

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **030436**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2018.08.31

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

(21) Номер заявки
201300530

(22) Дата подачи заявки
2011.11.02

(54) АНТИТЕЛА К IL-23p19 ИЛИ ИХ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ФРАГМЕНТЫ, ИХ ПРИМЕНЕНИЕ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ЭТИ АНТИТЕЛА, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ПОЛИНУКЛЕОТИДЫ, ЭКСПРЕССИОННЫЕ ВЕКТОРЫ И КЛЕТКИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИТЕЛ

(31) 61/410,158; 61/411,953; 61/412,594;
61/448,785

(56) WO-A2-2007027714
WO-A2-2007005955
WO-A2-2007024846

(32) 2010.11.04; 2010.11.10; 2010.11.11;
2011.03.03

CHAN ANDREW C. ET AL.: "Therapeutic antibodies for autoimmunity and inflammation", NATURE REVIEWS. IMMUNOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 10, no. 5, 1 May 2010 (2010-05-01), pages 301-316, XP002665072, ISSN: 1474-1733, DOI: 10.1038/NRI2761

(33) US

(43) 2013.12.30

(86) PCT/US2011/058869

(87) WO 2012/061448 2012.05.10

ALEGRE M.-L. ET AL.: "A NON-ACTIVATING HUMANIZED ANTI-CD3 MONOCLONAL ANTIBODY RETAINS IMMUNOSUPPRESSIVE PROPERTIES IN VIVO", TRANSPLANTATION, WILLIAMS AND WILKINS, BALTIMORE US, vol. 57, no. 11, 1 June 1994 (1994-06-01), pages 1537-1543, XP008036788, ISSN: 0041-1337

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:
**Баррет Рейчел Ребекка, Кэнеде Кейт,
Катрон Катрина Мэри, Коупнхейвер
Роберт, Фрего Ли Эдуард, Реймонд
Эрнст Ли, Сингх Санджая, Чжу
Сяньгян (US)**

WOODLE E. STEVE ET AL.: "Phase I trial of a humanized, Fc receptor nonbinding OKT3 antibody, huOKT3gamma1(Ala-Ala) in the treatment of acute renal allograft rejection", TRANSPLANTATION, WILLIAMS AND WILKINS, BALTIMORE US, vol. 68, no. 5, 15 September 1999 (1999-09-15), pages 608-616, XP009134473, ISSN: 0041-1337
WO-A2-2006036922

(74) Представитель:
**Веселицкая И.А., Кузенкова Н.В.,
Веселицкий М.Б., Каксис Р.А.,
Белоусов Ю.В., Куликов А.В.,
Кузнецова Е.В. (RU)**

(57) Изобретение относится к антителам к IL-23p19 или их антигенсвязывающему фрагменту, который содержит: а) вариabельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (CDR2-L) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); и б) вариabельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, 66, 67 или 68 (CDR1-H); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (CDR2-H) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (CDR3-H), а также их получению и применению. Оно также относится к кодирующим их полинуклеотидам, обеспечивающим экспрессию указанных антител и их фрагментов векторам и клеткам-хозяевам, к содержащим их фармацевтическим композициям, предназначенным для лечения воспалительного заболевания, аутоиммунного заболевания, респираторного заболевания, метаболического нарушения или рака.

B1**030436****030436 B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится в целом к антителам к IL-23p19, предназначенным для диагностического и терапевтического применения. Более конкретно, описаны моноклональные антитела к IL-23p19 и способы их применения для лечения различных заболеваний или нарушений. Описаны также фармацевтические композиции, содержащие указанные соединения.

Предпосылки создания изобретения

У высших эукариотических организмов в процессе эволюции развился сложный ответ на патогены, который сначала проявляется в виде врожденного иммунного ответа, после чего запускается адаптивный иммунный ответ. В сочетании друг с другом эти два механизма не только уничтожают патогены, которые заражают организм, но и создают также долговременный иммунологический ответ против последующих воздействий. Дефицит указанных ответов может приводить к повышенной чувствительности к инфекциям и/или изменениям адаптивного иммунного ответа, что приводит к хроническому воспалению и аутоиммунитету. IL-12, гетеродимерный цитокин, состоящий из белковых субъединиц p40 и p35, в течение многих лет рассматривался как цитокин, являющийся отличительным признаком врожденного иммунного ответа, который оказывает очень большое влияние на адаптивный иммунитет. Однако данные исследований биологической роли этого цитокина привели к неоднозначным результатам. Например, в то время как мыши с дефицитом p40 обладали устойчивостью к индуцированному коллагеном артритом (CIA) и экспериментальному аутоиммунному энцефаломиелиту (EAE), мыши с дефицитом p35 обладали чувствительностью к обоим заболеваниям, и у них отмечалось даже обострение болезни. Указанные "загадки" начали разрешаться с открытием в конце 1990-х годов нового представителя семейства IL-12-цитокинов, играющего особую роль в иммунном ответе, а именно IL-23.

IL-23 состоит из общей с IL-12 субъединицы (p40) и уникальной субъединицы p19. Несмотря на присутствие общей субъединицы p40, роли IL-23 и IL-12 являются совершенно различными. IL-12 играет важную роль для Th1-ответов посредством усиления дифференцировки, пролиферации и активации Th1-клеток. В противоположность этому IL-23 обеспечивает развитие и поддержание недавно обнаруженной популяции CD4⁺-Т-клеток-хелперов, обозначенных как Th17-клетки, из-за их способности продуцировать IL-17 и родственные цитокины. Имеются убедительные данные о том, что IL-23 принимает участие в хроническом аутоиммунном воспалении, и модуляция активности IL-23 может представлять собой перспективный терапевтический подход к лечению аутоиммунных заболеваний.

Таким образом, существует необходимость в обладающих ценными фармакологическими свойствами молекулах-антагонистах IL-23, которые можно применять в качестве терапевтических средств для лечения заболеваний, в частности иммунологических и аутоиммунных заболеваний у людей.

Таким образом, одна из задач, положенных в основу настоящего изобретения, заключалась в том, чтобы разработать анти-IL-23 антагонистические молекулы, в частности анти-IL-23 антагонистические молекулы, которые обладают высокой аффинностью связывания с IL-23.

Следующая задача, положенная в основу настоящего изобретения, заключалась в том, чтобы разработать анти-IL-23 антагонистические молекулы, которые обладают высокой специфичностью в отношении IL-23.

Следующая задача, положенная в основу настоящего изобретения, заключалась в том, чтобы разработать анти-IL-23 антагонисты, которые обладают высокой блокирующей активностью в отношении ассоциации IL-23 с его рецептором.

Следующая задача, положенная в основу настоящего изобретения, заключалась в том, чтобы разработать анти-IL-23 антагонисты, которые обладают эффективной клеточной активностью.

Следующая задача, положенная в основу настоящего изобретения, заключалась в том, чтобы разработать анти-IL-23 антагонисты, которые обладают предпочтительной биодоступностью.

Следующая задача, положенная в основу настоящего изобретения, заключалась в том, чтобы разработать анти-IL-23 антагонисты, которые обладают предпочтительными биофизическими свойствами.

Следующими задачами, положенными в основу настоящего изобретения, являются комбинации любых из указанных выше задач.

Краткое изложение сущности изобретения

Изобретение направлено на решение указанных выше задач и в нем предложены антитела, которые связываются с субъединицей p19 белка IL-23.

Согласно одному из объектов изобретения предложено антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (CDR2-L) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); и переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, 66, 67 или 68 (CDR1-H); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (CDR2-H) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

В предпочтительном варианте антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (CDR2-L) и аминокислотную после-

довательность SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63 (CDR1-H); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (CDR2-H) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

Кроме того, антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент может содержать вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (CDR2-L) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66 (CDR1-H); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (CDR2-H) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

Еще в одном предпочтительном варианте осуществления изобретения антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (CDR3-L) и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67 (CDR1-H); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (CDR2-H) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

Изобретение, предпочтительно, также относится к антителу к IL-23p19 или его антигенсвязывающему фрагменту, который содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (CDR2-L) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 68 (CDR1-H); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (CDR2-H) и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

Кроме того, в еще одном предпочтительном варианте антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент может включать вариабельную область легкой цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 158, 160, 162 или 164; и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую любую из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 166, 168, 170 или 172.

В наиболее предпочтительном варианте антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, или вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168, или вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, и вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168. В наиболее предпочтительном варианте антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166 или 168, связанную с константной областью тяжелой цепи человеческого IgG₁; и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158 или 160, связанную с константной областью легкой каппа-цепи.

При этом самым предпочтительным является антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент, который содержит:

а) вариабельную область гуманизированной легкой цепи, содержащую CDR-участки из SEQ ID NO: 158 или 160, и каркасные участки, имеющие аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности каркасных участков вариабельной области легкой цепи, которая имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158 или 160;

б) вариабельную область гуманизированной тяжелой цепи, содержащей CDR-участки из SEQ ID NO: 166 или 168, и каркасные участки, имеющие аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности каркасных участков вариабельной области тяжелой цепи, которая имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166 или 168.

Заявленное антитело может представлять собой моноклональное антитело.

Причем в предпочтительном варианте осуществления данного изобретения моноклональное антитело к IL-23p19 содержит легкую цепь, которая включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174 или 180, и тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176 или 178.

Вторым объектом данного изобретения является моноклональное антитело к IL-23p19, которое содержит легкую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174, и тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176, или легкую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174, и тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178, или легкую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180, и тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 176, или легкую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180, и тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178.

Третьим объектом данного изобретения является применение заявленного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента для лечения воспалительного заболевания, аутоиммунного заболевания, респираторного заболевания, метаболического нарушения или рака.

