77E-10	13,3	78	40
4.2	3A5.473		VH_Y58A	48,1	1,56E+06	2,86E-03	1,83E-09	13	4	95
4.2	3A5.474		VH_Y58S	50,7	2,76E+06	3,84E-03	1,39E-09	13,7	3	101
4.2	3A5.475		VH_Y58L	48,6	5,58E+06	5,88E-03	1,05E-09	8,3	2	70
4.2	3A5.476		VH_Y58D	42,4	1,89E+07	1,68E-02	8,88E-10	7,3	1	47
4.2	3A5.477		VH_Y58Q	46,6	6,62E+05	1,33E-03	2,02E-09	13,9	8	75
4.2	3A5.478		VH_Y58K	49,2	5,75E+05	1,31E-03	2,28E-09	14,6	8	102
4.2	3A5.479		VH_Y58H	50,6	6,68E+05	5,75E-04	8,62E-10	15,8	18	91
4.2	3A5.480		VH_Y58W	48,1	6,58E+05	5,53E-04	8,41E-10	14,7	19	79
4.2	3A5.481		VH_A93S	45,3	7,18E+05	9,31E-05	1,30E-10	13,9	112	58
4.2	3A5.482		VH_A93L	13	2,55E+05	2,02E-04	7,90E-10	5,2	52	17
4.2	3A5.484		VH_A93D	0,5					NE	NE
4.2	3A5.485		VH_A93Q	40,4	6,48E+05	1,00E-04	1,54E-10	12,7	105	44
4.2	3A5.486		VH_A93K	17					NE	NE
4.2	3A5.487		VH_A93H	28,8					NE	NE
4.2	3A5.489		VH_A93P	6,5					NE	NE
4.2	3A5.491		VH_S94L	37,4	5,33E+05	8,11E-04	1,52E-09	12,5	13	40
4.2	3A5.492		VH_S94Y	30,3	3,27E+05	1,10E-03	3,37E-09	9,7	10	30
4.2	3A5.493		VH_S94D	4,6					NE	NE
4.2	3A5.494		VH_S94Q	42	6,74E+05	6,37E-04	9,45E-10	13,6	16	49
4.2	3A5.496		VH_S94H	47,1	2,19E+06	4,62E-03	2,11E-09	6,5	2	72
4.2	3A5.501		VH_L95Y	49	4,17E+06	5,88E-03	1,41E-09	12,4	2	96
4.2	3A5.502		VH_L95D	21,2					NB	22
4.2	3A5.506		VH_L95W	46,4	6,20E+06	7,36E-03	1,19E-09	8,4	1	68
4.2	3A5.511		VH_G96Y	45,5					NB	59
4.2	3A5.519		VH_N97S	48	5,61E+05	2,27E-04	4,04E-10	14,9	46	80
4.2	3A5.552		VH_D101K	47,1	6,10E+05	3,63E-04	5,95E-10	14,6	29	67
4.2	3A5.358		VH_G32L	48,4	2,01E+06	3,83E-03	1,91E-09	12,3	3	75
4.2	3A5.381		VH_Y34W	42,4	7,09E+05	2,18E-04	3,07E-10	14	48	47
4.2	3A5.398		VH_S35bA	47	6,82E+05	1,02E-04	1,50E-10	14,7	102	88
4.2	3A5.488		VH_A93W	14,2					NB	17
4.2	3A5.490		VH_S94A	49,6	6,78E+05	8,70E-05	1,28E-10	15,1	120	104
4.2	3A5.499		VH_L95A	43,4	3,09E+06	7,48E-03	2,42E-09	10,4	1	51
4.2	3A5.508		VH_G96A	47,1	5,77E+05	1,25E-04	2,17E-10	14,8	84	75
4.2	3A5.522		VH_N97D	49	1,00E+06	1,92E-04	1,91E-10	15,5	54	91
4.2	3A5.554		VH_D101W	32,7	1,38E+05	6,18E-04	4,47E-09	8,3	17	33
4.2	3A5.144		VL_D50A	47,1	5,29E+05	1,67E-04	3,15E-10	14,5	63	77
4.2	3A5.145		VL_D50S	48,2	5,74E+05	1,05E-04	1,83E-10	15,1	100	90
4.2	3A5.146		VL_D50L	48	5,92E+05	2,59E-04	4,38E-10	15	40	86
4.2	3A5.147		VL_D50Y	48	5,36E+05	1,95E-04	3,63E-10	15	54	78
4.2	3A5.148		VL_D50Q	47	5,99E+05	1,93E-04	3,22E-10	15	54	70
4.2	3A5.149		VL_D50K	45,8	6,00E+05	1,61E-04	2,68E-10	13,2	65	74
4.2	3A5.150		VL_D50H	48,2	4,07E+05	1,68E-04	4,14E-10	14,3	62	95
4.2	3A5.151		VL_D50W	48	5,36E+05	2,35E-04	4,38E-10	15	44	74

4.2	3A5.152		VL_D51A	47	6,34E+05	1,34E-04	2,11E-10	14,6	78	88
4.2	3A5.153		VL_D51S	46,1	8,53E+05	1,60E-04	1,87E-10	14,1	65	72
4.2	3A5.154		VL_D51L	47,8	6,22E+05	1,63E-04	2,63E-10	14,3	64	83
4.2	3A5.155		VL_D51Y	48,1	6,14E+05	1,78E-04	2,90E-10	13,7	59	75
4.2	3A5.156		VL_D51Q	47,8	6,48E+05	1,15E-04	1,77E-10	15	91	85
4.2	3A5.157		VL_D51K	45,2	5,85E+05	1,20E-04	2,05E-10	13,2	87	68
4.2	3A5.158		VL_D51H	48,3	6,15E+05	1,82E-04	2,95E-10	14,7	57	86
4.2	3A5.159		VL_D51W	45,7	4,93E+05	1,96E-04	3,98E-10	14,1	53	57
4.2	3A5.160		VL_S52A	47,7	6,61E+05	1,11E-04	1,68E-10	15,2	94	80
4.2	3A5.161		VL_S52L	47,8	6,87E+05	5,74E-05	8,36E-11	15	182	106
4.2	3A5.162		VL_S52Y	49	7,26E+05	9,91E-05	1,36E-10	15,8	105	114
5.1	3A5.040	1	Дикий тип	49,9	6,56E+05	1,22E-04	1,86E-10	14,5		
5.1	3A5.040	2	Дикий тип	48,5	6,43E+05	1,12E-04	1,75E-10	14,4		
5.1	3A5.040	3	Дикий тип	48,1	6,67E+05	1,25E-04	1,87E-10	13,7		
5.1	3A5.040	4	Дикий тип	50,4	6,63E+05	1,17E-04	1,77E-10	14,4		
5.1	3A5.040	Среднее	Дикий тип	49,2	6,57E+05	1,19E-04	1,81E-10	14,3	100	100
5.1	Изотип IgG4			51,2	N/A	N/A	N/A	0,1	N/A	
5.1	3A5.040 (Очищенное)		Дикий тип	48,9	7,07E+05	1,08E-04	1,53E-10	15,6	110	
5.1	3A5.337		VH_I29H	48,1	4,79E+05	1,12E-03	2,34E-09	13,7	11	24
5.1	3A5.339		VH_S30A	50,7	6,79E+05	1,12E-04	1,65E-10	16,3	106	6
5.1	3A5.346		VH_S30W	53,4	6,42E+05	1,32E-04	2,06E-10	16,7	90	69
5.1	3A5.058		VL_G25S	47,6	6,93E+05	1,08E-04	1,56E-10	15,7	110	43
5.1	3A5.090		VL_I28K	49,1	5,73E+05	1,04E-04	1,81E-10	16,2	114	51
5.1	3A5.092		VL_I28W	47	6,13E+05	1,30E-04	2,12E-10	15,5	92	35
5.1	3A5.212		VL_V90S	46,1	5,71E+05	3,11E-04	5,45E-10	14,6	38	4,8
5.1	3A5.251		VL_S94D	52,9	2,77E+05	4,98E-04	1,79E-09	15,5	24	7
5.1	3A5.255		VL_S94W	48,5	5,54E+05	2,86E-04	5,16E-10	14,7	42	19
5.1	3A5.299		VL_V97Q	48,5	5,86E+05	9,90E-05	1,69E-10	15,5	120	71
5.1	3A5.462		VH_S56H	50	6,35E+05	1,16E-04	1,83E-10	15,9	103	41
5.1	3A5.466		VH_T57L	44,9	6,39E+05	1,02E-04	1,59E-10	14,2	117	14
5.1	3A5.483		VH_A93Y	38,2					NB	8
5.1	3A5.503		VH_L95Q	48,5	4,04E+05	6,18E-04	1,53E-09	14,4	19	18
5.1	3A5.163		VL_S52D	49,3	6,65E+05	1,01E-04	1,52E-10	16,4	118	177
5.1	3A5.164		VL_S52Q	49,6	6,57E+05	1,17E-04	1,78E-10	15,8	102	9,8
5.1	3A5.166		VL_S52H	51,6	6,71E+05	1,11E-04	1,66E-10	16,9	107	167
5.1	3A5.167		VL_S52W	52,3	7,19E+05	1,11E-04	1,55E-10	17,2	107	166
5.1	3A5.169		VL_D53S	50,6	6,38E+05	6,35E-05	9,97E-11	16,5	187	151
5.1	3A5.170		VL_D53L	48,8	6,87E+05	9,50E-05	1,38E-10	15,8	125	143
5.1	3A5.171		VL_D53Y	51	6,79E+05	1,09E-04	1,60E-10	16,1	109	208
5.1	3A5.173		VL_D53K	52,6	6,35E+05	1,09E-04	1,71E-10	16,7	109	175
5.1	3A5.175		VL_D53W	50	5,88E+05	9,74E-05	1,66E-10	15,7	122	178
5.1	3A5.176		VL_R54A	50,4	6,51E+05	9,75E-05	1,50E-10	16,8	122	138
5.1	3A5.177		VL_R54S	50,1	6,45E+05	1,11E-04	1,72E-10	16,8	107	131
5.1	3A5.178		VL_R54L	51,5	6,60E+05	1,01E-04	1,53E-10	17	118	135
5.1	3A5.179		VL_R54Y	49,2	6,66E+05	1,24E-04	1,86E-10	16,4	96	138
5.1	3A5.180		VL_R54D	49,5	6,79E+05	9,89E-05	1,46E-10	16,6	120	128
5.1	3A5.181		VL_R54Q	51,3	6,58E+05	9,55E-05	1,45E-10	17	125	148
5.1	3A5.182		VL_R54K	51,5	6,50E+05	1,17E-04	1,79E-10	17	102	165
5.1	3A5.183		VL_R54H	49,1	6,47E+05	8,44E-05	1,30E-10	16,3	141	137
5.1	3A5.184		VL_R54W	50	6,14E+05	1,22E-04	1,99E-10	15,8	98	7,5

5.1	3A5.185		VL_P55A	51,9	6,87E+05	1,34E-04	1,95E-10	16,5	89	8,9
5.1	3A5.187		VL_P55L	49,6	7,00E+05	9,58E-05	1,37E-10	16,3	124	153
5.1	3A5.188		VL_P55Y	49,2	6,61E+05	1,19E-04	1,80E-10	16,4	100	127
5.1	3A5.189		VL_P55D	51,1	6,48E+05	9,21E-05	1,42E-10	16,7	129	155
5.1	3A5.190		VL_P55Q	48,8	6,55E+05	1,08E-04	1,64E-10	16,4	110	151
5.1	3A5.191		VL_P55K	49,3	6,38E+05	1,05E-04	1,64E-10	16,3	113	137
5.1	3A5.192		VL_P55H	51,5	6,51E+05	1,16E-04	1,78E-10	16,7	103	176
5.1	3A5.193		VL_P55W	51,5	6,41E+05	8,80E-05	1,37E-10	16,8	135	160
5.1	3A5.194		VL_S56A	49,8	6,41E+05	1,06E-04	1,65E-10	16,1	112	143
5.1	3A5.195		VL_S56L	49,6	6,85E+05	1,06E-04	1,54E-10	16,3	112	131
5.1	3A5.196		VL_S56Y	50,2	6,89E+05	1,14E-04	1,66E-10	16,5	104	123
5.1	3A5.197		VL_S56D	50,1	6,87E+05	1,19E-04	1,73E-10	16,5	100	153
5.1	3A5.198		VL_S56Q	49,6	6,86E+05	8,85E-05	1,29E-10	16,4	134	131
5.1	3A5.200		VL_S56H	49,3	6,83E+05	1,15E-04	1,68E-10	16,3	103	138
5.1	3A5.207		VL_Q89K	49,9	6,84E+05	1,27E-04	1,86E-10	16,4	94	136
5.1	3A5.209		VL_Q89W	48,6	5,57E+05	1,27E-04	2,28E-10	15,7	94	72
5.1	3A5.278		VL_H95bY	49,9	7,65E+05	7,90E-05	1,03E-10	16,3	151	139
5.1	3A5.279		VL_H95bD	49,6	7,01E+05	7,84E-05	1,12E-10	16,5	152	210
5.1	3A5.280		VL_H95bQ	50,3	7,47E+05	1,51E-04	2,02E-10	16,6	79	133
5.1	3A5.284		VL_V96A	48,2	7,24E+05	1,88E-04	2,60E-10	15,9	63	65
5.1	3A5.286		VL_V96L	48,4	6,50E+05	1,94E-04	2,98E-10	15,9	61	79
5.1	3A5.294		VL_V97A	48,6	6,27E+05	7,68E-05	1,23E-10	16	155	133
5.1	3A5.295		VL_V97S	48,6	6,12E+05	1,07E-04	1,74E-10	15,9	111	110
5.1	3A5.296		VL_V97L	48	6,71E+05	9,60E-05	1,43E-10	15,9	124	95
5.1	3A5.297		VL_V97Y	48,4	6,72E+05	1,07E-04	1,60E-10	16,2	111	90
5.1	3A5.298		VL_V97D	47,7	5,94E+05	1,30E-04	2,18E-10	15,8	92	96
5.1	3A5.300		VL_V97K	50,1	5,88E+05	1,18E-04	2,01E-10	15,8	101	4,7
5.1	3A5.301		VL_V97H	49,4	6,34E+05	8,79E-05	1,39E-10	16,1	135	168
5.1	3A5.063		VL_G25K	49	6,90E+05	7,21E-05	1,05E-10	16,2	165	90
5.1	3A5.067		VL_N26S	49	6,52E+05	1,10E-04	1,69E-10	16	108	162
5.1	3A5.083		VL_N27W	49,6	6,03E+05	1,29E-04	2,14E-10	16,4	92	148
5.1	3A5.091		VL_I28H	47,7	5,71E+05	1,30E-04	2,27E-10	15,7	92	75
5.1	3A5.098		VL_G29Q	49,7	6,53E+05	1,05E-04	1,61E-10	16,2	113	139
5.1	3A5.108		VL_S30H	49,4	6,95E+05	1,02E-04	1,46E-10	16,2	117	145
5.1	3A5.109		VL_S30W	48	6,77E+05	1,35E-04	2,00E-10	15,5	88	112
5.1	3A5.119		VL_N32S	48,6	8,35E+05	1,08E-04	1,29E-10	16,3	110	98
5.1	3A5.120		VL_N32L	49,2	8,72E+05	1,03E-04	1,18E-10	16,4	116	119
5.1	3A5.129		VL_V33L	48,8	5,80E+05	1,42E-04	2,45E-10	15,8	84	99
5.1	3A5.277		VL_H95bL	50,4	6,79E+05	1,40E-04	2,06E-10	16,6	85	180
5.1	3A5.302		VL_V97W	47,7	7,18E+05	7,59E-05	1,06E-10	15,9	157	73
5.1	3A5.303		VL_V97P	48,7	6,99E+05	1,21E-04	1,73E-10	16,2	98	21

Эта таблица содержит сводку рассчитанных кинетических данных и данных титров для каждого тестируемого антитела надосадочной жидкости. Вариантные антитела с более низким значением k_d (более медленная скорость диссоциации), чем у исходного антитела 3A5.040, имеют значение "% 3A5.040 k_d " > 100%, а антитела с более высоким значением k_d (более быстрой скоростью диссоциации) - значение < 100%. Вариантные антитела с более высоким титром, чем родительское антитело 3A5.040, имеют значение "% 3A5.040" > 100%, а антитела с более низким титром - значение < 100%. N/A, Не применимо. NB, нет связывания. NE, нет экспрессии.

Таблица 4

Определение кинетики связывания IL-5 очищенным антителом- вариантом 3A5.040 с помощью Biacore

№ про-гона	ID Антитела	Парал-лельные анализы	Аминокислот-ная замена	Уровень захвата	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (M)	Rmax (RU)	% 3A5,040 kd
6	3A5.040 (партия 6)	1	Дикий тип	48,6	1,44E+06	2,32E-04	1,61E-10	16	
6	3A5.040 (партия 6)	2	Дикий тип	49,4	1,44E+06	2,14E-04	1,48E-10	15,7	
6	3A5.040 (партия 6)	3	Дикий тип	49,2	1,36E+06	2,61E-04	1,93E-10	16	
6	3A5.040 (партия 6)	4	Дикий тип	49,2	1,36E+06	2,46E-04	1,80E-10	16	
6	3A5.040 (партия 6)	5	Дикий тип	49,3	1,47E+06	2,52E-04	1,71E-10	16,1	
6	3A5.040 (партия 6)	6	Дикий тип	49,2	1,45E+06	2,13E-04	1,47E-10	16	
6	3A5.040 (партия 6)	7	Дикий тип	49,2	1,41E+06	2,29E-04	1,63E-10	16,1	
6	3A5.040 (партия 6)	8	Дикий тип	50,9	1,40E+06	2,45E-04	1,75E-10	16,8	
6	3A5.040 (партия 6)	Среднее	Дикий тип	49,3	1,42E+06	2,37E-04	1,67E-10	16,1	100
6	IgG4 изо	1		48,8	N/A	N/A	N/A	0	
6	IgG4 изо	2		48,9	N/A	N/A	N/A	0	
6	IgG4 изо	3		48,8	N/A	N/A	N/A	0	
6	Изотип IgG4	Среднее		49,8	N/A	N/A	N/A	0	N/A
6	3A5.040 (Очищенное)	1	Дикий тип	49,6	1,43E+06	2,39E-04	1,68E-10	16,1	
6	3A5.040 (Очищенное)	2	Дикий тип	49,8	1,48E+06	2,85E-04	1,93E-10	16,2	
6	3A5.040 (Очищенное)	3	Дикий тип	49,7	1,45E+06	2,32E-04	1,60E-10	16,1	
6	3A5.040 (Очищенное)	Среднее	Дикий тип	49,7	1,45E+06	2,52E-04	1,74E-10	16,1	94
6	3A5.237	1	VL_D92W	47,9	1,57E+06	2,67E-04	1,70E-10	15,5	
6	3A5.237	2	VL_D92W	48,7	1,55E+06	2,58E-04	1,66E-10	15,6	
6	3A5.237	3	VL_D92W	48,5	1,52E+06	2,12E-04	1,40E-10	15,7	
6	3A5.237	Среднее	VL_D92W	48,3	1,55E+06	2,46E-04	1,59E-10	15,6	96
6	3A5.161	1	VL_S52L	49,4	1,47E+06	2,62E-04	1,78E-10	16,2	
6	3A5.161	2	VL_S52L	49,9	1,43E+06	2,41E-04	1,69E-10	16,2	
6	3A5.161	3	VL_S52L	49,9	1,40E+06	2,19E-04	1,57E-10	16,4	
6	3A5.161	Среднее	VL_S52L	49,7	1,43E+06	2,41E-04	1,68E-10	16,2	99
6	3A5.169	1	VL_D53S	48,9	1,23E+06	2,43E-04	1,98E-10	15,6	
6	3A5.169	2	VL_D53S	49,5	1,26E+06	2,44E-04	1,93E-10	15,9	
6	3A5.169	3	VL_D53S	49,7	1,23E+06	2,46E-04	1,99E-10	16,1	
6	3A5.169	Среднее	VL_D53S	49,3	1,24E+06	2,44E-04	1,97E-10	15,8	97
6	3A5.183	1	VL_R54H	47,9	1,44E+06	2,32E-04	1,61E-10	15,6	
6	3A5.183	2	VL_R54H	48,2	1,44E+06	2,50E-04	1,74E-10	15,8	
6	3A5.183	3	VL_R54H	48,4	1,39E+06	2,04E-04	1,47E-10	15,8	
6	3A5.183	Среднее	VL_R54H	48,1	1,42E+06	2,29E-04	1,61E-10	15,7	104
6	3A5.193	1	VL_P55W	48,5	1,32E+06	2,32E-04	1,76E-10	15,7	
6	3A5.193	2	VL_P55W	48,3	1,34E+06	2,51E-04	1,88E-10	15,3	
6	3A5.193	3	VL_P55W	48,7	1,29E+06	2,57E-04	1,99E-10	15,6	
6	3A5.193	Среднее	VL_P55W	48,5	1,32E+06	2,47E-04	1,88E-10	15,5	96
6	3A5.198	1	VL_S56Q	49,1	1,42E+06	2,43E-04	1,71E-10	16	
6	3A5.198	2	VL_S56Q	49	1,49E+06	2,90E-04	1,95E-10	15,7	
6	3A5.198	3	VL_S56Q	49,3	1,42E+06	2,38E-04	1,68E-10	15,9	
6	3A5.198	Среднее	VL_S56Q	49,1	1,44E+06	2,57E-04	1,78E-10	15,8	92
6	3A5.278	1	VL_H95bY	48,3	1,55E+06	2,53E-04	1,63E-10	15,9	
6	3A5.278	2	VL_H95bY	48,2	1,62E+06	2,43E-04	1,49E-10	15,7	
6	3A5.278	3	VL_H95bY	48,5	1,57E+06	2,14E-04	1,36E-10	15,8	
6	3A5.278	Среднее	VL_H95bY	48,3	1,58E+06	2,37E-04	1,49E-10	15,8	100
6	3A5.279	1	VL_H95bD	50	1,58E+06	2,50E-04	1,58E-10	16,3	
6	3A5.279	2	VL_H95bD	49,7	1,61E+06	2,42E-04	1,50E-10	16,1	
6	3A5.279	3	VL_H95bD	50	1,61E+06	2,43E-04	1,51E-10	16,4	

6	3A5.279	Среднее	VL_H95bD	49,9	1,60E+06	2,45E-04	1,53E-10	16,2	97
6	3A5.294	1	VL_V97A	49,1	1,31E+06	2,54E-04	1,94E-10	15,9	
6	3A5.294	2	VL_V97A	48,6	1,31E+06	2,13E-04	1,62E-10	15,7	
6	3A5.294	3	VL_V97A	48,6	1,37E+06	2,15E-04	1,57E-10	15,6	
6	3A5.294	Среднее	VL_V97A	48,7	1,33E+06	2,27E-04	1,71E-10	15,7	104
6	3A5.301	1	VL_V97H	48,4	1,51E+06	2,76E-04	1,83E-10	15,8	
6	3A5.301	2	VL_V97H	48,1	1,58E+06	1,06E-04	6,71E-11	15,6	
6	3A5.301	3	VL_V97H	47,8	1,60E+06	2,45E-04	1,53E-10	15,4	
6	3A5.301	Среднее	VL_V97H	48,1	1,56E+06	2,09E-04	1,34E-10	15,6	114
6	3A5.063	1	VL_G25K	48	1,37E+06	2,61E-04	1,90E-10	15,7	
6	3A5.063	2	VL_G25K	48,1	1,36E+06	2,70E-04	1,99E-10	15,5	
6	3A5.063	3	VL_G25K	47,8	1,42E+06	2,50E-04	1,76E-10	15,3	
6	3A5.063	Среднее	VL_G25K	47,9	1,38E+06	2,60E-04	1,88E-10	15,5	91
6	3A5.302	1	VL_V97W	48,9	1,65E+06	2,35E-04	1,42E-10	16	
6	3A5.302	2	VL_V97W	48,9	1,69E+06	2,35E-04	1,39E-10	15,8	
6	3A5.302	3	VL_V97W	48,5	1,66E+06	2,40E-04	1,45E-10	15,7	
6	3A5.302	Среднее	VL_V97W	48,7	1,67E+06	2,37E-04	1,42E-10	15,8	100
6	3A5.202	1	VL_Q89A	48,9	1,09E+06	2,49E-04	2,29E-10	15,8	
6	3A5.202	2	VL_Q89A	48,7	1,07E+06	1,89E-04	1,77E-10	15,6	
6	3A5.202	3	VL_Q89A	48,8	1,09E+06	2,44E-04	2,25E-10	15,7	
6	3A5.202	Среднее	VL_Q89A	48,8	1,08E+06	2,27E-04	2,10E-10	15,7	104
6	3A5.203	1	VL_Q89S	49	1,28E+06	2,82E-04	2,20E-10	15,9	
6	3A5.203	2	VL_Q89S	48,6	1,28E+06	2,26E-04	1,76E-10	15,6	
6	3A5.203	3	VL_Q89S	48,9	1,27E+06	2,36E-04	1,86E-10	15,7	
6	3A5.203	Среднее	VL_Q89S	48,8	1,28E+06	2,48E-04	1,94E-10	15,7	96
6	3A5.204	1	VL_Q89L	49,9	5,01E+05	2,20E-04	4,38E-10	14,4	
6	3A5.204	2	VL_Q89L	49,9	5,02E+05	1,88E-04	3,74E-10	14,2	

Таблица 5
Выход экспрессии очищенного белка для выбранных антител-вариантов 3A5.040