В частности, с их помощью можно лечить псориаз, воспалительное заболевание кишечника, псориатический артрит, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, болезнь Крона или анкилозирующий спондилит, а также астму или хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ).

Еще одним объектом данного изобретения является фармацевтическая композиция для лечения воспалительного заболевания, аутоиммунного заболевания, респираторного заболевания, метаболического нарушения или рака, содержащая казанное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент и фармацевтически приемлемый носитель.

Изобретение, кроме того, относится к выделенному полинуклеотиду, содержащему последовательность, которая кодирует вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, или вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела.

Причем в предпочтительном варианте выделенный полинуклеотид содержит последовательность, которая кодирует легкую цепь антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174 или 180, или же последовательность, которая кодирует тяжелую цепь антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176 или 178.

В заявке описан экспрессионный вектор, включающий заявленный полинуклеотид и клетка-хозяин, предназначенная для получения заявленного антитела, которая включает:

а) выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, 160, 162 или 164;

б) выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, 168, 170 или 172.

В предпочтительном варианте клетка-хозяин содержит указанный выделенный полинуклеотид по а), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160, и указанный выделенный полинуклеотид по б), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, или указанный выделенный полинуклеотид по а), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160, и указанный выделенный полинуклеотид по б), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168, или указанный выделенный полинуклеотид по а), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, и указанный выделенный полинуклеотид по б), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, или указанный выделенный полинуклеотид по а), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, и указанный выделенный полинуклеотид по б), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168.

В еще одном предпочтительном варианте клетка-хозяин может включать:

а) выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует легкую цепь антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174 или 180, и

б) выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует тяжелую цепь антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176 или 178.

В самом предпочтительном варианте указанный выделенный полинуклеотид по а) предложенной клетки включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174, и указанный выделенный полинуклеотид по б), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176, или указанный выделенный полинуклеотид по а), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174, и указанный выделенный полинуклеотид по б), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178.

Указанный выделенный полинуклеотид по а) заявленной клетки-хозяина может включать последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180, и указанный выделенный полинуклеотид по б), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176, или же указанный выделенный полинуклеотид по а), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180, и указанный выделенный полинуклеотид по б), который включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178.

Наконец, последним объектом данного изобретения является способ получения заявленных антитела или антигенсвязывающего фрагмента, включающий:

- а) получение указанной клетки-хозяина;
- б) ее культивирование;
- с) выделение и очистку антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

Краткое описание чертежей

На чертежах показано

на фиг. 1 - сравнительный анализ первичной структуры мышиной и гуманизованных вариабельных областей; на фиг. 1а - антитело к IL-23p19 6B8 со сконструированными V_k-областями; на фиг. 1б - антитело к IL-23p19 6B8 со сконструированными V_H-областями. Нумерация аминокислот соответствует стандартной системе нумерации Кэбота. Обычным шрифтом обозначены участки человеческой последовательности; курсивом/подчеркнутым шрифтом участки мышиной последовательности; затемненным шрифтом участки синтетической последовательности; жирным шрифтом/курсивом/подчеркнутым шрифтом обозначены CDR;

на фиг. 2 - результаты анализа связывания в конкурентных условиях человеческого IL-23 с IL-23R/Fc.

Подробное описание изобретения

Субъединица p19 IL-23 (которую обозначают также как "IL-23p19" и "субъединица p19") представляет собой состоящий из 189 аминокислот полипептид, содержащий состоящую из 21 аминокислоты (ак) лидерную последовательность (Orpmann и др., Immunity 13, 2000, с. 715, SEQ ID NO: 181). Биологическую активность этой молекулы можно обнаружить только после ее спаривания с субъединицей IL-12p40 с образованием IL-23. IL-23 экспрессируется главным образом активированными дендритными клетками (DC) и фагоцитарными клетками. Установлено, что рецептор IL-23 состоит из субъединицы IL-12Rβ1 IL-12-рецептора, спаренной с уникальной субъединицей, обозначенной как IL-23R (Parham и др., J. Immunol. 168, 2002, с. 5699). Экспрессия рецептора главным образом имеет место на Т-клетках памяти и NK-клетках. Таким образом, экспрессия указанной пары цитокин:рецептор, вероятно, ограничена конкретными популяциями иммунных клеток. Хотя сначала предполагалось, что IL-12 и IL-23 могут обладать общими функциями, получены данные, свидетельствующие о том, что картина является другой. В то время как IL-12 играет основную роль в производстве Th1-клеток, установлено, что IL-23 играет решающее значение в производстве и поддержании недавно обнаруженной подпопуляции Th-клеток, обозначенных как Th17 (Kikly и др., Curr. Opin. Immunol. 18, 2006, с. 670, Kastelein и др., Ann. Rev. Immunol. 25, 2007, с. 221). Эти клетки продуцируют IL-17A, IL-17F, IL-22 и другие провоспалительные цитокины, такие как IL-6 и TNF-α. Как будет описано ниже, изучение на животных моделях роли указанных Th17-клеток продемонстрировало их важность в качестве "движущей силы" при хроническом воспалении и аутоиммунитете.

"Лидерные" мышинные антитела выводят из мышинных гибридом. Иммунизацию мышей осуществляют с использованием различных методик. Например, антитела, специфические в отношении человеческих белков IL-23p19 или их фрагментов, могут вырабатываться против иммуногенного антигена, такого как выделенный белок IL-23p19, выделенный белок IL-23, выделенный гибридный белок IL-23 и/или фрагмент любого из указанных выше белков (включая синтетические пептиды). Например, для иммунизации мышей используют гибридный белок IL-23, содержащий мышинную субъединицу IL-23p40 и человеческую субъединицу IL-23p19. Для получения иммуногенных антигенов и производства моноклональных антител можно применять любую приемлемую методику, известную в данной области.

"Лидерные" мышинные антитела выбирали на основе их высокой аффинности к человеческому IL-23. Отобранные мышинные антитела гуманизировали с получением гуманизованных антител. Гуманизованные антитела связываются с человеческим IL-23 с высокой аффинностью.

Заявленное антитело к IL-23p19 характеризуется величиной K_D, составляющей менее чем 40 пМ или менее чем 20 пМ, или менее 10 пМ, или менее чем 1 пМ.

Оно связывается с IL-23p19 с высокой аффинностью в отсутствие человеческой сыворотки или в присутствии 50% человеческой сыворотки, связывается с IL-23, но не связывается с IL-12, и не оказывает интерферирующего воздействия на биологическую активность IL-12, который является близкородственным к IL-23 представителем семейства.

Антитело согласно изобретению ингибирует стимулированное IL-23 производство IL-17 мышинными спленоцитами, а гуманизованное антитело ингибирует индуцируемое IL-23 фосфорилирование STAT3 в DB-клетках и антагонизирует действие IL-23 посредством связывания с субъединицей p19 IL-23, например, при оценке по ингибированию цитокинов, таких как IL-17 и IL-22, производство которых стимулируется IL-23, и что определяют по снижению уровней указанных цитокинов. Оно обладает предпочтительным фармакокинетическим (ФК) профилем, например временем полужизни *in vivo* в организме обезьян циномолгус и предпочтительными биофизическими свойствами, такими, например, как качество, стабильность или растворимость.

Итак, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предлагаемое/предлагаемый в настоящем изобретении, специфически распознает "антигенный эпитоп IL-23p19" или "эпитоп IL-23p19". В контексте настоящего описания эти понятия относятся к молекуле (например, пептиду) или фрагменту молекулы, которая/который обладает способностью к иммунологической реакции с антителом к IL-23p19, и, например, включает антигенную детерминанту IL-23p19, распознаваемую любым из антител, имеющих следующую комбинацию последовательностей легкой цепи/тяжелой цепи: SEQ ID NO: 84/121, 86/123, 88/125, 90/127, 91/128, 93/130, 95/132, 97/134, 99/136, 101/138, 103/140, 105/142, 107/144, 109/146, 111/148, 113/150, 115/152, 117/154, 119/156, 160/166, 160/168, 158/166 или 158/168. Антигенные эпитопы IL-23p19 могут быть включены в белки, белковые фрагменты, пептиды и т.п. Эпитопы в большинстве случаев представляют собой белки, короткие олигопептиды, миметики олигопептидов (например, органические соединения, которые имитируют связывающую способность антигена IL-23p19) или их комбинации. Считается, что минимальный размер пептидного или полипептидного эпитопа для антитела должен составлять примерно 4-5 аминокислот. Пептидные или полипептидные эпитопы содержат, например, по меньшей мере семь аминокислот, или, например, по меньшей мере девять аминокислот, или, например, от примерно 15 до примерно 20 аминокислот. Поскольку антитело может распознавать антигенный пептид или полипептид в его третичной форме, то не требуется, чтобы аминокислоты, входящие в эпитоп, были смежными, в некоторых случаях они могут даже не находиться на одной и той же пептидной цепи. Эпитопы можно определять с помощью различных методик, известных в данной области, таких как рентгеновская кристаллография, масс-спектрометрия дейтеро/водородного обмена (HXMS), сайтнаправленный мутагенез, аланин-сканирующий мутагенез и методы пептидного скрининга.