№ прогона	ID Антитела	Аминокислотная замена	% выхода очищенного антитела относительно родительского 3A5.040
6	3A5.040	Родительская последовательность	100
6	3A5.237	VL_D92W	89
6	3A5.161	VL_S52L	160
6	3A5.169	VL_D53S	173
6	3A5.183	VL_R54H	172
6	3A5.193	VL_P55W	187
6	3A5.198	VL_S56Q	205
6	3A5.278	VL_H95bY	210
6	3A5.279	VL_H95bD	143
6	3A5.294	VL_V97A	140
6	3A5.301	VL_V97H	151
6	3A5.063	VL_G25K	110
6	3A5.302	VL_V97W	156
6	3A5.202	VL_Q89A	64
6	3A5.203	VL_Q89S	129
6	3A5.204	VL_Q89L	61
6	3A5.205	VL_Q89Y	41
6	3A5.208	VL_Q89H	54
6	3A5.550	VH_D101Y	88
6	3A5.512	VH_G96D	72
6	3A5.124	VL_N32K	128
7	3A5.040	Родительская последовательность	100
7	3A5.068	VL_N26L	96
7	3A5.079	VL_N27D	99

Таблица 6
Матрица сканирования VH CDR1

sc	VH CDR1											
	26 G	27 G	28 S	29 I	30 S	31 N	32 G	33 G	34 Y	35 Y	35A W	35B S
A	0,5 1,3	1 0,8	0,6 0,9	0,3 0,6	0,1 1,1	1,2 0,1	1,8 0,3	1,2 1,3	1,6 0,7	2,9 0	0,4 0,1	0,9 1
S	0,6 0,9	1 1		0,3 0,5		1,1 0,2	1,5 0,1	1,2 0	1,6 0,7	1,3 0	0,2 0,1	
L	0,2 1,1	1,2 0,8	0,7 1,1	0,8 0,9	1,5 0,7	0,7 0,2	0,8 0	0,8 0,4	1,6 0,6	1,9 0,1	1 0,1	0,4 0,3
Y	0,6 1,1	0,8 0,1	0,5 1,2	0,2 0,1	1 0,7	0,6 0,1	0,9 0	1,1 0			1 0,5	0,9 0
D	0,6 1,2	0,7 0,9	0,7 1,1	0,2 0	1 0,8	0,8 0,5	1,1 0	2,8 0	1 0,2	0,9 0	NE NE	0,2 0,9
Q	0,9 1,1	0,8 0,7	0,8 1	0,4 0,3	1,2 1,1	1,6 0,2	1,3 0,1	2,8 0,1	1,7 0,6	1,3 0	0,3 0,1	0,5 0,2
K	1 1	1 0,5	0,8 0,9	0,3 0,1	1,6 0,8	1,7 0,1	1,7 0	3,5 0	4,1 0,2	3,8 NB	0,3 0,1	0,1 0
H	0,9 0,9	0,7 0,4	0,7 0,8	0,2 0,1	0,8 0,8	1,4 0,8	1,1 0	2,7 0	2,2 0,1	2 0	0,5 0,4	0,8 0
W	1,1 0,8	1 0,2	0,4 0,7	0,4 0	0,7 0,9	0,6 0,2	0,7 0	1,7 0,1	0,5 0,5	2,3 0		0,5 0
P												

Сводка различий в титре антитела-варианта 3A5.040 и kd для вариантов VH CDR1 (определение AbM). Нумерация аминокислот по Kabat и аминокислоты родительского 3A5.040 приведены в верхнем ряду. Мутированные остатки указаны в левом столбце. Крайнее левое значение в каждой ячейке является пропорциональным титром каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040 (>1=более высокий титр, <1=более низкий титр), в то время как правое значение является пропорциональным kd (>1=более низкое kd, <1=более высокое kd) каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040. Несделанные варианты отмечены серым цветом. NB, отсутствие связывания. NE, отсутствие экспрессии (Последова-

тельность VH CDR1 раскрыта как остатки 26-37 из SEQ ID NO: 73).

Таблица 7

Матрица сканирования VH CDR2

sc	VH CDR2									
	50 Y	51 I	52 Y	53 Y	54 S	55 G	56 S	57 T	58 Y	
A	2,7 0,2	2,4 0,8	3 0	2,5 0,2	1,1 0,6	0,7 0,9	1 0,9	1 0,8	1 0	
S	3,3 0,2	1,3 0,8	3,3 0,1	2,3 0,6		0,7 0,7		0,7 0,8	1 0	
L	1,2 0,3	0,9 0,7	2,1 0	1 0,2	1,6 0	0,7 0,1	1 1,2	0,1 1,2	0,7 0	
Y		1,1 0			0,9 0	0,5 0,1	0,9 0,5	0,5 1,1		
D	1,7 0,1	0,5 0,1	3,3 NB	1,8 0,2	2 0	0,4 0,4	0,8 0,2	0,5 1,1	0,5 0	
Q	2,4 0,2	1 0,2	2,6 0	2,1 0,2	1,5 0,1	0,4 0,5	1,1 1,1	0,6 1	0,8 0,1	
K	1,4 0,2	1,2 0,1	3,5 NB	2,3 0,1	2 0	0,5 0,5	1,2 1,3	0,6 0,9	1 0,1	
H	3 0,1	0,9 0	2,9 0,3	2,1 0,5	1 0,2	0,4 0,6	0,4 1	0,5 1	0,9 0,2	
W	1,3 0,1	1,4 0	1 0,1	1,5 0,4	1,1 0,1	0,3 0,2	1 0,4	0,4 0,8	0,8 0,2	
P										

Сводка различий в титре антитела-варианта 3A5.040 и kd для вариантов CDR2 VH (определение AbM). Нумерация аминокислот по Kabat и исходные аминокислоты 3A5.040 приведены в верхнем ряду. Мутированные остатки указаны в левом столбце. Крайнее левое значение в каждой ячейке является пропорциональным титром каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040 (>1=более высокий титр, <1=более низкий титр), в то время как правое значение является пропорциональным kd (>1=более низкое kd, <1=более высокое kd) каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040. Несделанные варианты отмечены серым цветом. NB, отсутствие связывания. NE, отсутствие экспрессии (Последовательность VH CDR2 раскрыта как остатки 52-60 из SEQ ID NO: 73).

Таблица 8

Матрица сканирования VH CDR3

			VH CDR3							
sc	93	94	95	96	97	98	99	101	102	
	A	S	L	G	N	W	F	D	Y	
A		1 1,2	0,5 0	0,8 0,8	1 0,6	1,1 0,5	0,4 0,2	0,7 0,7	1,1 1,2	
S	0,6 1,1		NE NE	0,9 0,5	0,8 0,5	0,8 0,4	0,4 0,1	0,8 0,9	1,4 0,9	
L	0,2 0,5	0,4 0,1		0,6 0	1 0,9	0,4 0,6	0,6 0,9	0,4 0,2	0,5 0,9	
Y	0,1 NB	0,3 0,1	1 0	0,6 NB	0,8 0,3	1,4 0,9	0,4 1,1	0,9 0,5		
D	NE NE	NE NE	0,2 NB	0,7 0	0,9 0,5	0,4 1,1	0,3 0		0,5 0,7	
Q	0,4 1	0,5 0,2	0,2 0,2	0,6 0,2	1,3 1	0,5 0,6	0,4 0,1	0,8 0,5	0,9 1	
K	0,2 NB	1,3 0,3	0,7 0	1,5 0	1,7 0,7	0,7 0,1	0,4 NB	0,7 0,3	0,9 1,3	
H	0,3 NB	0,7 0	0,9 0,1	1,2 0,1	1,1 0,5	0,8 0,7	0,4 1	0,7 0,6	1,3 1	
W	0,2 NB	0,4 0,0	0,7 0	0,6 0	0,6 0,2		0,3 0,2	0,3 0,2	1,2 0,9	
P	0,1 NB	0,2 0,8	0,4 NB	0,2 0,2	0,7 0,2	0,3 0,1	0,4 NB	0,4 0,1	0,3 0,8	

Сводка различий в титре антитела-варианта 3A5.040 и kd для вариантов CDR3 VH (определение AbM) и аминокислотных положений по Kabat 93 и 94. Нумерация аминокислот по Kabat и исходные аминокислоты 3A5.040 приведены в верхнем ряду. Мутированные остатки указаны в левом столбце. Крайнее левое значение в каждой ячейке является пропорциональным титром каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040 (>1=более высокий титр, <1=более низкий титр), в то время как правое значение является пропорциональным kd (>1=более низкое kd, <1=более высокое kd) каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040. Несделанные варианты отмечены серым цветом. NB, отсутствие связывания. NE, отсутствие экспрессии. (Последовательность VH CDR3 раскрыта как остатки 98-106 из SEQ ID NO: 73).

Таблица 9

Матрица сканирования VL CDR1

sc	VL CDR1										
	24 G	25 G	26 N	27 N	28 I	29 G	30 S	31 K	32 N	33 V	34 Y
A	1 1,3	1,1 1,3	0,8 1,3	1,2 1,2	0,9 1,9	0,6 1,1	0,8 1,1	1,2 0,6	0,7 0,2	0,7 1,5	1,7 0,3
S	1 1,1	0,4 1,1	1,6 1,1	0,9 1,1	0,5 1	0,9 1,2		1,1 0,8	1 1,1	1,3 1,2	0,3 1,2
L	1 1,4	0,8 1,1	1 1	1 1,3	0,6 1,1	0,8 1,3	1,3 1,2	1,3 0,3	1,2 1,2	1 0,8	0,6 0,5
Y	0,9 1	1 1,4	1 1,3	1 1,1	0,9 1,4	0,6 0,9	0,9 1,1	1 1,3	0,9 1,2	0,7 1,3	
D	1 1,2	0,9 1	1 1,5	1 1	0,4 1,2	0,9 1,6	1,2 1,3	1,1 0,2	1,2 0,9	0,4 1,2	0,7 0,2
Q	1 1,2	0,9 1,3	1 1,1	0,9 1,1	0,5 1,1	1,4 1,1	0,8 1,3	0,9 0,3	1 0,9	0,5 0,8	0,6 0,2
K	1 1,2	0,9 1,7	1 1	1 1,3	0,5 1,1	0,7 1,3	1 1,6		1,3 1	0,1 1	0,6 0,3
H	1 1,3	1,1 1,3	1 1	0,9 1,5	0,8 0,9	1 1,4	1,5 1,2	1 0,5	0,9 1,5	0,5 NB	0,8 0,2
W	1,1 1,4	0,8 1,3	0,9 1,2	1,5 0,9	0,4 0,9	1,1 1,2	1,1 0,9	1,3 0,9	0,8 1,3	0,2 1,1	0,6 0,1
P											

Сводка различий в титре антитела-варианта 3A5.040 и kd для вариантов CDR1 VL (определение AbM). Нумерация аминокислот по Kabat и исходные аминокислоты 3A5.040 приведены в верхнем ряду. Мутированные остатки указаны в левом столбце. Крайнее левое значение в каждой ячейке является про-

порциональным титром каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040 (>1=более высокий титр, <1=более низкий титр), в то время как правое значение является пропорциональным kd (>1=более низкое kd, <1=более высокое kd) каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040. Несделанные варианты отмечены серым цветом. NB, отсутствие связывания. NE, отсутствие экспрессии. (Последовательность VL CDR1 раскрыта как остатки 23-33 из SEQ ID NO: 74).

Таблица 10
Матрица сканирования VL CDR2

sc	VL CDR2						
	50 D	51 D	52 S	53 D	54 R	55 P	56 S
A	0,8 0,6	0,9 0,8	0,8 0,9	0,5 0,1	1,4 1,2	0,1 0,9	1,4 1,1
S	0,9 1	0,7 0,7		1,5 1,9	1,3 1,1	1,1 1	
L	0,9 0,4	0,8 0,6	1,1 1,8	1,4 1,3	1,4 1,2	1,5 1,2	1,3 1,1
Y	0,8 0,5	0,8 0,6	1,1 1,1	2,1 1,1	1,4 1,0	1,3 1	1,2 1
D			1,8 1,2		1,3 1,2	1,6 1,3	1,5 1
Q	0,7 0,5	0,9 0,9	0,1 1	1 1	1,5 1,2	1,5 1,1	1,3 1,3
K	0,7 0,6	0,7 0,9	1,7 0,1	1,8 1,1	1,7 1,0	1,4 1,1	1 0,9
H	1 0,6	0,9 0,6	1,7 1,1	1,2 0,9	1,4 1,4	1,8 1	1,4 1
W	0,7 0,4	0,6 0,5	1,7 1,1	1,8 1,2	0,1 1,0	1,6 1,4	0,9 0,9
P							

Сводка различий в титре антитела-варианта 3A5.040 и kd для вариантов VL CDR2 (определение AbM). Нумерация аминокислот по Kabat и исходные аминокислоты 3A5.040 приведены в верхнем ряду. Мутированные остатки указаны в левом столбце. Крайнее левое значение в каждой ячейке является пропорциональным титром каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040 (>1=более высокий титр, <1=более низкий титр), в то время как правое значение является пропорциональным kd (>1=более низкое kd, <1=более высокое kd) каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040. Несделанные варианты отмечены серым цветом. NB, отсутствие связывания. NE, отсутствие экспрессии. (Последовательность VL CDR2 раскрыта как остатки 49-55 из SEQ ID NO: 74).