Общая структура антител или иммуноглобулина хорошо известна специалистам в данной области. Эти молекулы представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины, как правило с молекулярной массой примерно 150000 Да, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей, и, как правило, их обозначают как полноразмерные антитела. Каждая легкая цепь ковалентно связана с тяжелой цепью с помощью одной дисульфидной связи с образованием гетеродимера, и гетеротетрамерная молекула образуется посредством ковалентной дисульфидной связи между двумя идентичными тяжелыми цепями гетеродимеров. Хотя легкие и тяжелые цепи связаны с помощью одной дисульфидной связи, количество дисульфидных связей между двумя тяжелыми цепями варьируется в зависимости от изотипа иммуноглобулина. Каждая тяжелая и легкая цепь имеет также равномерно распределенные внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая тяжелая цепь имеет аминоконцевой вариабельный домен (V_H), за которым расположены три или четыре константных домена (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} и C_{H4}), а также шарнирный участок между C_{H1} и C_{H2} . Каждая легкая цепь имеет два домена, аминоконцевой вариабельный домен (V_L) и карбоксиконцевой константный домен (C_L). V_L -домен нековалентно связан с V_H -доменом, а C_L -домен, как правило, ковалентно связан с C_{H1} -доменом через дисульфидную связь. Считается, что определенные аминокислотные остатки образуют поверхность раздела между вариабельными областями легких и тяжелых цепей (Chothia и др., *J. Mol. Biol.* 186, 1985, сс. 651-663). В контексте настоящего описания вариабельные домены обозначают также как вариабельные области.

Определенные участки в вариабельных доменах значительно различаются у различных антител, т.е. они являются "гипервариабельными". Эти гипервариабельные участки содержат остатки, которые непосредственно участвуют в связывании и определяют специфичность каждого конкретного антитела в отношении специфической для него антигенной детерминанты. Гипервариабельность в вариабельных доменах, как легкой цепи, так и тяжелой цепи, концентрируется в трех сегментах, которые обозначают как определяющие комплементарность участки (гипервариабельные участки) (CDR) или гипервариабельные петли (HVL). CDR определяют путем сравнения последовательностей согласно методу, описанному у Kabat и др. в: *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5-е изд., изд-во Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991, а HVL (которые обозначают также как CDR) структурно определяют на основе трехмерной структуры вариабельного домена согласно методу, описанному у Chothia и Lesk, *J. Mol. Biol.* 196, 1987, сс. 901-917. Эти два метода приводят к некоторым различиям при идентификации CDR. Согласно номенклатуре Кэбота CDR-L1 расположен примерно на остатках 24-34, CDR-L2 примерно на остатках 50-56 и CDR-L3 примерно на остатках 89-97 в вариабельном домене легкой цепи; CDR-H1 расположен примерно на остатках 31-35, CDR-H2 примерно на остатках 50-65 и CDR-H3 примерно на остатках 95-102 в вариабельном домене тяжелой цепи. Точные номера остатков, которые образуют конкретный CDR, должны варьироваться в зависимости от последовательности и размера CDR. Специалисты в данной области могут на основе аминокислотной последовательности вариабельной об-

ласти антитела с использованием общепринятых методов определять, какие остатки содержатся в конкретном CDR. Таким образом, CDR1, CDR2, CDR3 тяжелых и легких цепей определяют уникальные и функциональные свойства, специфические для данного антитела.

Три CDR в каждой из тяжелых и легких цепей разделены каркасными участками (FR), которые содержат последовательности, в меньшей степени имеющие тенденцию к варибельности. Начиная с аминоконца по направлению к карбоксиконцу варибельных доменов тяжелых и легких цепей FR и CDR упорядочены следующим образом: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. В значительной степени β -складчатая конформация FR позволяет CDR в каждой из цепей находиться в непосредственной близости друг с другом, а также с CDR из другой цепи. Полученная конформация присуща антигенсвязывающему центру (см. Kabat и др., NIH Publ. №91-3242, т.1, 1991, сс.647-669), хотя не является необходимым условием, чтобы все остатки CDR непосредственно участвовали в связывании антигена.

Остатки FR и константные домены Ig не вовлечены непосредственно в связывание антигена, но участвуют в связанной с антигеном и/или опосредуемой антигеном эффекторной функции. Некоторые остатки FR, вероятно, оказывают выраженное воздействие на связывание антигена по меньшей мере тремя путями: путем нековалентного связывания непосредственно с эпитопом, путем взаимодействия с одним или несколькими остатками CDR и путем влияния на поверхность раздела тяжелыми и легкими цепями. Константные домены не участвуют непосредственно в связывании антигена, но опосредуют различные эффекторные функции Ig, такие как участие антитела в антитело-обусловленной клеточнозависимой цитотоксичности (ADCC), комплементзависимой цитотоксичности (CDC) и антитело-обусловленном клеточном фагоцитозе (ADCP).

Легкие цепи иммуноглобулинов позвоночных животных относят к одному из двух четко различимых классов, каппа (κ) и лямбда (λ), на основе аминокислотной последовательности константного домена. Для сравнения, тяжелые цепи иммуноглобулинов млекопитающих относят к одному из пяти основных классов с учетом последовательности константных доменов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. IgG и IgA дополнительно подразделяют на подклассы (изотипы), например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂. Константные домены тяжелых цепей, которые соответствуют различным классам иммуноглобулинов, обозначают как α , δ , ϵ , γ и μ соответственно. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации классов нативных иммуноглобулинов хорошо известны.

Понятия "антитело", "антитело к IL-23p19", "гуманизированное антитело к IL-23p19", "гуманизированное антитело к эпитопу IL-23p19" и "вариант гуманизированного антитела к эпитопу IL-23p19" относятся, в частности, к моноклональным антителам (включая полноразмерные моноклональные антитела), поликлональным антителам, мультиспецифическим антителам (например, биспецифическим антителам) и фрагментам антител, таким как варибельные домены и другие участки антител, которые обладают требуемой биологической активностью, например способностью связываться с IL-23p19. Понятие "моноклональное антитело" (MAт) относится к антителу, которое является высоко специфическим, его мишенью является индивидуальная антигенная детерминанта, "эпитоп". Таким образом, прилагательное "моноклональные" указывает на отличительный признак антител, мишенью которых является идентичный эпитоп, и оно не связано с требованием к получению антител с помощью какого-либо конкретного метода. Должно быть очевидно, что моноклональные антитела можно получать с помощью любой техники или методологии, известной в данной области; включая, например, метод гибридом (Kohler и др., Nature 256, 1975, с. 495), или методы рекомбинантной ДНК, известные в данной области (см., например, US №4816567), или методы выделения моноклональных полученных с помощью рекомбинантной ДНК антител с использованием фаговых библиотек антител с помощью методик, которые описаны у Clackson и др., Nature 352, 1991, сс.624-628 и у Marks и др., J. Mol. Biol. 222, 1991, сс.581-597.

Понятие "мономер" относится к гомогенной форме антитела. Например, в случае полноразмерного антитела мономер означает мономерное антитело, которое имеет две идентичные тяжелые цепи и две идентичные легкие цепи.

Химерные антитела состоят из варибельных областей тяжелых и легких цепей антител из одного вида (например, из млекопитающего кроме человека, такого как мышь) и константных областей тяжелой и легкой цепи антитела из других видов (например, человека), и их можно получать путем соединения последовательностей ДНК, кодирующих варибельные области антитела из первого вида (например, мыши), с последовательностями ДНК константных областей антитела из второго вида (например, человека), и трансформации хозяина экспрессионным вектором, содержащим связанные последовательности, что позволяет хозяину продуцировать химерное антитело. В альтернативном варианте химерное антитело может также представлять собой антитело, в котором одна или несколько областей или доменов тяжелой и/или легкой цепи идентичны, гомологичны или являются вариантом соответствующей последовательности в моноклональном антителе из другого класса или изотипа иммуноглобулина или из консенсусной последовательности, или последовательности зародышей линии. Химерные антитела могут включать фрагменты указанных антител при условии, что фрагмент антитела обладает требуемой биологической активностью родительского антитела, например способностью связываться с одним и тем же эпитопом (см., например, US №4816567; и Morrison и др., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 1984, сс. 6851-

6855).

Понятия "фрагмент антитела", "фрагмент антитела к IL-23p19", "фрагмент антитела к эпитопу IL-23p19", "фрагмент гуманизированного антитела к IL-23p19", "фрагмент гуманизированного антитела к эпитопу IL-23p19", "фрагмент варианта гуманизированного антитела к эпитопу IL-23p19" относятся к части полноразмерного антитела к IL-23p19, в котором сохраняется варибельная область или ее функциональная способность, например, специфичность связывания с эпитопом IL-23p19. Примерами фрагментов антител являются (но, не ограничиваясь только ими) Fab-, Fab'-, F(ab')₂-, Fd-, Fv-, scFv- и scFv-Fc-фрагмент, димерное антитело (диабоди), линейное антитело, одноцепочечное антитело, минитело, димерное антитело, образованное из фрагментов антитела, и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

Полноразмерные антитела можно обрабатывать ферментами, такими как папаин или пепсин, с получением требуемых фрагментов антител. Расщепление папаином применяют для получения двух идентичных антигенсвязывающих фрагментов антител, которые называют "Fab"-фрагментами, каждый с одним антигенсвязывающим центром, при этом оставшуюся часть обозначают как "Fc"-фрагмент. Fab-фрагмент содержит также константный домен легкой цепи и C_{H1}-домен тяжелой цепи. После обработки пепсином получают F(ab')₂-фрагмент, который несет два антигенсвязывающих центра и все еще сохраняет способность к перекрестному сшиванию с антигеном.

Fab'-фрагменты отличаются от Fab-фрагментов присутствием дополнительных остатков, включая один или несколько остатков цистеина из шарнирной области антитела на C-конце C_{H1}-домена. F(ab')₂-фрагменты антител представляют собой пары Fab'-фрагментов, связанных с помощью остатков цистеина в шарнирной области. Известны другие химические сочетания фрагментов антител.

"Fv"-фрагмент содержит полный антиген-распознающий и антиген-связывающий центр, состоящий из димера, включающего варибельный домен одной тяжелой и одной легкой цепи, которые находятся в тесной нековалентной ассоциации. В этой конфигурации три CDR каждого варибельного домена взаимодействуют с определенным антигенсвязывающим центром на поверхности димера V_H-V_L. В целом, шесть CDR обуславливают специфичность антитела в отношении связывания антигена.