Таблица 11
Матрица сканирования VL CDR3

sc	VL CDR3										
	89 Q	90 V	91 W	92 D	93 S	94 S	95 S	95A D	95B H	96 V	97 V
A	0,6 1	0,8 1	0,8 0	1,1 1,2	1,1 0	1 1	1 1	1,1 0	0,2 0,7	0,7 0,6	1,3 1,5
S	1,3 1	0 0,4	1 0	1,1 1,2				1 0,1	0,6 1,6	0,2 0,5	1,1 1,1
L	0,6 1,2	0,6 0,8	1 0	1,3 1,5	1,2 0	0,9 0,2	1 1	0,7 0	1,8 0,9	0,8 0,6	1 1,2
Y	0,4 1	0,9 0,4	0,6 0,1	0,7 1,1	1,2 0	1,5 0,3	0,8 1,1	1 0	1,4 1,5	0,6 0,1	0,9 1,1
D	0,1 1,2	0,3 0,3	0,7 0		0,7 0	0,1 0,2	1,1 0,9		2,1 1,5	0,1 0,1	1 0,9
Q		0,8 0,6	0,8 0	1,9 0,8	1,1 0	1,4 0,6	0,6 1,3	1,1 0	1,3 0,8	0,3 0,2	0,7 1,2
K	1,4 0,9	0,5 1,4	0,7 NB	0,9 1,3	1,6 NB	1,1 0,8	1,2 1,2	0,7 0	0,6 1,2	0,2 0	0 1
H	0,5 0,9	0,6 0,4	0,6 0	1,2 1,1	1,3 0	1 0,8	1 1,2	1,9 0		0,5 NB	1,7 1,4
W	0,7 0,9	0,8 0,2		NE NE	1,2 0	0,2 0,4	0,9 0,9	0,9 0	1,5 1	0,2 0	0,7 1,6
P	0,7 0,2	0,8 0	0,4 0	0,6 0,8	1,1 0	1,4 0,9	1,5 0	1,5 0	1,5 0	1,1 0,2	0,2 1

Сводка различий в титре антитела-варианта 3A5.040 и kd для вариантов CDR3 VL (определение AbM). Нумерация аминокислот по Kabat и исходные аминокислоты 3A5.040 приведены в верхнем ряду. Мутированные остатки указаны в левом столбце. Крайнее левое значение в каждой ячейке является пропорциональным титром каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040 (>1=более высокий титр, <1=более низкий титр), в то время как правое значение является пропорциональным kd (>1=более низкое kd, <1=более высокое kd) каждого варианта по сравнению с родительским 3A5.040. Несделанные варианты отмечены серым цветом. NB, отсутствие связывания. NE, отсутствие экспрессии. (Последовательность VL CDR3 раскрыта как остатки 88-98 из SEQ ID NO: 74).

Создание экспрессирующего вектора.

Нуклеотидная последовательность может влиять на экспрессию гена и последующий уровень экспрессии белка. Исследовали несколько различных нуклеотидных последовательностей на предмет оптимальной экспрессии 3A5.046. Эти последовательности приведены в следующей таблице:

Таблица 12
Нуклеотидная последовательность

Название гена	SEQ ID No:
3A5.046 VH	SEQ ID NO: 69
3A5.046 VL	SEQ ID NO: 71
константная область 3A5.046 HC	SEQ ID NO: 70
константная область 3A5.046 LC	SEQ ID NO: 72

Измерение аффинности антитела 3A5.046 к рекомбинантному IL-5 человека с помощью SPR.

Аффинность антител 3A5.046 к рекомбинантному IL-5 человека была определена с использованием системы Biacore T200 (GE Healthcare). Вкратце, коммерческое мышиное антитело против IgG человека (Thermo Scientific) было присоединено к двум смежным (контрольной и тестовой) проточным ячейкам на чипе Biacore CM5 (GE Healthcare) в соответствии с рекомендациями производителя. Антитело 3A5.046 было захвачено при низкой плотности (около 125 RU) на поверхности тестируемой проточной ячейки, и разведения рекомбинантного IL-5 человека или пустого буфера были инъецированы через тестовую и контрольную проточную ячейку со скоростью 30 мкл/мин (фиг. 6, табл. 13).

Полученные сенсограммы имели двойной контроль (значения тестовой проточной ячейки вычитались из значений проточной ячейки контроля (поверхность, связанная с анти-IgG человека без покрытого антитела), а также пустого буфера). Вычитенные сенсограммы из инъекций IL-5 человека при 2,5, 1,25, 0,625, 0,313 и 0,156 мкг/мл были подогнаны к модели связывания Ленгмюра 1:1 с использованием программного обеспечения Biacore Evaluation для определения констант связывания из анализов в двух повторях (табл. 13).

Таблица 13

Кинетические константы из мультikonцентрационного кинетического анализа Biacore связывания антитела 3A5.046 с рекомбинантным IL-5 человека при 2,5, 1,25, 0,625, 0,313 и 0,156 мкг/мл

Антитело	Эксперимент	ka (1/Мс)	kd (1/с)	KD (нМ)	Chi² (RU²)
3A5.046	Повтор 1	8,16E+05	1,58E-05	19,4	0,0269
	Повтор 2	8,49E+05	1,84E-05	21,7	0,0296

Эти результаты показывают, что антитело 3A5.046 имеет высокую аффинность к рекомбинантному IL-5 человека.

Активность 3A5.046 по сравнению с меполизумабом в анализе пролиферации клеточной линии TF-1.6G4 3A5.046 и меполизумаб использовали в анализе пролиферации клеточной линии TF-1.6G4. 3A5.046 и меполизумаб ингибировали пролиферацию, вызванную IL-5 человека, со средним IC₅₀-13,8 пМ и 534 пМ, соответственно (см. табл. 14 и фиг. 7A). Оба антитела продемонстрировали ингибирование IL-5 яванского макака на клеточной линии TF1.6G4 (фиг. 7B), со средним IC₅₀ для 3A5.046, равным 43,8 пМ, и для меполизумаба, равным 584 пМ.

Таблица 14

Антитело	Агонист	Количество наблюдений	среднее (пМ)	ст. откл.
Меполизумаб	IL-5 яванского макака	4	584,0982	129,9019
	IL-5 человека	4	534,2803	150,2546
3A5.046	IL-5 яванского макака	8	43,80916	12,62095
	IL-5 человека	8	13,83667	4,219783

Обнаружение нативного IL5 из первичных клеток с помощью ELISA с использованием анти-IL-5 антител по изобретению.

Антитело 3A5 было использовано в качестве захватывающего реагента в сэндвич-ELISA. В сочетании с коммерчески доступным детектирующим антителом (TRFk5R; R & D systems, # MAB405) может быть проведена количественная оценка уровней рекомбинантного IL-5 в образцах буфера с добавкой определяемого вещества (фиг. 8). Затем этот способ был применен для обнаружения нативного IL-5, секретируемого первичными клетками. Стимулировали CD4+ Т-клетки от четырех доноров для секреции IL-5. Уровни IL-5 затем определяли с использованием сэндвич-ELISA с антителом 3A5 в качестве реагента для захвата. Три из четырех донорских Т-клеток ответили на стимуляцию Т-клеток и имели определяемые уровни IL-5 в надосадочной жидкости клеточной культуры (фиг. 8). Аналогичные исследования были выполнены с IL-5 человека, секретируемом первичными человеческими донорскими CD4+ Т-клетками, с использованием антитела 3A5.046 в качестве агента захвата, и полученные результаты соответствовали результатам, полученным с антителом 3A5 (данные не показаны).

Ингибирование анти-IL-5 антителом дифференцировки эозинофилов.

Анализ на выживание с использованием CD34+ клеток пуповинной крови был использован для оценки способности анти-IL-5 антител ингибировать IL-5 зависимую дифференцировку клеток-предшественников костного мозга в эозинофилы и оценки способности анти-IL-5 антител ингибировать фенотипически зрелую выживаемость эозинофилов. В контрольных клетках, обработанных IL-5, фенотипически зрелые эозинофилы были преобладающей популяцией на 28 день (фиг. 9, заштрихованная область на графике). Антитело 3A5.046 способно ингибировать дифференцировку CD34+ клеток пупо-

винной крови, инкубированных с IL-5 в течение 28 дней, в эозинофилы. Антитело 3A5.046 было более сильным ингибитором IL-5-опосредованной дифференцировки эозинофилов, чем меполизумаб (фиг. 9).

Рентгеноструктурный анализ.

Молекулярную структуру комплекса между Fab антитела 3A5.046 и рекомбинантным IL-5 человека исследовали с помощью рентгеновской кристаллографии. Чтобы подготовиться к экспериментам с рентгеновской кристаллографией, 3A5.046 гидролизвали папаином, который расщепляет интактное антитело в шарнирной области, разделяя домены Fc и Fab. Fab 3A5.046 очищали стандартной аффинной хроматографией с протеином A и включали в комплекс с рекомбинантным негликозилированным IL-5 человека. Комплекс 3A5.046 Fab: IL-5 человека очищали для экспериментов по кристаллизации с использованием стандартной эксклюзионной хроматографии. Комплекс использовали в варьирующих концентрациях в коммерчески доступных скринингах кристаллизации белков типа *sparse matrix* (разреженная матрица) для широкого отбора условий кристаллизации. Оптимизации любых условий "попадания", которые обеспечивают кристаллы комплекса из скринингов кристаллизации белков типа *sparse matrix* (разреженная матрица), проводили для улучшения морфологии кристалла и дифракции кристалла по мере необходимости.

Кристаллы комплекса 3A5.046 Fab: IL-5 человека, собирали, быстро замораживали в жидком азоте и транспортировали к синхротронному комплексу для дифракционных тестов и сбора данных. Кристаллическое дифракционное тестирование выполняли на синхротроне, который создает высокоэнергетические рентгеновские микропучки для получения дифракции высокого разрешения. Таким образом получали данные дифракции рентгеновских лучей на кристаллах комплекса 3A5.046 Fab: IL-5 человека. Исходная структурная модель комплекса может быть получена с использованием стандартных методов молекулярного замещения с опубликованными молекулярными структурами IL-5 и Fab в качестве матриц. Окончательная структура комплекса Fab и IL-5 человека 3A5.046 может быть получена путем итеративного уточнения модели структуры до тех пор, пока ошибки подгонки не станут лучше, чем 30% (конечный R_{free} равен 0,3), а параметры химической связи (например, распределение длин и углов связей, стереохимия и водородные связи) не будут находиться в допустимых пределах.

Характеризация связывания антитела 3A5.046 с IL-5 из модельных видов, отличных от человека.

Антитело 3A5.046 было проверено с помощью анализа Biotec с использованием системы T200 (GE Healthcare) на предмет связывания с рекомбинантными цитокинами IL-5 человека, IL-5 крысы, IL-5 мыши и IL-5 морской свинки. Эта панель нечеловеческих IL-5 была выбрана для представления основных видов животных моделей, используемых при доклинической разработке. Изотипное контрольное антитело (IgG4) и антитело 3A5.046 иммобилизовали на проточных ячейках 1 и 2 чипа CM5 серии S (GE Healthcare), соответственно, с использованием стандартных способов аминного сочетания. Цитокины разбавляли до 1 и 10 $\mu\text{г/мл}$ в рабочем буфере HBS-EP+ (GE Healthcare) и впрыскивали через проточные ячейки 1 и 2. Инъекции только буфера через проточные ячейки 1 и 2 были включены для двойного контроля. Анализ данных проводился с использованием оценочного программного обеспечения Biotec T200. Полученные сенсограммы имели двойной контроль (значения тестируемой проточной ячейки вычитались из значений контрольной проточной ячейки, а также пустого буфера).

Было обнаружено, что антитело 3A5.046 связывается с IL-5 яванского макака, но не с IL-5 мыши, IL-5 крысы или IL-5 морской свинки (фиг. 10A и 10E). Это указывало на то, что 3A5.046 можно использовать в доклинических моделях с яванским макаком.

Антитело 3A5.046 не связывается с другими человеческими цитокинами, близко родственными с IL-5.

Антитело 3A5.046 было проверено с помощью анализа Biotec с использованием системы T200 (GE Healthcare) на предмет связывания с рекомбинантными человеческими цитокинами IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (GM-CSF), макрофагальным колониестимулирующим фактором (M-CSF) и гормоном роста (GH). Эта репрезентативная группа близкородственных человеческих цитокинов была выбрана на основании их структурного и функционального сходства с IL-5 человека. Контрольное изотипическое антитело (IgG4) и антитело 3A5.046 были иммобилизованы на проточных ячейках 1 и 2 чипа CM5 серии S (GE Healthcare), соответственно, с использованием стандартных способов аминного сочетания. Цитокины разбавляли до 1 и 10 $\mu\text{г/мл}$ в рабочем буфере HBS-EP+ (GE Healthcare) и инъецировали через проточные ячейки 1 и 2. Инъекции только буфера через проточные ячейки 1 и 2 были включены для двойного контроля. Анализ данных проводился с использованием оценочного программного обеспечения Biotec T200. Полученные сенсограммы имели двойной контроль (значения тестируемой проточной ячейки вычитались из значений контрольной проточной ячейки, а также пустого буфера).