"Одноцепочечный Fv" или "scFv"-фрагмент антитела представляет собой одноцепочечный Fv-вариант, содержащий V_H- и V_L-домены антитела, при этом домены присутствуют в одной полипептидной цепи. Одноцепочечный Fv обладает способностью распознавать антиген и связываться с ним. Полипептид scFv необязательно может содержать также полипептидный линкер, расположенный между V_H- и V_L-доменами, для облегчения образования трехмерной структуры, требуемой для связывания scFv с антигеном (см., например, Pluckthun, в: *The Pharmacology of monoclonal Antibodies*, т.113, под ред. Rosenberg и Moore, изд-во Springer-Verlag, New York, 1991, сс.269-315).

Понятие "димерное антитело (диабоди)" относится к небольшим фрагментам антитела с двумя антигенсвязывающими центрами, при этом фрагменты содержат варибельный домен тяжелой цепи (V_H), сцепленный с варибельным доменом легкой цепи (V_L) в одной и той же полипептидной цепи (V_H-V_L или V_L-V_H). Димерные антитела описаны более подробно например, у Holliger и др., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 1993, сс. 6444-6448.

Другие обладающие способностью к распознаванию фрагменты антител включают фрагменты, которые содержат пару расположенных в виде тандема Fd-сегментов (V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1}), образующих пару антигенсвязывающих участков. Указанные "линейные антитела" могут быть биспецифическими или моноспецифическими, что описано, например, у Zapata и др., *Protein Eng.* 8(10), 1995, сс. 1057-1062.

Гуманизированное антитело или фрагмент гуманизированного антитела представляет собой специфический тип химерного антитела, которое включает вариант аминокислотной последовательности иммуноглобулина или его фрагмента, который обладает способностью связываться с предварительно определенным антигеном и который содержит один или несколько FR, который(ые) имеет(ют) аминокислотную последовательность, практически соответствующую последовательности человеческого иммуноглобулина, и один или несколько CDR, который(ые) имеет(ют) аминокислотную последовательность, которая практически соответствует аминокислотной последовательности нечеловеческого иммуноглобулина. Указанную нечеловеческую аминокислотную последовательность, которую часто обозначают как "импортная" последовательность, как правило, получают из "импортного" домена антитела, в частности варибельного домена. В целом, гуманизированное антитело включает по меньшей мере CDR или HVL нечеловеческого антитела, встроенные между FR варибельного домена человеческой тяжелой или легкой цепи. В настоящем изобретении описаны специфические гуманизированные антитела к IL-23p19, которые содержат CDR, выведенные из мышиных моноклональных антител, или гуманизированные CDR, которые представлены в табл. 3 и 4, встроенные между FR в последовательностях варибельных доменов тяжелой и легкой цепи человеческой зародышевой линии. Должно быть очевидно, что определенные остатки мышиного FR можно импортировать для обеспечения функции гуманизированных антител, и следовательно, определенные остатки последовательностей варибельных доменов тяжелой и легкой цепи человеческой зародышевой линии модифицируют для того, чтобы они были такими же как в соответствующей мышиной последовательности.

Гуманизированное антитело к IL-23p19 может содержать практически полностью по меньшей мере

один и, как правило, два переменных домена (таких, например, как входящие в Fab-, Fab'-, F(ab')₂-, Fabc- и Fv-фрагменты), в которых все или практически все CDR соответствуют CDR нечеловеческих иммуноглобулинов, и все CDR представляют собой мышинные или гуманизированные последовательности, подробно описанные в представленных ниже в табл. 1-4, и все или практически все FR представляют собой FR, которые имеют консенсусную последовательность или последовательность зародышевой линии человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело к IL-23p19 включает также по меньшей мере часть Fc-области иммуноглобулина, как правило, человеческого иммуноглобулина. Как правило, антитело должно содержать как легкую цепь, так и по меньшей мере переменный домен тяжелой цепи. Антитело может включать также при необходимости один или несколько из следующих участков: C_{H1}, шарнирная область, C_{H2}, C_{H3} и/или C_{H4} тяжелой цепи.

Гуманизированное антитело к IL-23p19 можно выбирать из любого класса иммуноглобулинов, включая IgM, IgG, IgD, IgA и IgE, и любого изотипа, включая IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂. Например, константный домен может представлять собой комплементфиксирующий константный домен, если требуется, чтобы гуманизированное антитело обладало цитотоксической активностью, и изотип, как правило, представляет собой IgG₁. Если указанная цитотоксическая активность не требуется, то константный домен может относиться к другому изотипу, например, IgG₂. Гуманизированное антитело к IL-23p19 может содержать последовательности более чем из одного класса или изотипа иммуноглобулинов, и выбор конкретных константных доменов для оптимизации требуемых эффекторных функций находится в компетенции обычного специалиста в данной области. Описанные в заявке антитела представляют собой антитела изотипа IgG₁ и более конкретно антитела изотипа IgG₁, в которых "выключены" эффекторные функции.

FR- и CDR- или HVL-участки гуманизированного антитела к IL-23p19 не обязательно должны точно соответствовать родительским последовательностям. Например, один или несколько остатков в импортном CDR или HVL или в консенсусной последовательности или последовательности зародышевой линии FR можно изменять (например, посредством мутагенеза) путем замены, инсерции или делеции, в результате чего полученный аминокислотный остаток становится не идентичным исходному остатку в соответствующем положении любой родительской последовательности, но, тем не менее, антитело сохраняет функцию, такую как способность связываться с IL-23p19. Указанное изменение, как правило, не должно быть обширным и должно представлять собой консервативные изменения. Как правило, по меньшей мере 75% остатков, чаще по меньшей мере 90% и наиболее часто более 95% или более 98%, или более 99%, гуманизированного антитела должно соответствовать остаткам родительской консенсусной последовательности или последовательности FR зародышевой линии и импортных последовательностей CDR.

Остатки иммуноглобулина, которые влияют на поверхность раздела между переменными областями тяжелой и легкой цепи ("поверхность раздела V_L-V_H"), представляют собой остатки, которые влияют на близость или ориентацию двух цепей относительно друг друга. Конкретными остатками, которые могут участвовать во взаимодействиях между цепями, являются остатки V_L 34, 36, 38, 44, 46, 87, 89, 91, 96 и 98 и остатки V_H 35, 37, 39, 45, 47, 91, 93, 95, 100 и 103 (согласно системе нумерации, предложенной Kabat и др., *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987)). В US №6407213 обсуждается также, что в указанном взаимодействии могут участвовать такие остатки, как остатки V_L 43 и 85 и остатки V_H 43 и 60. Хотя эти остатки указаны только для человеческого IgG, их можно рассматривать и для других видов. Важные остатки антитела, которые, как ожидается, могут участвовать во взаимодействиях между цепями, отбирают для замены в консенсусной последовательности.

Понятия "консенсусная последовательность" и "консенсусное антитело" относятся к аминокислотной последовательности, которая содержит наиболее часто встречающийся аминокислотный остаток в каждом положении во всех иммуноглобулинах любого класса, изотипа или в любой субъединичной структуре, например, переменном домене человеческого иммуноглобулина. Консенсусная последовательность может базироваться на иммуноглобулинах конкретных видов или множества видов. Под "консенсусной/консенсусным" последовательностью, структурой или антителом подразумевают консенсусную человеческую последовательность, указанную в конкретных вариантах осуществления изобретения, и понятие относится к аминокислотной последовательности, которая содержит наиболее часто встречающиеся остатки в каждом положении во всех человеческих иммуноглобулинах конкретного класса, изотипа или субъединичной структуры. Таким образом, консенсусная последовательность содержит аминокислотную последовательность, которая имеет в каждом положении аминокислоту, которая присутствует в одном или нескольких известных иммуноглобулинах, но которая может не представлять собой точную копию полной аминокислотной последовательности любого индивидуального иммуноглобулина. Переменную область консенсусной последовательности не получают из какого-либо встречающегося в естественных условиях антитела или иммуноглобулина (Kabat и др., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5-е изд., изд-во Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991) и его вариантов. Консенсусные последовательности FR тяжелой и легкой цепи и их варианты представляют собой ценные последовательности для получения гуманизированных антител к IL-23p19

(см., например, US №6037454 и 6054297).

Последовательности человеческой зародышевой линии присутствуют в естественных условиях в популяции человеческих антител. Комбинация этих генов зародышевой линии создает разнообразие антител. Последовательности зародышевой линии антитела легкой цепи антитела получают из консервативных ν -генов и j -генов человеческой зародышевой линии каппа или ламбда. Аналогично этому последовательности тяжелой цепи получают из ν -, d - и j -генов зародышевой линии (LeFranc M.-P. и LeFranc G., "The Immunoglobulin Facts Book", изд-во Academic Press, 2001).

В контексте настоящего описания каждое из понятий "вариант", "вариант антитела к IL-23p19", "гуманизированный вариант антитела к IL-23p19" или "вариант гуманизированного антитела к IL-23p19" относится к гуманизированному антителу к IL-23p19, которое имеет, по меньшей мере, последовательность мышиного CDR варибельной области легкой цепи, выбранную из любых последовательностей, представленных в табл. 1, или последовательность мышиного CDR тяжелой цепи, выведенную из мышиного моноклонального антитела, представленного в табл. 2. К вариантам относятся последовательности, имеющие одну или несколько аминокислотных замен в варибельных областях одной или обеих легких цепей или тяжелых цепей, при условии, что аминокислотная замена не оказывает существенного воздействия на связывание антитела с IL-23p19.

"Выделенное" антитело представляет собой антитело, которое идентифицировано и отделено и/или очищено от компонента его естественного окружения. Загрязняющие компоненты естественного окружения антитела представляют собой субстанции, которые могут влиять на диагностическое или терапевтическое применение антитела и могут представлять собой ферменты, гормоны или другие белковые или небелковые растворенные вещества. В одном из объектов изобретения выделенное антитело должно представлять собой антитело, очищенное до степени, превышающей 95 мас.%.
 Выделенное антитело представляет собой антитело *in situ* внутри рекомбинантных клеток, в которых оно продуцировано, если в нем не присутствует ни один компонент естественного окружения антитела. Однако, как правило, выделенное антитело получают с помощью по меньшей мере одной стадии очистки, во время которой удаляют рекомбинантный клеточный материал.

Понятие "характеристика антитела" относится к факторам, которые участвуют в распознавании антителом антигена или эффективности антитела *in vivo*. Изменения в аминокислотной последовательности антитела могут влиять на свойства антитела, такие как фолдинг, и могут влиять на физические факторы, такие как начальная скорость связывания антитела с антигеном (k_a), константа диссоциации антитела от антигена (k_d), константа аффинности антитела к антигену (K_d), конформация антитела, стабильность белка и время полужизни антитела.

В контексте настоящего описания понятие "эпитопное мечение" относится к антителу к IL-23p19, слитому с "эпитопной меткой". "Эпитопная метка" представляет собой полипептид, состоящий из достаточного количества аминокислот для создания эпитопа для производства антитела, при этом ее создают так, чтобы она не оказывала воздействия на требуемую активность гуманизированного антитела к IL-23p19. Эпитопная метка, как правило, является в значительной степени уникальной, в результате чего антитело, которое образуется против эпитопной метки, не дает выраженную перекрестную реакцию с другими эпитопами. Приемлемые полипептиды-метки, как правило, содержат по меньшей мере 6 аминокислотных остатков и, как правило, содержат примерно 8-50 аминокислотных остатков или примерно 9-30 остатков. Примерами эпитопных меток и антител, которые связываются с эпитопом, являются полипептид-метка flu HA (HA вируса гриппа) и соответствующее ему антитело 12CA5 (Field и др., Mol. Cell. Biol. 8, 1988 2159-2165); с-тус-метка и соответствующие ей антитела 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 и 9E10 (Evan и др., Mol. Cell. Biol. 5(12), 1985, сс.3610-3616); и метка, включающая гликопротеин D (gD) вируса герпеса простого, и соответствующее ей антитело (Paborsky и др. Protein Engineering 3(6), 1990, сс.547-553). В конкретных вариантах эпитопная метка представляет собой "эпитоп, связывающийся с рецептором спасения". В контексте настоящего описания понятие "эпитоп, связывающийся с рецептором спасения" относится к эпитопу Fc-области молекулы IgG (такой как IgG₁, IgG₂, IgG₃ или IgG₄), ответственному за удлинение времени полужизни молекулы IgG *in vivo* в сыворотке.

Антитела можно конъюгировать с цитотоксическим агентом. Он может представлять собой любую субстанцию, которая ингибирует или препятствует функции клеток и/или вызывает деструкцию клеток. Под понятие подпадают радиоактивные изотопы (такие как I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, и Re¹⁸⁶), химиотерапевтические средства и токсины, такие как обладающие ферментативной активностью токсины, полученные из бактерий, грибов, растений или животных, и их фрагменты. Указанные цитотоксические агенты можно сшивать с гуманизированными антителами с помощью стандартных процедур и применять, например, для лечения пациента, которому показана терапия на основе антитела.

"Химиотерапевтическое средство" представляет собой химическое соединение, которое можно применять для лечения рака. Известны многочисленные примеры химиотерапевтических средств, которые можно конъюгировать с терапевтическими антителами, предлагаемыми в настоящем изобретении. Примерами указанных химиотерапевтических средств являются алкилирующие средства, такие как тиотепа и циклофосфамид; алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая

алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентифосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (прежде всего буллатин и буллатацион); камптотедин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; СС-1065 (включая его синтетические аналоги адозелесин, карзелесин и бизелесин); криптофицины (прежде всего криптофицин I и криптофицин 8); доластатин, ауристатины (включая такие аналоги, как монометил-ауристатин E и монометил-ауристатин F); дуокармицин (включая синтетические аналоги KW-2189 и CBI-TMI); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктин; спонгистатин; азотные аналоги горчичного газа (иприта), такие как хлорамбуцил, хломафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлоретамин, гидрхлорид оксида мехлорметамин, мелфалан, новембихин, фенэстерин, преднимустин, трифосфамид, урамустин (азотистоипритовое производное урацила); нитрозмочевины, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как энединовые антибиотики (например, калихеаминцин, прежде всего калихеаминцин гамма II и калихеаминцин phiII (см., например, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33, сс. 183-186); динемидин, включая динемидин A; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также неокарзиностатиновый хромофор и родственный хромопротеин хромофоров энединовых антибиотиков), аклактиномицины, актиномицины, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карзинофелин, хромомицины, дактиномицин, даунорубин, деторубин, 6-диаза-5-оксо-L-норлейцин, доксорубин (AdriamycinTM) (включая морфолино-доксорубин, цианморфолино-доксорубин, 2-пирролино-доксорубин и дезоксидоксорубин), эпирубин, эзрубин, идарубин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин C, микофенольная кислота, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфирамицин, пуримицин, хеломицин, родарубин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-ФУ); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; пуриновые аналоги, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамитрин, тиогуанин; пиримидиновые аналоги, такие как анцитабин, азацидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуредин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксурин; андрогены, такие как калустерон, дромостанолонпропионат, эпитиостанол, мепитиостан, тестолактон; антиадренергетики, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; заменитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота; ацеглатон; альдофосфамидгликозид; аминоклевулиновая кислота; этилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрен; эдтраксат; дефофамин; демоксоллин; диазихон; элформитин; эллиптиния ацетат; эпотилон; этоглоцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидамин; майтансиноиды, такие как майтансин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамед; пирарубин; лосоксантрон; подафиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин, PSK®; разоксан; ризоксин; сизофуран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазихон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (прежде всего токсин T-2, верракурин A, роридин A и ангуидин); уретан; виндесин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ara-C"); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например паклитаксел (TAXOL®, фирма Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, штат Нью-Джерси) и доцетаксел (TAXOTERE®, фирма Rhone-Poulenc Rorer, Энтони, Франция); хлорамбуцил; гемцитабин (GemzarTM); 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; винорелбин (NavelbineTM); новантрон; тенипозид; эдтрексат; дауномицин; аминоклутетин; кселода; ибандронат; СРТ-11; ингибитор топоизомеразы RFS-2000; дифторметилорнитин (ДМПО); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин, и их фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из указанных выше соединений. Также под объем этого определения подпадают антигормональные агенты, которые регулируют или ингибируют действие гормона на опухоли, такие как антиэстрогены и селективные модуляторы рецепторов эстрогена (SERM), включая, например, тамоксифен (включая NolvadexTM), ралоксифен, дролоксифен, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (FarestonTM); ингибиторы ароматазы, которые ингибируют фермент ароматазу, регулируют производство эстрогена надпочечниками, такие, например, как 4(5)-имидазолы, аминоклутетимид, мегестрола ацетат (MegaceTM), эксеместан, форместан, фадрозол, ворозол (RivisorTM), летрозол (FemaraTM) и анастрозол (ArimidexTM); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, леупролид и госсерелин, а также фармацевтически приемлемые соли, кислоты и производные любого из указанных выше соединений. Любое одно или несколько этих средств можно конъюгировать с гуманизированными антителами, предлагаемыми в настоящем изобретении, с получением ценного терапевтического средства, которое можно применять для лечения различных нарушений.

Антитела можно конъюгировать также с пролекарствами. "Пролекарство" представляет собой предшественник или производное фармацевтически активной субстанции, которое является менее цитотоксичным в отношении опухолевых клеток по сравнению с исходным лекарственным средством и обладает способностью активироваться или превращаться в более активную исходную форму с помощью ферментов (см., например, Wilman в: "Prodrugs in Cancer Chemotherapy", Biochemical Society Transactions, 14, 1986, сс. 375-382, 615-й симпозиум в Белфасте (1986); и Stella и др. в: "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery", Directed Drug Delivery, под ред. Borchardt и др., изд-во Hu-

mana Press, 1985, сс. 247-267). Пригодные пролекарства включают (но, не ограничиваясь ими) фосфатсодержащие пролекарства, тиофосфатсодержащие пролекарства, сульфатсодержащие пролекарства, пептидсодержащие пролекарства, модифицированные D-аминокислотой пролекарства, гликозилированные пролекарства, β-лактамосодержащие пролекарства, пролекарства, содержащие необязательно замещенный феноксиацетамид, или пролекарства, содержащие необязательно замещенный фенилацетамид, 5-фторцитозин- и другие 5-фторуридинсодержащие пролекарства, которые могут превращаться в более активную цитотоксическую свободную лекарственную форму. Примеры цитотоксических лекарственных средств, которые могут образовывать производные в виде пролекарства, включают (но, не ограничиваясь ими) описанные выше химиотерапевтические средства.

Для диагностических целей, а также для мониторинга лечения антитела можно конъюгировать также с меткой, либо только с меткой, либо с меткой в сочетании с дополнительным вторым агентом (пролекарство, химиотерапевтическое средство и т.п.). Метка в отличие от второго дополнительного агента представляет собой субстанцию, которая является выявляемым соединением или выявляемой композицией, и ее можно конъюгировать прямо или косвенно с гуманизированным антителом, предлагаемым в настоящем изобретении. Метка сама по себе может представлять собой выявляемую субстанцию (например, радиоизотопные метки или флуоресцентные метки) или, как в случае ферментативной метки, она может катализировать химическое изменение соединения или композиции, представляющего/представляющей собой субстрат, которое можно выявлять. Меченое гуманизированное антитело к IL-23p19 можно готовить и применять для различных целей, включая диагностику *in vitro* и *in vivo*.