Было обнаружено, что антитело 3A5.046 связывается только с IL-5 человека, но не с человеческими цитокинами IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, M-CSF, или GH (фиг. 11A и 11D), демонстрируя, таким образом, высокую специфичность 3A5.046 к IL-5 человека.

Оценка антител 3A5.046 на модели эозинофилии дыхательных путей яванского макака, индуцированной *Ascaris suum*.

Антитело 3A5.046 тестировали с использованием модели острой эозинофилии дыхательных путей у яванского макака с *Ascaris suum*, как описано в Hart, T.K., et al., Preclinical efficacy and safety of mepolizumab (SB-240563), a humanized monoclonal antibody to IL-5, in cynomolgus monkeys. *J Allergy Clin Immunol*, 2001. 108(2): p. 250-7.

Шестнадцать самок яванского макака, которые были ранее сенсибилизированы к *Ascaris suum*, оценивали по уровню остаточной чувствительности с помощью интрадермальной контрольной провокационной пробы *A. suum*. Четырнадцать из этих животных были отобраны для участия в исследовании на основании ответа на провокационную пробу, кожных волдырей, и рандомизированы на две группы по $n=7$ на группу. Через две недели после внутрикожного тестирования кожной сыворотки были взяты исходные образцы крови и жидкости бронхоальвеолярного лаважа (BALF) (день 8). Приблизительно через 24 ч после сбора исходной пробы животных обрабатывали либо плацебо (содержащим водный буфер pH 6,3 с 200 мМ аргинином и 25 мМ гистидином), либо антителом 3A5.046 (10 мг/кг внутривенно, в водном буфере pH 6,3 с 200 мМ аргинином и 25 мМ гистидина) в виде слепого исследования (день 7). Через одну неделю после лечения плацебо или антителом выполняли вторую внутрикожную инъекцию *A. suum* и всем животным давали инъекцию *A. suum* путем доставки равного количества экстракта *A. suum* (Greer Laboratories Inc.; 5 мг/мл в стерильной воде) через небулайзер PARI LC (день 0). Диаметр кожных волдырей измеряли через 15 мин после провокационной пробы. Через два дня после ингаляционной провокационной пробы *A. suum* были взяты образцы крови и BALF. Дополнительные образцы крови для гематологических конечных точек и РК-анализа собирали еженедельно, начиная с 10-го дня и до 45-го дня.

Существенных различий в реакции кожных волдырей между первой и второй интрадермальными провокационными пробами *A. suum* обнаружено не было. У всех животных было выявлено увеличение эозинофилов в BALF в результате провокационной пробы *A. suum*, но у животных, получавших антитело 3A5.046, это увеличение было незначительным. В BALF у животных, получавших антитело 3A5.046, эозинофилов было значительно меньше чем через 48 ч после провокационной пробы *A. suum* у животных, получавших плацебо ($p<0,01$; тест Манна-Уитни; фиг. 12).

Провокационная проба *A. suum* также приводила к значительному увеличению эозинофилов в крови по сравнению с исходным уровнем у животных, получавших плацебо, до 10-го дня после провокационной пробы (фиг. 13A). Обработка антителом 3A5.046 приводила к значительному снижению уровня эозинофилов в крови до уровней ниже исходного уровня (фиг. 13A), и это снижение количества эозинофилов в крови сохранялось в течение, по меньшей мере, 52 дней после начальной дозы (фиг. 13B).

Таким образом, обработка с помощью 3A5.046 значительно снизила индуцированную *A. suum* эозинофилию дыхательных путей через 48 ч после провокационной пробы, и значительно уменьшила количество эозинофилов в крови, ниже базовых уровней, в течение по меньшей мере 52 дней после однократного внутривенного (IV) дозы 10 мг/кг.

Исследование функции антител в модели эозинофилии дыхательных путей на крысах с гуманизированным IL-5.

Alternaria alternata (*Alternaria*) является грибным аллергеном, который, как известно, вызывает астму у людей и может привести к эозинофилии и астма-подобным симптомам у грызунов. При провокационной пробе *Alternaria*, у knock-in крыс с гуманизированным IL-5 (животные, у которых крысиный IL-5 был заменен IL-5 человека), наблюдается повышенный уровень эозинофилов в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (BALF) из легких (фиг. 14).

Одиночную интратрахеальную инстилляцию суспензии *Alternaria* вводили гуманизированным крысам IL-5, и образцы крови и BALF отбирали через 2, 3 или 4 дня после введения *Alternaria*. Обычно в этой модели эозинофилы значительно повышены в образцах BALF и могут быть либо увеличены, либо неизменны в образцах крови.

Тестовые антитела вводили до индукции эозинофилии с помощью *Alternaria* и оценивали по их способности снижать количество эозинофилов в BALF и крови.

Специалисты в данной области техники будут очевидно, что многочисленные изменения и модификации могут быть сделаны к предпочтительным воплощениям настоящего изобретения, и что такие изменения и модификации могут быть сделаны без отхода от сущности настоящего изобретения. Поэтому предполагается, что прилагаемая формула изобретения охватывает все такие эквивалентные варианты, которые соответствуют истинному духу и объему изобретения.

Раскрытия каждого патента, патентной заявки и публикации, цитируемые или описанные в этом документе, настоящим включены в данное описание посредством ссылки в полном объеме.

Таблица 15
Последовательности

Белковая цепь	Последовательность	Белковая цепь	Последовательность
Консенсус LCDR1	GX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ KX ₇ X ₈ Y SEQ ID NO: 1		
Консенсус LCDR2	DDX ₈ X ₉ RPS SEQ ID NO: 2		
Консенсус LCDR3	QVWX ₁₀ SSSDX ₁₁ VX ₁₂ SEQ ID NO: 3		
Антитело 3A5			
3A5 HCDR1	GGISNNGGYWS SEQ ID NO: 4	3A5 LCDR1	GGNNIGSKNVY SEQ ID NO: 5
3A5 HCDR2	YIYYSGSTY SEQ ID NO: 6	3A5 LCDR2	DDSDRPS SEQ ID NO: 7
3A5 HCDR3	LGNWFDY SEQ ID NO: 8	3A5 LCDR3	QVWYSSSDHVV SEQ ID NO: 9
3A5 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRSISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASL GNWFDYWGQGTTLTVSS SEQ ID NO: 10		
3A5 VL	SSILTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVHDD SDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWYSSSDHVVFGG GTKLTVLG SEQ ID NO: 11		
3A5 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRSISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASL GNWFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG SEQ ID NO: 12		
3A5 LC	SSILTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVHDD SDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWYSSSDHVVFGG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWK ADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 13		
Антитело 3A5.001			
3A5.001 HCDR1	GGISNNGGYWS SEQ ID NO: 4	3A5.001 LCDR1	GGNNIGSKNVY SEQ ID NO: 5
3A5.001 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.001 LCDR2	DDSDRPS

	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.001 HCDR3	LGNWFDY	3A5.001 LCDR3	QVWYSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 9
3A5.001 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRSVISVDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCASLGNWFDYWQGGLTVTVSS		
	SEQ ID NO: 10		
3A5.001 VL	SSILTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVHDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWYSSSDHVVFGGGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 11		
3A5.001 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRSVISVDTSKNQFSLKLNSVTAADTAVYYCASLGNWFDYWQGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG		
	SEQ ID NO: 14		
3A5.001 LC	SSILTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVHDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWYSSSDHVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 13		
Антитело 3A5.040			
3A5.040 HCDR1	GGGISNNGGYYWS	3A5.040 LCDR1	GGNNIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 5
3A5.040 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.040 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.040 HCDR3	LGNWFDY	3A5.040 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.040 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRSVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLGNWFDYWQGGLTVTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.040 VL	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVHDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 17		
3A5.040 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRSVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASL		

	NWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG SEQ ID NO: 18		
3A5.040 LC	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLQPKAAPSVTLPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 19		
Антитело 3A5.046			
3A5.046 HCDR1	GGISISNGGYWS	3A5.046 LCDR1	GGNNIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 5
3A5.046 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.046 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.046 HCDR3	LGNWFDY	3A5.046 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.046 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFDYWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 16		
3A5.046 VL	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLG SEQ ID NO: 17		
3A5.046 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITR EPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG SEQ ID NO: 20		
3A5.046 LC	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLQPKAAPSVTLPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 19		
Антитело 3A5.063			
3A5.063 HCDR1	GGISISNGGYWS	3A5.063 LCDR1	GKNNIGSKNVY

	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 21
3A5.063 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.063 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.063 HCDR3	LGNWFDY	3A5.063 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.063 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGTLLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.063 VL G25K	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGKNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 22		
3A5.063 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKITYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.063 LC G25K	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGKNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 23		
Антитело 3A5.070			
3A5.070 HCDR1	GGISNNGGYWS	3A5.070 LCDR1	GGDNIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 24
3A5.070 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.070 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.070 HCDR3	LGNWFDY	3A5.070 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.070 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGTLLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.070 VL N26D	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGDNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLG		

	SEQ ID NO: 25		
3A5.070 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.070 LC N26D	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGDNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSDDHVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 26		
Антитело 3A5.082			
3A5.082 HCDR1	GGGISNNGGYWS	3A5.082 LCDR1	GGNHIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 27
3A5.082 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.082 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.082 HCDR3	LGNWFDY	3A5.082 LCDR3	QVWDSDDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.082 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGTTLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.082 VL N27H	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNHIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSDDHVVFG GGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 28		
3A5.082 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.082 LC N27H	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNHIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSDDHVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS		

	SEQ ID NO: 29		
Антитело 3A5.084			
3A5.084 HCDR1	GGISISNGGYWS	3A5.084 LCDR1	GGNNAGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 30
3A5.084 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.084 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.084 HCDR3	LGNWFDY	3A5.084 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.084 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNNGGYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.084 VL	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNAGSKNVYWYQKPGQAPVLVVH DDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVV GGGTKLTVLG		
I28A	SEQ ID NO: 31		
3A5.084 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNNGGYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALSTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTYTCNV DHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSG FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.084 LC	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNAGSKNVYWYQKPGQAPVLVVH DDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVV GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA WKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 32		
Антитело 3A5.107			
3A5.107 HCDR1	GGISISNGGYWS	3A5.107 LCDR1	GGNNIGKKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 33
3A5.107 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.107 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.107 HCDR3	LGNWFDY	3A5.107 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.107 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNNGGYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		

3A5.107 VL S30K	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGKKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLG SEQ ID NO: 34		
3A5.107 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG SEQ ID NO: 18		
3A5.107 LC S30K	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGKKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 35		
Антитело 3A5.125			
3A5.125 HCDR1	GGGISNGGYYS	3A5.125 LCDR1	GGNNIGSKHVV
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 36
3A5.125 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.125 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.125 HCDR3	LGNWFDY	3A5.125 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.125 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSS SEQ ID NO: 16		
3A5.125 VL N32H	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKHVVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLG SEQ ID NO: 37		
3A5.125 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG SEQ ID NO: 18		
3A5.125 LC	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKHVVYWYQQKPGQAPVLVVHD		

N32H	DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 38		
Антитело 3A5.127			
3A5.127 HCDR1	GGISNNGGYYWS SEQ ID NO: 4	3A5.127 LCDR1	GGNNIGSKNAY SEQ ID NO: 39
3A5.127 HCDR2	YIYYSGSTY SEQ ID NO: 6	3A5.127 LCDR2	DDSDRPS SEQ ID NO: 7
3A5.127 HCDR3	LGNWFDY SEQ ID NO: 8	3A5.127 LCDR3	QVWDSSSDHVV SEQ ID NO: 15
3A5.127 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNNGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 16		
3A5.127 VL V33A	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNAYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLG SEQ ID NO: 40		
3A5.127 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNNGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESEKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG SEQ ID NO: 18		
3A5.127 LC V33A	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNAYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 41		
Антитело 3A5.161			
3A5.161 HCDR1	GGISNNGGYYWS SEQ ID NO: 4	3A5.161 LCDR1	GGNNIGSKNVY SEQ ID NO: 5
3A5.161 HCDR2	YIYYSGSTY SEQ ID NO: 6	3A5.161 LCDR2	DDLDRPS SEQ ID NO: 42
3A5.161 HCDR3	LGNWFDY SEQ ID NO: 8	3A5.161 LCDR3	QVWDSSSDHVV SEQ ID NO: 15
3A5.161 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNNGGYYWSWIRQHPGKGLEWI		

	GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGLTVTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.161 VL S52L	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DLDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVV GGGKLTVLG		
	SEQ ID NO: 43		
3A5.161 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.161 LC S52L	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DLDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVV GGGKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA WKADSSPVKAGVETTPPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 44		
Антитело 3A5.169 3A5.169 HCDR1	GGGISNGGYWS	3A5.169 LCDR1	GGNNIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 5
3A5.169 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.169 LCDR2	DDSSRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 45
3A5.169 HCDR3	LGNWFDY	3A5.169 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.169 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGLTVTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.169 VL D53S	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGKLTVLG		
	SEQ ID NO: 46		
3A5.169 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS		

	FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.169 LC D53S	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSSRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWSSSDHVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 47		
Антитело 3A5.232			
3A5.232 HCDR1	GGISISNGGYYWS	3A5.232 LCDR1	GGNNIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 5
3A5.232 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.232 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.232 HCDR3	LGNWFDY	3A5.232 LCDR3	QVWLSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 48
3A5.232 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.232 VL D92L	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWLSSSDHVVFG GGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 49		
3A5.232 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNGGYYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.232 LC D92L	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHD DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWLSSSDHVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 50		
Антитело 3A5.276			
3A5.276 HCDR1	GGISISNGGYYWS	3A5.276 LCDR1	GGNNIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 5
3A5.276 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.276 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7

3A5.276 HCDR3	LGNWFDY	3A5.276 LCDR3	QVWDSSSDSVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 51
3A5.276 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFDYWGQGTLLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.276 VL H95bS	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDSVVFG GGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 52		
3A5.276 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPVEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.276 LC H95bS	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDSVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 53		
Антитело 3A5.278			
3A5.278 HCDR1	GGGISNNGGYYS	3A5.278 LCDR1	GGNNIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 5
3A5.278 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.278 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.278 HCDR3	LGNWFDY	3A5.278 LCDR3	QVWDSSSDYVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 54
3A5.278 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFDYWGQGTLLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.278 VL H95bY	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVHDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDYVVFG GGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 55		
3A5.278 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYYSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCN		

	VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFYLSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG SEQ ID NO: 18		
3A5.278 LC H95bY	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGNSNGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDYVVF GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 56		
Антитело 3A5.279			
3A5.279 HCDR1	GGGISNGGYWS	3A5.279 LCDR1	GGNNIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 5
3A5.279 HCDR2	YIYSGSTY	3A5.279 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.279 HCDR3	LGNWFDY	3A5.279 LCDR3	QVWDSSSDVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 57
3A5.279 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 16		
3A5.279 VL H95bD	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGNSNGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDVVFG GGTKLTVLG SEQ ID NO: 58		
3A5.279 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFYLSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG SEQ ID NO: 18		
3A5.279 LC H95bD	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGNSNGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS SEQ ID NO: 59		
Антитело 3A5.294			
3A5.294 HCDR1	GGGISNGGYWS	3A5.294 LCDR1	GGNNIGSKNVY

	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 5
3A5.294 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.294 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.294 HCDR3	LGNWFDY	3A5.294 LCDR3	QVWDSSSDHVA
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 60
3A5.294 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.294 VL V97A	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVAFG GGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 61		
3A5.294 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDITLMISR TPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.294 LC V97A	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVAFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 62		
Антитело 3A5.302			
3A5.302 HCDR1	GGGISNGGYWS	3A5.302 LCDR1	GGNNIGSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 5
3A5.302 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.302 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.302 HCDR3	LGNWFDY	3A5.302 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 63
3A5.302 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASLG NWFYWGQGTLLTVSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.302 VL V97W	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVV GGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 64		

3A5.302 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.302 LC V97W	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVW GGGKLTTLVGLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV WKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVT HEGSTVEKTVAPTECS		
	SEQ ID NO: 65		
3A5.097			
3A5.097 HCDR1	GGGISNGGYWS	3A5.097 LCDR1	GGNNIDSKNVY
	SEQ ID NO: 4		SEQ ID NO: 66
3A5.097 HCDR2	YIYYSGSTY	3A5.097 LCDR2	DDSDRPS
	SEQ ID NO: 6		SEQ ID NO: 7
3A5.097 HCDR3	LGNWFDY	3A5.097 LCDR3	QVWDSSSDHVV
	SEQ ID NO: 8		SEQ ID NO: 15
3A5.097 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGTLTVTSS		
	SEQ ID NO: 16		
3A5.097 VL G29D	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIDSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLG		
	SEQ ID NO: 67		
3A5.097 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISNGGYWSWIRQHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLG NWFYDWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCN VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG		
	SEQ ID NO: 18		
3A5.097 LC G29D	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIDSKNVYWYQQKPGQAPVLVVDH DSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEVGDEADYSCQVWDSSSDHVVFG GGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS		

3A5.046 VH nucleotide Последовательность (synthetic)	SEQ ID NO: 68 CAGGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTGGTCAAGCCCAGCCA GACCGTGAGCCTGACCTGTACCGTGTCCGGCGGCAGCATCAGCAACGG CGGCTACTACTGGTCCTGGATCAGACAGCACCCCGGCAAGGGCCTGG AATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCCA GCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAG TTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGACACCCTGTGAC TACTGCGCCAGCCTGGGCAATTGGTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACC CTCGTGACAGTGTCTCA
Нуклеотидная последовательность в константной области 3A5.046 НС человека (синтетическая)	SEQ ID NO: 69 GCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCTTGTAGCAGA AGCACCAGCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGACTA CTTCCTCCGAGCCCGTACCGTGTCTTGAACAGCGGAGCCCTGACCAG CGCGGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCGCTGACAG CCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCAGCCTGGGCACCAAGA CCTACACCTGTAACGTGGACCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGCGGGTGAATCTAAGTACGGCCCCACCCTGCCCTGCTGCTGCC CCTGAATTTCTGGGCGGACCTCCGTGTTCCTGTTCCCTCCCAAGCCCA AGGACACCCTGTATATCACTCGGGAGCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCAGGAAGATCCCGAGGTCCAGTTCAATTGGTACGTGG ACGCGGTGGAAGTGACACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGGAAGACA GTTCAACAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCA GACTGGCTGAACGGCAAGAGTACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGG GCCTGCCAGCTCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG CCCCAGCAGCCTCAGGTGTACACACTGCCCCCAGCCAGGAAGAGAT GACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGCTTCTACCC CAGCGATATCGCGTGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACACA ACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCC TGTAATCCCGGTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAAC GTCTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACC CAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCTGGGC
Нуклеотидная последовательность в 3A5.046 VL (синтетическая)	SEQ ID NO: 70 AGCTACGTGTGACCCAGCCTCCTAGCGTGTCCGTGGCCCTGGCCAG ACCGCCAGAATCACCTGTGGCGGCAACAATCGGCAGCAAGAACGT GTACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCTGCTGGTGGTGCA CGACGACAGCGACAGCCAGCGGCATCCCCGAGCGGTTACAGCGGCA GCAACAGCGGCAATACCGCCACCCTGACCATCAGCCGGGTGGAAGTG GCGCAGCAGGCCGACTACAGCTGCCAGGTCTGGGACAGCAGCAGCGA CCACGTGGTGTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACCGTCTTAGGT
Нуклеотидная последовательность в константной области 3A5.046 LC человека (синтетическая)	SEQ ID NO: 71 CAGCCCCAAGGCCGCTCCAGCGTGACCCTGTTCCTCCCAAGCAGCGAG GAACTGCAGGCCAACAAGGCCACCCTGGTGTGCTGATACGCACTTC TACCCTGGGGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGATAGCAGCCCTGTG AAGGCCGGCGTGAAACCACCACCCCTCCAAGCAGAGCAACAACAA ATACGCCGCCAGCAGCTACCTGTCCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTC CCACCGGTCTACAGCTGCCAGGTGACACACGAGGGCAGCACCGTGG AAAAGACCGTGGCCCCCACCAGTGCAGC
	SEQ ID NO: 72

Воплощения.

Следующий список воплощений предназначен для дополнения, а не для искажения или замены предыдущих описаний.

Воплощение 1. Молекула человеческого антитела, которая иммуноспецифически связывается с IL-5 человека с равновесной константой аффинности (K_D), равной по меньшей мере около 40 пМ, которая определена поверхностным плазмонным резонансом.

Воплощение 2. Молекула антитела человека, которая иммуноспецифически связывается с IL-5 человека, причем молекула антитела включает: CDR1 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR2 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, CDR3 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 или 66, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 42 или 45, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, 48, 51, 54, 57, 60 или 63.

Воплощение 3. Молекула антитела по воплощению 1 или 2, где молекула антитела включает CDR1 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR2 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, CDR3 тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, и

а) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

Воплощение 9. Молекула антитела по воплощению 7, где молекула антитела включает мутацию S228P, мутацию M252Y, мутацию S254T, мутацию T256E и делецию С-концевого остатка лизина тяжелой цепи.

Воплощение 10. Молекула антитела по любому из предыдущих воплощений, где молекула антитела включает константную область тяжелой цепи IgG4 и константную область легкой цепи ламбда.

Воплощение 11. Молекула антитела по любому из предыдущих воплощений, где молекула антитела включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая идентична, по меньшей мере, на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 18 и

а) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19;

б) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 23;

с) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 26;

д) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 29;

е) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 32;

ф) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 35;

г) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 38;

h) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41;

и) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 44;

j) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 47;

к) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 50;

l) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 53;

m) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56;

н) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 59;

о) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 62;

р) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 65; или

q) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68.

Воплощение 12. Молекула антитела по любому из воплощений 1-10, где молекула антитела включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20 и легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 19.

Воплощение 13. Молекула антитела по воплощению 2 или воплощению 3, где молекула антитела представляет собой Fab-фрагмент, Pab2-фрагмент или одноцепочечное антитело.

Воплощение 14. Молекула антитела по любому из предыдущих воплощений, где молекула антитела обладает одним или несколькими из следующих свойств:

а) уменьшает связывание IL-5 с рецептором IL-5;

б) имеет период полувыведения в сыворотке по меньшей мере около 20 дней; или

с) связывает IL-5 человека и яванского макака, но не IL-5 мыши, крысы или морской свинки.

Воплощение 15. Молекула антитела по воплощению 2, где молекула антитела связывается с IL-5 человека с равновесной константой аффинности (K_D), по меньшей мере, около 40 pM, определенной поверхностным плазмонным резонансом.

Воплощение 16. Фармацевтическая композиция, содержащая молекулу антитела по любому из воплощений 1-15.

Воплощение 17. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая молекулу антитела по любому из воплощений 1-15.

Воплощение 18. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по воплощению 17.

Воплощение 19. Клетка, трансформированная для экспрессии молекулы антитела по любому из воплощений 1-15.

Воплощение 20. Способ лечения объекта, страдающего эозинофильной астмой, гиперэозинофильным синдромом, полипозом носа с эозинофильным поражением, эозинофильным гранулематозом с полиангиитом, atopическим дерматитом или эозинофильным эзофагитом, включающий введение объекту терапевтически эффективного количества молекулы антитела по любому из воплощений 1-15 или фармацевтической композиции по воплощению 16 для лечения эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным поражением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, atopического дерматита или эозинофильного эзофагита.

Воплощение 21. Применение эффективного количества молекулы антитела по любому из воплощений 1-15 или фармацевтической композиции по воплощению 16 для лечения эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным поражением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, atopического дерматита или эозинофильного эзофагита.

Воплощение 22. Применение молекулы антитела по любому из воплощений 1-15 или фармацевтической композиции по воплощению 16 при изготовлении лекарственного средства для лечения эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным поражением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, atopического дерматита или эозинофильного эзофагита.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Молекула антитела человека, которая иммуноспецифически связывается с IL-5 человека, причем молекула антитела включает: CDR1 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR2 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, CDR3 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39 или 66, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, 42 или 45, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15, 48, 51, 54, 57, 60 или 63.

2. Молекула антитела по п.1, отличающаяся тем, что молекула антитела включает CDR1 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, CDR2 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6, CDR3 тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8, и

а) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

б) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

в) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

г) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

д) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

е) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

ж) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

з) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

и) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

й) CDR1 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5, CDR2 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 42, и CDR3 легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15;

к) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 50;

л) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 53;

м) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56;

н) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 59;

о) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 62;

р) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 65; или

q) легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68.

11. Молекула антитела по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что молекула антитела включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 20 и легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% идентична аминокислотной кислотная последовательности SEQ ID NO: 19.

12. Молекула антитела по п.1 или 2, отличающаяся тем, что молекула антитела представляет собой Fab-фрагмент, Fab2-фрагмент или одноцепочечное антитело.

13. Молекула антитела по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что молекула антитела обладает одним или несколькими из следующих свойств:

а) уменьшает связывание IL-5 с рецептором IL-5;

б) имеет период полужизни в сыворотке по меньшей мере около 20 дней; или

с) связывает IL-5 человека и яванского макака, но не IL-5 мыши, крысы или морской свинки.

14. Молекула антитела по п.1, отличающаяся тем, что молекула антитела связывается с IL-5 человека с равновесной константой аффинности (K_D), равной по меньшей мере около 40 пМ, которая определена поверхностным плазмонным резонансом.