Антитела можно готовить таким образом, чтобы они представляли собой часть препарата в виде липосомы, для их эффективного введения *in vivo*. "Липосома" представляет собой небольшой пузырек, состоящий из различного типа липидов, фосфолипидов и/или поверхностно-активных веществ. Липосомы можно применять для введения млекопитающему соединению или композиции, например, гуманизированного антитела к IL-23p19 необязательно в сочетании или в комбинации с одним или несколькими фармацевтическими действующими веществами и/или метками. Компоненты липосом обычно упорядочены в виде двухслойной структуры, аналогичной липидной структуре биологических мембран.

"Выделенная" молекула нуклеиновой кислоты представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая идентифицирована и отделена по меньшей мере от одной молекулы нуклеиновой кислоты-примеси, с которой она обычно связана в естественном источнике нуклеиновой кислоты антитела. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты отличается от молекулы нуклеиновой кислоты, существующей во встречающихся в естественных условиях клетках.

Можно осуществлять рекомбинантную экспрессию одного или нескольких доменов гуманизированных антител. Для осуществления указанной рекомбинантной экспрессии можно применять одну или несколько контролируемых последовательностей, т.е. полинуклеотидных последовательностей, необходимых для экспрессии функционально связанной кодирующей последовательности в конкретном организме-хозяине. Пригодные для прокариотических клеток контролируемые последовательности включают, например, последовательности промотора, оператора и сайта связывания рибосомы. В эукариотических клетках контролируемые последовательности включают (но, не ограничиваясь только ими) промоторы, сигналы полиаденилирования и энхансеры. Указанные контролируемые последовательности можно применять для экспрессии и производства гуманизированного антитела к IL-23p19 в прокариотических и эукариотических клетках-хозяевах.

Нуклеиновая кислота "функционально связана", если она находится в функциональной связи с другой нуклеотидной последовательностью. Например, нуклеиновая кислота предпоследовательности или секреторного лидера функционально связана с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид, если она экспрессируется в виде предпротеина, который принимает участие в секреции полипептида; промотор или энхансер функционально связан с кодирующей последовательностью, если он оказывает воздействие на транскрипцию последовательности; или сайт связывания рибосомы функционально связан с кодирующей последовательностью, если он расположен так, что может облегчать трансляцию. Как правило, "функционально связаны" обозначает, что связанные последовательности ДНК являются смежными, а в случае секреторного лидера, являются смежными и находятся в рамке считывания. Однако энхансеры не обязательно должны быть смежными. Связывание осуществляют путем встраивания лигированием в соответствующие сайты рестрикции. Если такие сайты не существуют, то можно применять синтетические олигонуклеотидные адаптеры или линкеры.

В контексте настоящего описания понятия "клетка", "линия клеток" и "культура клеток" используются взаимозаменяемо, и все такие понятия включают потомство. Так, понятия "трансформанты" и "трансформированные клетки" включают первичную представляющую интерес клетку и полученные из нее культуры, вне зависимости от количества пересевов.

Понятие "млекопитающее", подлежащее лечению, относится к любому животному, которое принадлежит к классу млекопитающих, включая людей, домашних и сельскохозяйственных животных, а также живущих в зоопарке животных, предназначенных для спорта или комнатных животных, таких как собаки, лошади, кошки, коровы и т.п. Предпочтительно млекопитающее представляет собой человека.

В контексте настоящего описания понятие "нарушение" означает любое состояние, которое можно

облегчать посредством лечения гуманизированным антителом к IL-23p19, представленным в настоящем описании. Оно включает хронические и острые нарушения или заболевания, том числе патологические состояния, которые приводят к предрасположенности млекопитающего к рассматриваемому нарушению. Примерами нарушений, которые можно лечить согласно изобретению, являются (но, не ограничиваясь только ими) воспалительные, ангиогенные, аутоиммунные и иммунологические нарушения, респираторные нарушения, рак, гематологические злокачественные заболевания, доброкачественные и злокачественные опухоли, лейкозы и лимфоидные злокачественные заболевания.

Понятия "рак" и "раковый" относятся или описывают физиологическое состояние у млекопитающего, которое, как правило, отличается нерегулируемым ростом клеток. Примерами рака являются (но, не ограничиваясь только ими) карцинома, лимфома, бластома, саркома и лейкоз.

В контексте настоящего описания понятие "ассоциированное с IL-23 нарушение" или "ассоциированное с IL-23 заболевание" относится к состоянию, при котором активность IL-23 принимает участие в заболевании, и, как правило, происходит аномальная экспрессия IL-23. Ассоциированное с IL-23 нарушение включает заболевания и нарушения иммунной системы, такие как аутоиммунные нарушения и воспалительные нарушения. Указанные состояния включают (но, не ограничиваясь только ими) ревматоидный артрит (RA), системную красную волчанку (SLE), склеродерму, синдром Шегрена, рассеянный склероз, псориаз, псориатический артрит, воспалительное заболевание кишечника (например, неспецифический язвенный колит и болезнь Крона), воспаление легких, астму и идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ITP) и анкилозирующий спондилит.

Понятие "внутривенная инфузия" относится к интродукции агента в вену больного животного или человека в течение периода времени, превышающего примерно 15 мин, как правило, в течение примерно 30-90 мин.

Понятие "внутривенный болюс" или "внутривенный импульс" относится к введению лекарственного средства животному или человеку таким образом, чтобы лекарственное средство поступало в организм в течение примерно 15 мин или менее, как правило, 5 мин или менее.

Понятие "подкожное введение" относится к интродукции агента под кожу больного животного или человека, предпочтительно в карман между кожей и низлежащей тканью, путем относительно медленно-пролонгированного введения из содержащего лекарственное средство резервуара. Путем прищипывания или оттягивания кожи вверх и в сторону от низлежащей ткани можно создавать карман.

Понятие "подкожная инфузия" относится к интродукции лекарственного средства под кожу больного животного или человека, предпочтительно в карман между кожей и низлежащей тканью, путем относительно медленно-пролонгированного введения из содержащего лекарственное средство резервуара в течение периода времени, составляющего (но, не ограничиваясь только указанным) 30 мин или менее или 90 мин или менее. Инфузию необязательно можно осуществлять путем подкожной имплантации насоса для введения лекарственного средства, имплантированного под кожу больного животного или человека, при этом насос обеспечивает введение лекарственного средства в предварительно определенном количестве в течение предварительно определенного периода времени, составляющего 30 мин, 90 мин или периода времени, соответствующего продолжительности схемы лечения.

Понятие "подкожный болюс" относится к введению лекарственного средства под кожу больного животного или человека, при этом продолжительность введения лекарственного средства в виде болюса составляет менее примерно 15 мин; в другом случае менее 5 мин, а еще в течение менее 60 с. Введение осуществляют в карман между кожей и низлежащей тканью, где карман можно создавать путем прищипывания или оттягивания кожи вверх и в сторону от низлежащей ткани.

В контексте настоящего описания понятие "терапевтически эффективное количество" относится к количеству действующего вещества, при использовании которого происходит ослабление или облегчение одного или нескольких симптомов нарушения, на которое направлено лечение. Терапевтически эффективное количество относится к концентрации в сыворотке пациента, при которой, как установлено, действующее вещество является эффективным в отношении замедления развития болезни. Эффективность можно оценивать общепринятыми путями в зависимости от подлежащего лечению состояния.

В контексте настоящего описания понятия "лечение" и "терапия" и т.п. относятся к терапевтическим, а также профилактическим или подавляющим мероприятиям в отношении заболевания или нарушения, которые приводят к любому клинически важному или благоприятному действию, включая (но, не ограничиваясь только ими) облегчение или ослабления одного или нескольких симптомов, регресс, замедление или прекращение развития заболевания или нарушения. Таким образом, например, под понятие "лечение" подпадает введение агента до или после начала проявления симптома заболевания или нарушения, что приводит к предупреждению или устранению одного или нескольких признаков заболевания или нарушения. В другом примере понятие относится к введению агента после клинического проявления болезни для борьбы с симптомами болезни. Кроме того, в контексте настоящего описания понятие "лечение" или "терапия" относятся к введению агента после возникновения и после развития клинических симптомов, где введение оказывает воздействие на клинические параметры заболевания или нарушения, такие как степень повреждения ткани или количество и распространение метастазов, вне зависимости от того, приводит или нет лечение к облегчению заболевания. Кроме того, если применение

композиций, либо индивидуально, либо в сочетании с другим терапевтическим средством купирует или облегчает по меньшей мере один из симптомов подлежащего лечению нарушения по сравнению с указанным симптомом без применения содержащей гуманизованное антитело к IL-23p19 композиции, то результат следует рассматривать как эффективное лечение требуемого нарушения вне зависимости от того, происходит или нет облегчение всех симптомов нарушения.

Понятие "листовка-вкладыш в упаковке" относится к инструкциям, которые принято включать в предназначенные для продажи упаковки терапевтических продуктов, которые содержат информацию о показаниях, методах применения, введения, противопоказаниях и/или мерах предосторожности при применении указанных терапевтических продуктов.

Антитела.

Гуманизированные антитела к IL-23p19 и связывающие агенты могут ингибировать производство ассоциированных с Th17 цитокинов, которые принимают участие в хронических аутоиммунных и воспалительных заболеваниях. Таким образом, гуманизированные антитела к IL-23p19 и связывающие агенты можно применять для лечения различных заболеваний или нарушений. И гуманизованное антитело к IL-23p19, и IL-23p19-связывающий агент, включая, по меньшей мере, участок, который специфически распознает эпитоп IL-23p19 (т.е. антигенсвязывающий фрагмент).