15. Фармацевтическая композиция, содержащая молекулу антитела по любому из пп.1-14.

16. Молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая молекулу антитела по любому из пп.1-14.

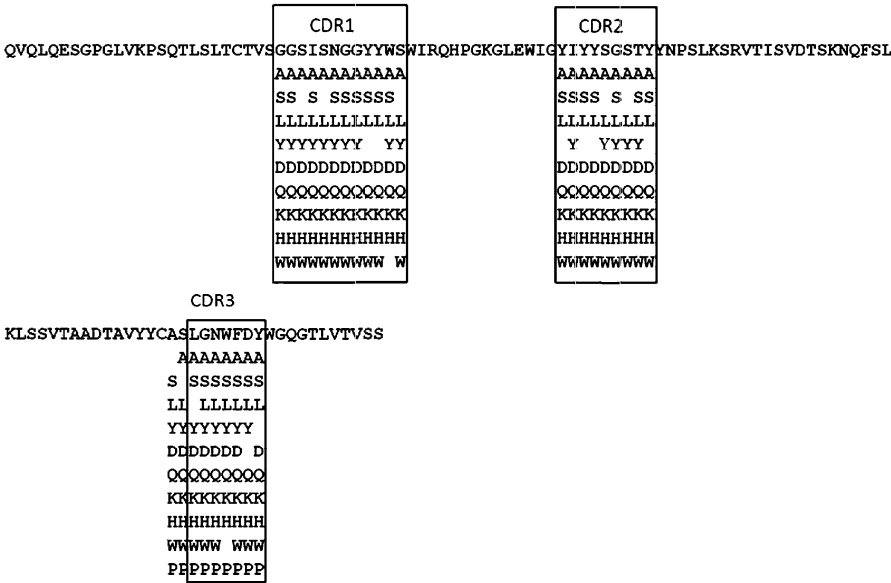
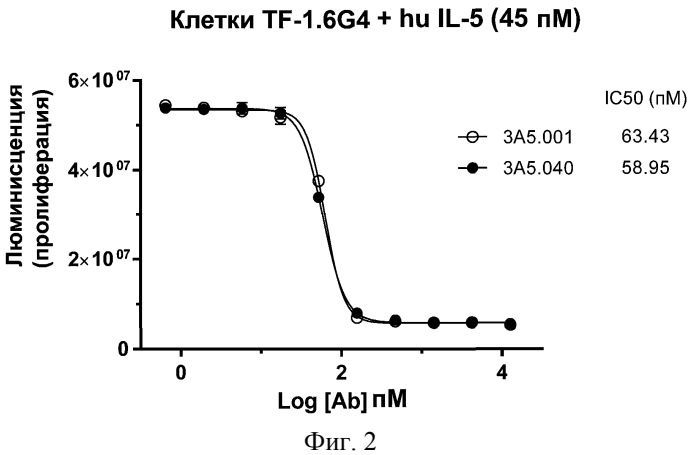
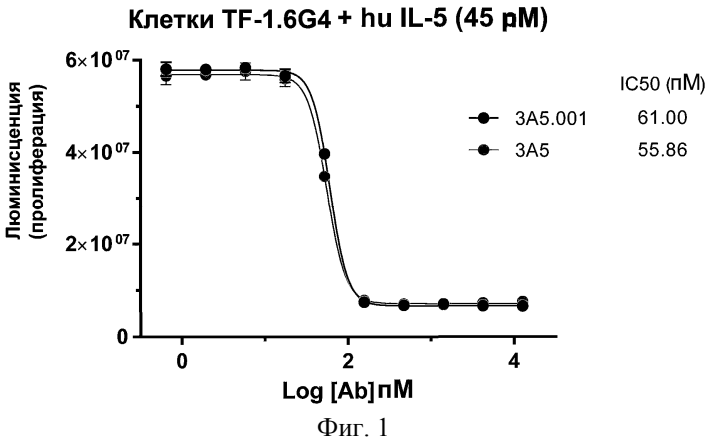
17. Вектор, включающий молекулу нуклеиновой кислоты по п.16.

18. Клетка, трансформированная для экспрессии молекулы антитела по любому из пп.1-14, содержащая вектор по п.17 или молекулу нуклеиновой кислоты по п.16.

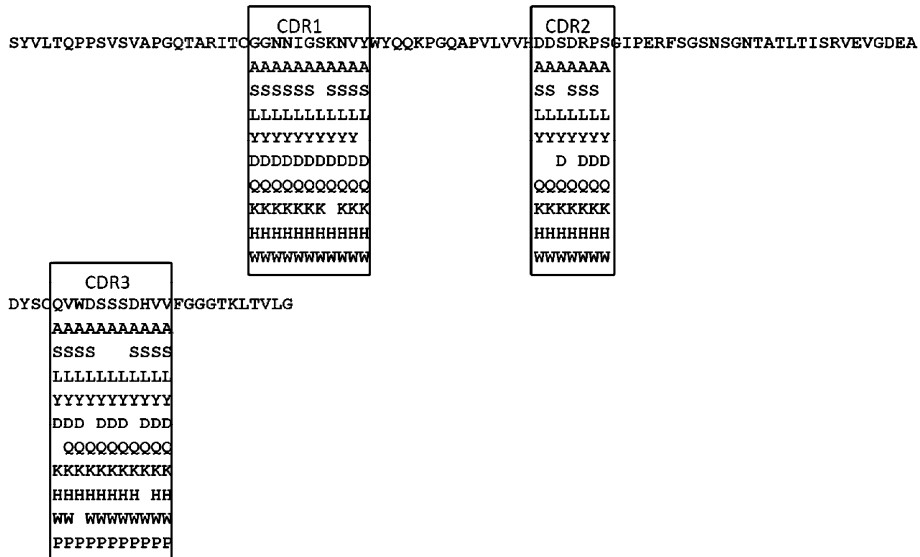
19. Способ лечения субъекта, страдающего эозинофильной астмой, гиперэозинофильным синдромом, полипозом носа с эозинофильным поражением, эозинофильным гранулематозом с полиангиитом, atopическим дерматитом или эозинофильным эзофагитом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества молекулы антитела по любому из пп.1-14 или фармацевтической композиции по п.15 для лечения эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным поражением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, atopического дерматита или эозинофильного эзофагита.

20. Применение эффективного количества молекулы антитела по любому из пп.1-14 или фармацевтической композиции по п.15 при лечении эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным вовлечением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, atopического дерматита или эозинофильного эзофагита.

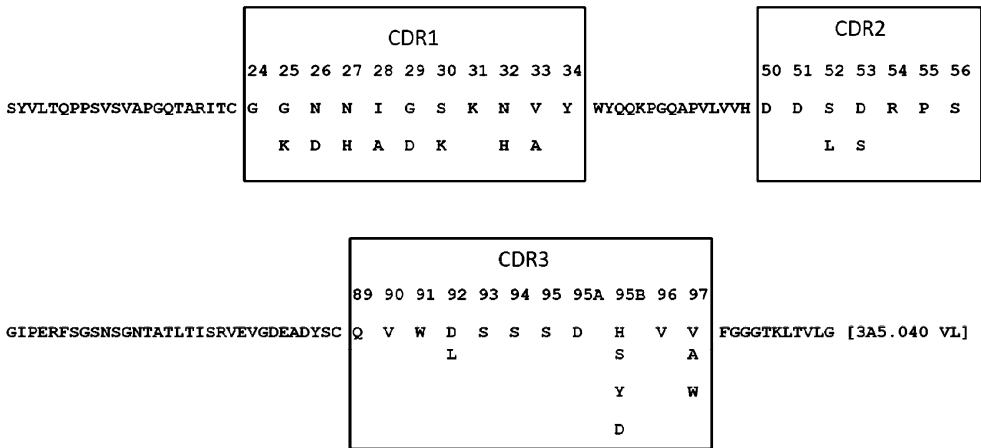
21. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-14 или фармацевтической композиции по п.15 при изготовлении лекарственного средства при лечении эозинофильной астмы, гиперэозинофильного синдрома, полипоза носа с эозинофильным вовлечением, эозинофильного гранулематоза с полиангиитом, atopического дерматита или эозинофильного эзофагита.



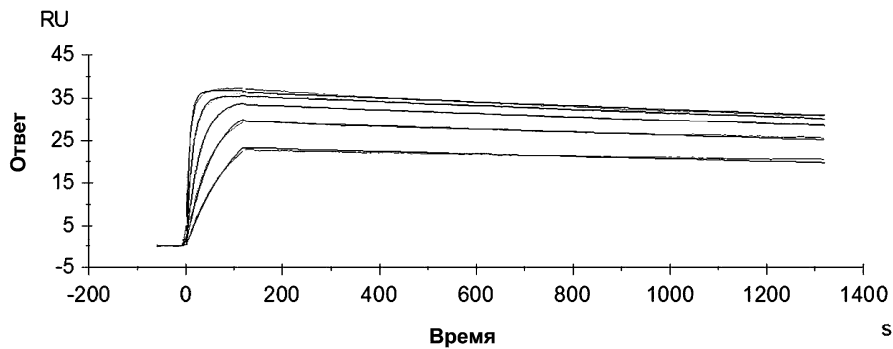
Фиг. 3



Фиг. 4

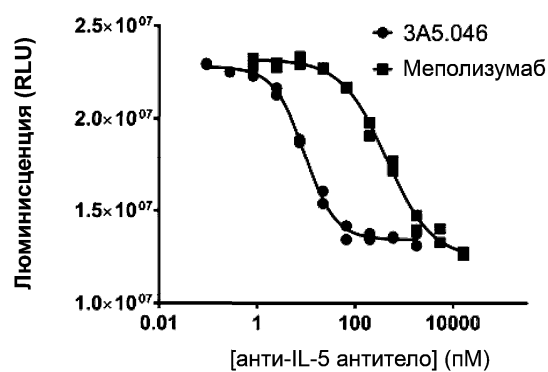


Фиг. 5



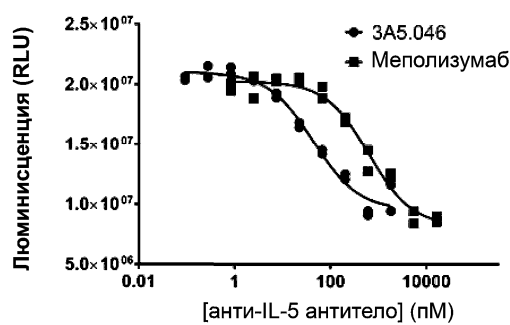
Фиг. 6

Пролиферация TF-1.6G4 с IL-5 человека

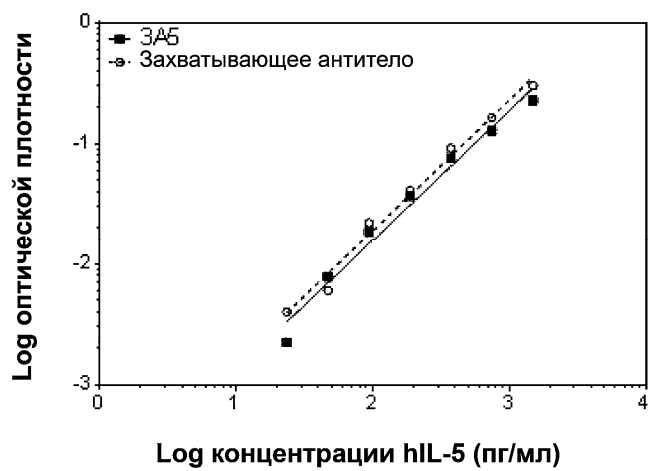


Фиг. 7А

Пролиферация TF-1.6G4 с IL-5 яванского макака

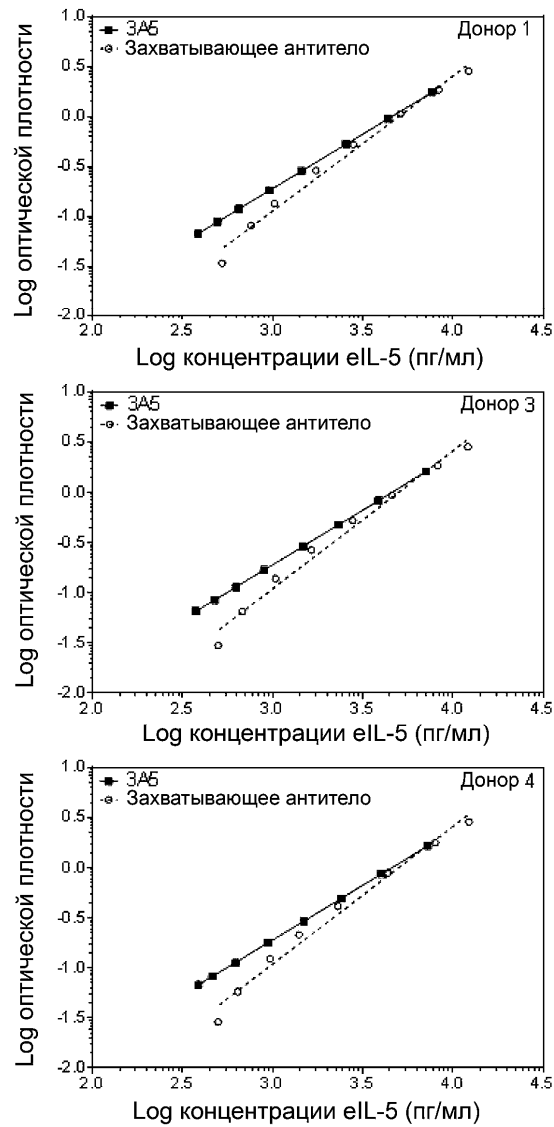


Фиг. 7В

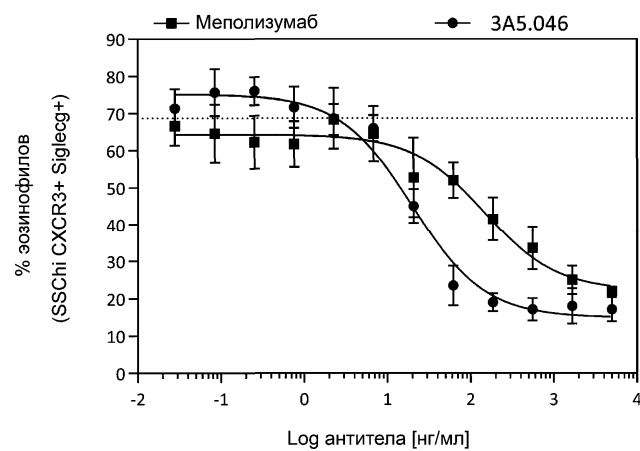


Фиг. 8А

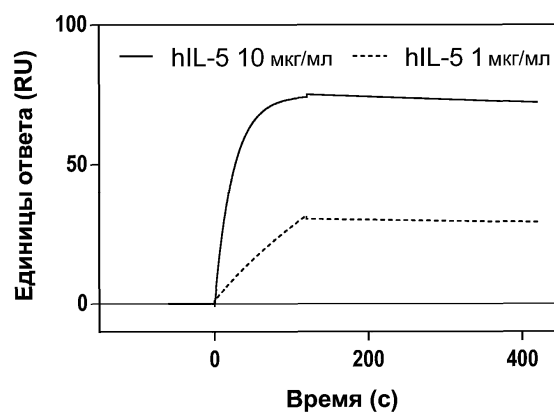
**Эндогенный IL-5 в надосадочной
жидкости из CD3/CD28/IL33-
активированных CD4 T-клеток**



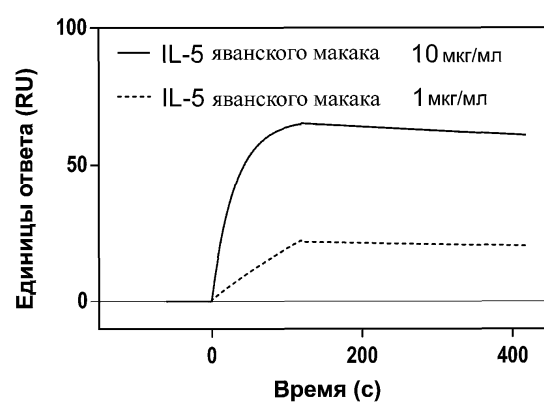
Фиг. 8В



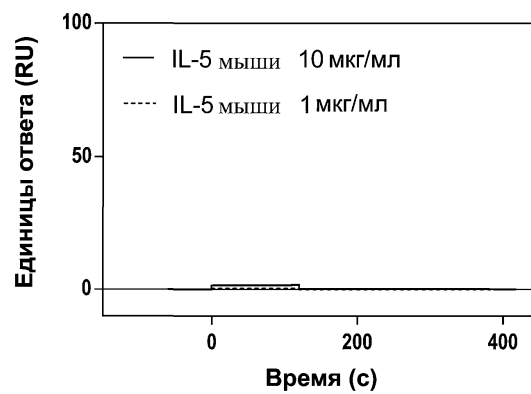
Фиг. 9

IL-5 человека

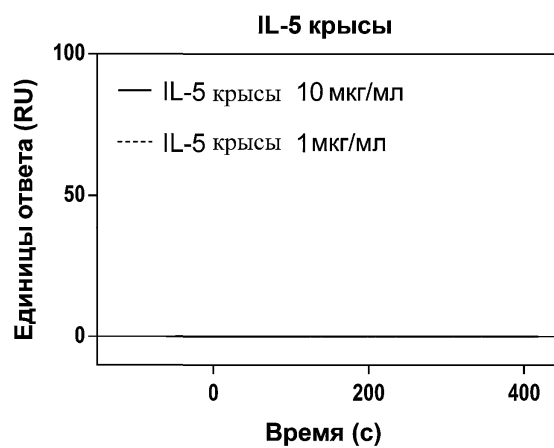
Фиг. 10А

IL-5 яванского макака

Фиг. 10В

IL-5 мыши

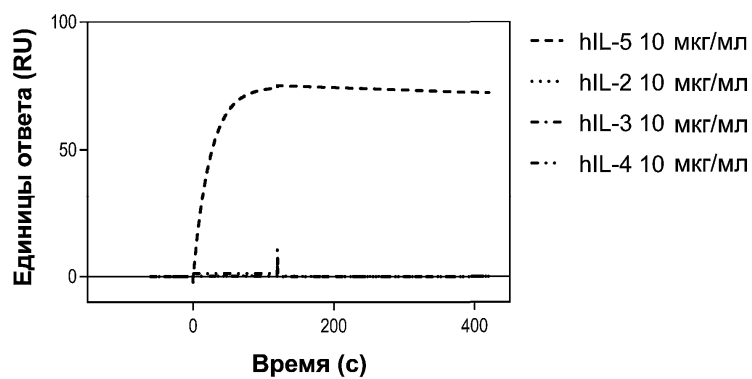
Фиг. 10С



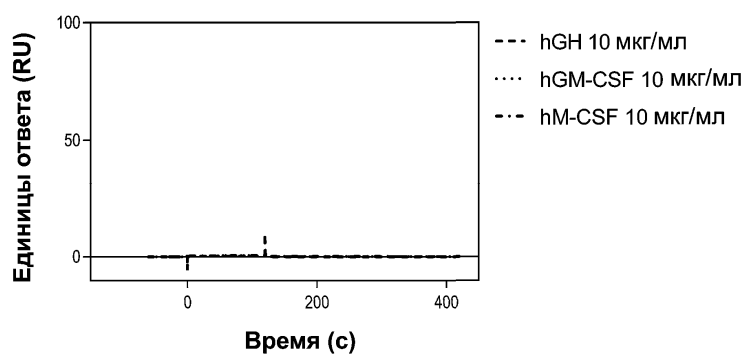
Фиг. 10D



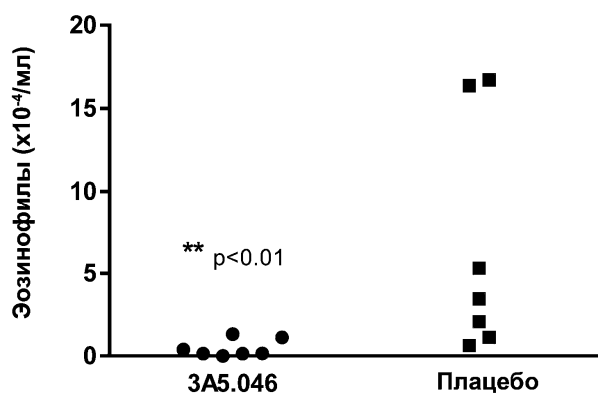
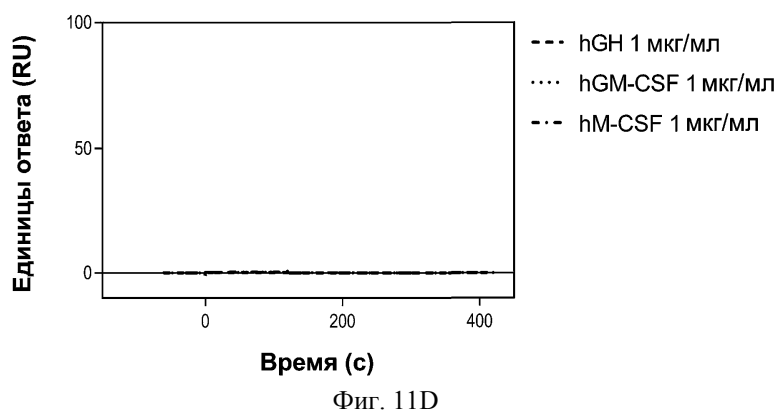
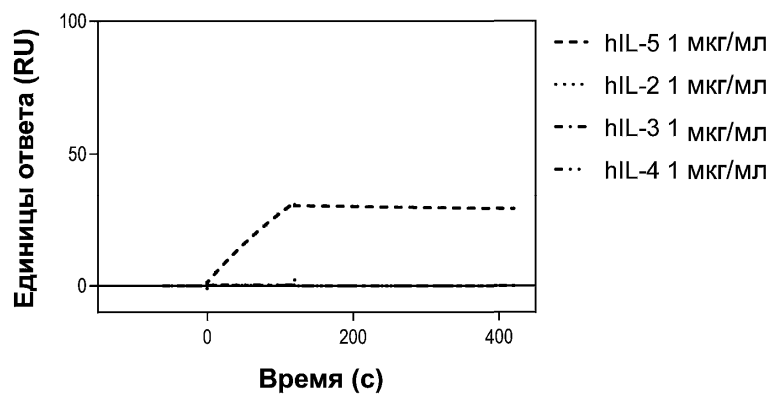
Фиг. 10E



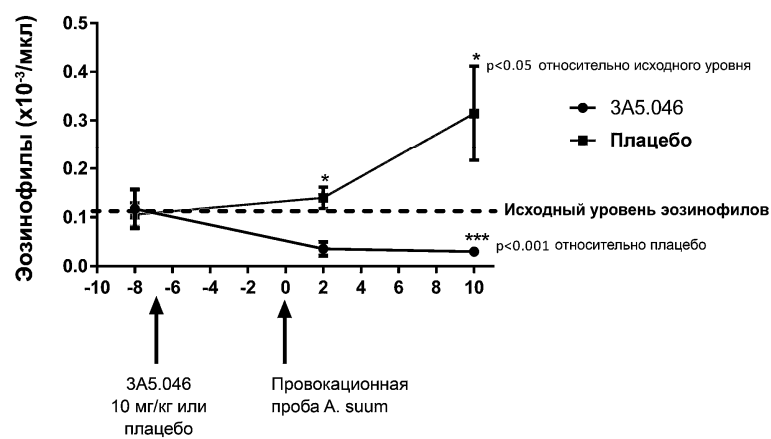
Фиг. 11A



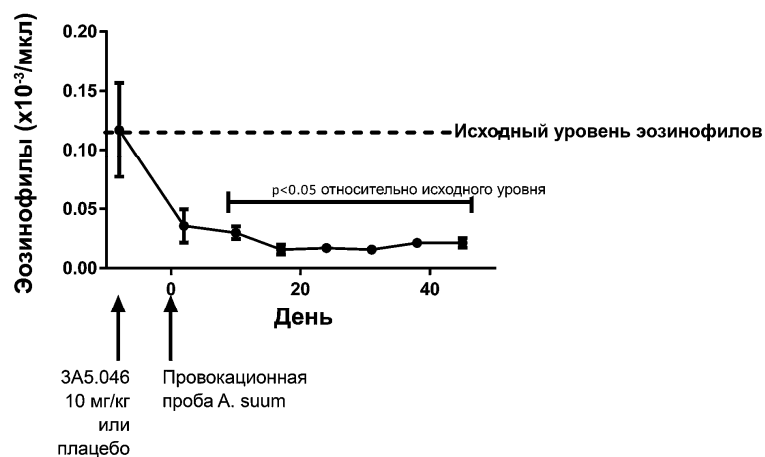
Фиг. 11B



Фиг. 12

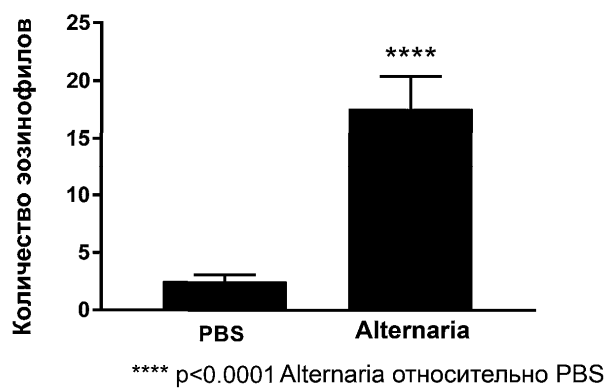


Фиг. 13А



Фиг. 13В

Эозинофилы в BALF



Фиг. 14