При осуществлении первичной оценки отбирали мышинные антитела на основе их характеристик связывания IL-23p19.

Полученное антитело характеризуется величиной K_D в отношении IL-23, в частности в отношении человеческого IL-23, составляющей менее чем 100 пМ, величиной K_D , составляющей менее чем 40 пМ, величиной K_D , составляющей менее чем 20 пМ, величиной K_D , составляющей менее чем 10 пМ или величиной K_D , составляющей менее чем 1 пМ.

Отобранные мышинные антитела могут иметь вариабельные области легких цепей и вариабельные области тяжелых цепей, которые представлены ниже в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Мышинные "лидерные" антитела к IL-23p19 - последовательности VK

2D1vk	GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGG GCCACCATATCCTGCAGAACCCAGTGAAAGTGTATAGTTATGGCCAAAATTTT ATACACTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTATCG TGATCCAACCTGGAATCTGGGATCCCTGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTA GGACAGACTTACCCTACCATGAATCCTGTGGAGGCTGATGATGTTGCAACC TATTACTGTGAGCAAACTAATGAGGATCCGTACACGTTCCGAGGGGGACCAA GCTGAAAATAAGA (SEQ ID NO: 83)
	DIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRSSEVSYGQNFHWHYQQKPGQPPKLLIY RASNLESGIPARFSGSGSRTDFLTLMNPVEADDVATYYCQQTNEPYPYFGGG TKLEIR (SEQ ID NO: 84)
6B8Vk	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATCTTGTCCACATCAGTGGGAGA CAGGGTACCATCACTTGCAAGGCCAGTCCGGATGTGGCTATTGCTGTAG CCTGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTTCTTTCTGG GCATCCACCCGACACACTGGGGTCCCTGATCGTTCACAGGCAGTGGATC TCGGACAGATTTCACTCTCACCATTAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGG CAGATTATTTCTGTACCAATATAGCAGCTATCCATTACGTTCCGGCTCGG GGACAAAGTTGAAAATAAG (SEQ ID NO: 85)
	DIVMTQSHKFLSTSVGDRVITCKASRDVAIAVAWYQQKPGQSPKLLIFWAS TRHTGVPDRFTGSGSRTDFLTISNVQSEDLADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEI K (SEQ ID NO: 86)
9D12-Vk	GACATTGCGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTGGGGCAG AGGGCCACCATATCCTGCAGAGCCAGTGAACCTATTAATTTTTATGGCAC TAGTTTTATGCACTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGTCAACCCAACTCC TCATCTATCGTGCATCCAACCTAGAATCTGGGATCCCTGCCAGGTTCACT GGCAGTGGGTCTAGGACAGACTTACCCTCACCATTAATCCTGTGGAGGC TGATGATGTTGCAACCTATTACTGTGACAACTAATGAGGATCCGTACA CGTTCGGAGGGGGGACTAAGTTGAAAATAAAA (SEQ ID NO: 87)
	DIALTQSPASLAVSLGQRATISCRASETINFYGTSMHWHYQQKPGQSPKLLIYRASN LESGIPARFSGSGSRTDFLTINPVEADDVATYYCQQTNEPYPYFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 88)
15C11vk	GATGTTGTGATGACCCAACCTCACTCTCCTGCCTGTGAGTCTGGAGAT CAAGCCTCCATCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGG AAACACCTATTTACATGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGC TCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCAGACAGGTTT AGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAACAGAGTGG AGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTTCTGTCTCAAAGTACACATGTTCCG TACACGTTCCGAGGGGGGACCCAGCTGAAAATAAAA (SEQ ID NO: 89)
	DVVMTQPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLPKPGQSPKLL IYKVSNRFSVGPDRFSGSGSRTDFLTINPVEADDVATYYCQQTNEPYPYFGG GTQLEIK (SEQ ID NO: 90)
15F1vk	DIVMTQSPATLSVTPGDRVLSLSCRASQSIDYLHWYQQRSHEPRLIKYASQ SISGIPSRFSGSGSRTDFLTINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 91)

18D3vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGA TAGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTATTAGCGACTACTTAT ACTGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATTT GCTTCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATC AGGGTCAGATTTCACTCTCAGTATCGACAGTGTGGAACCTGATGATGTTG GAGTCTTTTTCTGTCAAAATGGTCACAGCTTCCGTTACGTTCCGGAGGGG GGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 92)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISDYLYWYQQKSHESPRLLIKFASQ SISGIPSRFTGSGSGSDFTLSIDSVEPDDVGVFFCQNGHSFPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 93)
18C4vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGA TAGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGAGTACTTAC ACTGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATAT GCTTCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATC AGGGTCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTG GAGTGTATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTCCATTACGTTCCGGCTCG GGGACAAAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 94)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISEYLHWYQQKSHESPRLLIKYASQ SISGIPSRFSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVVYVCQNGHSFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 95)
18E5vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGA TAGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTAT ACTGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATTT GCTTCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATC AGGGTCAGATTTCACTCTCAGTATCGACAGTGTGGAACCTGATGATGTTG GAGTCTTTTTCTGTCAAAATGGTCACAGCTTCCGTTACGTTCCGGAGGGG GGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 96)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISDYLYWYQQKSHESPRLLIKFASQ SISGIPSRFTGSGSGSDFTLSIDSVEPDDVGVFFCQNGHSFPFTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 97)
20E8vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGA TAGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGAGTATTAC ACTGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATAT GCTTCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATC AGGGTCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTG GAGTTTATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTCCATTACGTTCCGGCTCGG GGACAAAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 98)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISEYLHWYQQKSHESPRLLIKYASQ SISGIPSRFSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVVYVCQNGHSFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 99)
22E2vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGA TAGAGTCTCTCTCTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGTCTACTTAC ACTGGTATCAACAAAAATCACCTGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATAT GCTTCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATC AGGGTCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTG GAGTTTATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTCCATTACGTTCCGGCTCGG GGACAAAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 100)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISVYLHWYQQKSPESPRLLIKYASQ SISGIPSRFSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVVYVCQNGHSFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 101)
24A54vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAAA TAGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTAC ACTGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATAT GCTTCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATC AGGGTCAAATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTG GAGTGTATTATTGTCAAAATGGTCACAGCTTCCATTACGTTCCGGCTCGG

	GGACAAAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 102)
	DIVMTQSPATLSVTPGNRVLSCRASQISDYLHWYQQKSHESPRLLIKYASQ SISGIPSRFSGSGSNTLSINSVEPEDVGVVYQCQNGHSFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 103)
26F7Vk	GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTCCTTAGCTGTTTCTCTGGGGCAG AGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAAGTGTGAGATTCTCTGACTA TTTTTATATGCACTGGTACCAACAGAAAACCAGGACAGCCACCCAACTCC TCATCTACCTTGCATCCAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCACT GGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGA GGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGAACAGTAGGGAGCTCCGTACA CGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATAAAA (SEQ ID NO: 104)
	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVRFSDYFYMHWYQQKPGQPKLLI YLASNLESGVPARFSGSGSDFTLNIHPVEEEDAATYYCQNSRELPTYFGG GTKLEIK (SEQ ID NO: 105)
27G8Vk	GACATTGTGTTGACACAGTCTCCTGCTCCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAG AGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAAGTGTGAGTACATCTGGCTA TAGTTATATACACTGGTACCAACAGAAAACCGGGACAGCCACCCAAATTCC TCATCTATCTTGCATCCAACCTAGATTCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCACTG GCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAG GAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGTAGGGAGCTCCGTACAC GTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 106)
	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYIHWYQQKPGQPKFLIY LASNLDGVPARFSGSGSDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPTYFGGG TKLEIK (SEQ ID NO: 107)
31H9Vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGA TAGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTAC ACTGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATAT GCTTCCAATCCATCTCTGGGATCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATC AGGGTCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTG GAGTGTATTACTGTCAAATGGTCACAGCTTCCGTACACGTTCCGAGGG GGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 108)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVLSCRASQISDYLHWYQQKSHESPRLLIKYASQ SISGIPSRFSGSGSDFTLINSVEPEDVGVVYQCQNGHSFPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 109)
34G3Vk	GATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTGACTCTGGAGAT CAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGG AAACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGC TCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCCGACAGGTTCA GTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGGA GGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGT ACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAT (SEQ ID NO: 110)
	DVVMTQTPSLPVS LGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYQLKPGQSPKLL IYKVS NRFSGV PDRFSGSGSDFTL KISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYTFGG GTKLEIN (SEQ ID NO: 111)
34D9Vk	GACATTATGATGACCCAGTCTCACAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGA CAGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAAGGATGTGGGTAATGCTGTGG TCTGGTATCAACAAAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGG GCATCCACCCGGCACATTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATC TGGGACAGATTTCACTCTCACCATTACCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGG CAGATTATTTCTGTCAGCAATATAGCAGCTATCTCACGTTCCGTGCTGGG ACCAAGCTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO: 112)
	DIMMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGNVAVVWYQQKPGQSPKLLIYW ASTRHIGV PDRFTGSGSGDFTL TITNVQSEDLADYFCQYSSYLTFGAGTKL ELK (SEQ ID NO: 113)
43F5Vk	GATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTGACTCTGGAGAT CAAGCCTCCATCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGG AAACACCTATCTACATTGGTACCTGCTGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGC

	TCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTATTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACGTTCCGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 114)
	DVVMTQSPVSLPVSLGDAQISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLLKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSDFTLKISRVEAEDLVVYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 115)
73H10Vk	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGTTTCTGTCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCACCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTGACAGTTATTTAGCATGGTATCAGCAGAAACAGGAAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTTTGCTGCACGAAACTTAGCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTATTCTCTCAAGATCAACAGAATGCAGTCTGAAGATGTTGCGAGATACTACTGTCAACATTATTATAGTACTCCATTACGTTCCGGCTCGGGACAAAGTTGGAAATAGAA (SEQ ID NO: 116)
	DIQMTQSPVFLSASVGETVITCRASENIDSYLAWYQQKQKSPQLLVFAARNLADGVPSRFSGSGSTQYSLKINRMQSEDVARYYQHYSTPFTFGSGTKLEIE (SEQ ID NO: 117)
74H3Vk	GACATCCAGATGACTCAGTCGCCAGCTTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAGAACTGTCATCTTACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTGACAGTTATTTAGCATGGTATCAGCAGAAACAGGAAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATGTCGAACAACTAGCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTATTCTCTCAAGATCAACAGCCTGCAGTCTGAAGATGTTGCGAGATATTACTGTCTACATTATTATAGTACTCCATTACGTTCCGGCTCGGGACAGAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO: 118)
	DIQMTQSPASLSASVGETVIFTCRASENIDSYLAWYQQKQKSPQLLVY AATNLADGVPSRFSGSGSTQYSLKINLSQSEDVARYYCLHYSTPFTFGSGTELEIK (SEQ ID NO: 119)

Таблица 2. Мышинные "лидерные" антитела к IL-23p19 - последовательности VH

2D1vh	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCATCACATGCACTGTCTCTGGGTTCTCATTAAACCACCTATGCTATAAGCTGGGTTCCGCCAGTCACCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTTGGAGTCAATGACTGGTGGAGGCACAAAATATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGAGCATCAGCAAAGACAATCCAAGAGTCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCAGGTAAGTACTACTGTGCCAGAAAGGACTATAATTACGGGGTGTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCTCA (SEQ ID NO: 120)
	QVQLKESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLTTYAISWVRQSPGKGLEWLGVIWTTGGTKYNSALKSRLSISKDNSKQVFLKMNLSLQDDTARYYCARKDYNVYGGAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 121)
6B8VH	CAGGTTCAAGTCTGACGCTGAGTTGGTGAAACCTGGCACTTCAAGTGAAGACATCCTGCAAAATTTCTGGCAACACCTTCACTGACCAAACTATTCACTGGATGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAATGGATTGGATATATTTATCCTAGAGATGATAGTCTTAAGTACAATGAGAATCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGTCAACAGTCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAATCCCAGACAGTTCAGGCTACGCCTGGTTTATTACTGGGGCCAAGGACTCTGGTCACTGTCTTCA (SEQ ID NO: 122)
	QVQLQQSDAELVKPGTSVKTSCKISGNTFTDQTIHWMKQRPEQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFCAIPDRSGYA WFIYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 123)
9D12VH	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGTCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTGTCCATCACATGCACTGTCTCTGGGTTCTCATTAAACAACCTTGTCTATAAGTTGGGTTCTCAGCCACCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTTGGAGCAAT

	ATGGACTGGTGGAGGCACAAATTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGAGCATCAGCAAAGACAACCTCAAGAGTCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCAGGTATTATTGTGTCAGAAAAGGACTATAGTTACGGGGGTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCTCA (SEQ ID NO: 124)
	QVQLKESGPVLVAPSQLSITCTVSGFSLNFAISWVRQPPGKLEWLGAIWGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKQVFLKMNSLQDDTARYYCVRKDYSYGGAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 125)
15C11vh	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGTGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGTAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTATATGAACCTGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGTTATTATTCCTTACAACGGTGGTACTAGCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGTTGACAAGTCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAACAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCACGAGATGGTCACCGCTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCCACCGTCTCTCA (SEQ ID NO: 126)
	EVQLQQSGPVLVCPGASVKMSCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLWIGVIIPYNGGTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARDGHRWYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO: 127)
15F1vh	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTCCIMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARRWDEAYWQGGLTVTVSA (SEQ ID NO: 128)
18D3vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTCAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTATCTTATTCAGTGGGTGAAACAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATA TTAATCCTTACAATGATGGTACTAAATACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACCTCTAACTGGGACCTCGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCTCA (SEQ ID NO: 129)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYLIHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTSNWDLDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 130)
18C4vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAAAGTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTGTTATACACTGGGTGAAGCAGAAGGCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATA TCAATCCCTATAATGATGGTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAGATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACGGTTGGA CGAGGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 131)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSSVIHWVKQKAGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTRRLDEAYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 132)
18E5vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTGCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTGCTATCTTATTCAGTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATA TTAATCCTTACAATGATGGTACTAAATATAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACCTCTAATGGGACCTCGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCTCA (SEQ ID NO: 133)
	EVQLQQSGPELVKPGAAVKMSCKASGYTFTRYLIHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTSNWDLDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 134)
20E8vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAACTGGTAAAGCCTGGGGCTTC

	AGTGAAGATGTCCTGCAAGGCCTCTGGATACACATTCACTAGTTCTGTAT GCACTGGGTGAAGCAGAAGGCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATA TCAATCCCTATAATGATGGTACTCAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAG GCCACACTGACTTCAGACAAATTTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGC AGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACGGTTGGAC GAGGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 135)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSSVMHWVKQKAGQGLEWIGYI NPYNDGTQYNEKFKGKATLTSDFSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTRRLDEA YWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO: 136)
22E2vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTC AGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGCTCTATTAT TCACTGGGTGAAGCAGAGGCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATA TTAATCCTTACGATGATGTTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAG GCCACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAG CAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGACGGTGGGA CGAGTCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 137)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSSIIHWVKQRPQGLEWIGYINP YDDVTKYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARRWDESY WGQGLTVTVSA (SEQ ID NO: 138)
24A5vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTC AGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACTTTCACTACCTCTATTAT GCACTGGGTGAAACAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATA TTAATCCTTACGATGATGTTACTAAGTACAATGAAAAGTTCAAAGGCAAG GCCACATTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAG CAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGTAAGACGGTGGGA CGAGGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 139)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSSIMHWVKQKPGQGLEWIGYIN PYDDVTKYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCVRRWDEA YWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO: 140)
26F7VH	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTC AGTGAAGATATCCTGTAAGGCTTCTGGATACACGTTTACTGACTACTACAT GAACTGGGTGAGGCAGAGCCTAGGAGAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATT TTAATCATAACAATGATGTTATTACTTACAACCCGAAGTTCAAGGGCAAGG TCACATTGACTGTAGAGAAGTCTTCCACCACAGCCTACATGGAGCTCCGCA GCCTGTCATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGGGGGCTACGAG GCTACTATGCTATGGACTACTGGGTCAAGGAACCTCAGTACCGTCTCCT CA (SEQ ID NO: 141)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYMNWVRQSHGESLEWIGDFN HNNDVITYNPKFKGKVTLTVEKSSSTAYMELRSLSEDSAVYYCARGLRGYY AMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 142)
27G8vh	CAGGTTCACTGCAACAGTCTGACGCTGAGTTGGTGAACCTGGAGCTTC AGTGAAGATATCCTGCAAGGTTTCTGGCTACACCTTCACTGACCATACTAT TCACTGGATGAAGCAGAGGCTGAACAGGGCCTGGAATGGATTGGATATA TTTATCCTAGAGATGGTTATCCTAAGTTCAATGAGAAGTTCAAAGGGCAAGG CCACATTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAAC AGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAAGACGGCCCCT TACTATGCTATGGACTACTGGGTCAAGGAACCTCAGTCGCCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 143)
	QVQLQQSDAELVKPGASVKISCKVSGYTFDHTIHWKQRPQGLEWIGYIY PRDGYPKFNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFCARRPPYYA MDYWGQGTSVAVSS (SEQ ID NO: 144)
31H9vh	GAGGTCCAACCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTC AGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGGTATCTTAT GCACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGTTATA

	TTAATCCTTACAATGATGGTACTAATTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCCACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTCGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTTCCCTTAAGTGGGACTATGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 145)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYLMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTNYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCSLNWDYAYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO: 146)
34G3VH	GAGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGCGCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTACTCATTCACTGACTACAACATGAAGTGGGTGAAGCAGAGCAAAGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGTATTATTCCTAACTATGGTTTACTAGCTACAATCAGAACTTCAAGGGCAAAGGCCACTTGTACTGTAGACCAGTCTCCAGCACAGCCACATGCAGCTCAACAGTGTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGTAAGAGATGGGGAAATCTCTGGTATCTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 147)
	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYNMNVKQSKGKSLEWIGVIIPNYGFTSYNQNFKGKATLTVQSSSTAHLMLNSVTSEDSAVYYCVRDGGILLWYLDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO: 148)
34D9VH7	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATACCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTACAACATGGACTGGGTGAAGAAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATATCAATCCTCACAATGGTGGTACTATCTACAACCAGAAGTCAAGGGGCAAGGCCACATTGACTGTAGACAAGTCTCCAGCACAGCCACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAATTAATCGGTAGTAGTTACGGCTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCGTCA (SEQ ID NO: 149)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFDYNMDWVKKSHGKSLEWIGDINPHNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAHEMLRSLTSEDVAVYYCARNYYGSSYGWYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO: 150)
43F5vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATTTCCCTGCAGGGCTTCTGGTACTCATTCACTGGCTACTACATGAAGTGGGTGAAGCAAAGTCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATTATTCCTACCACTGGTGGTACTTCTACAACCAGAAGTCAAGGGCAAAGCCACATTGACTGTAGACAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAAGAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGAGAGCGGTGGGTCTACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCAACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 151)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCRASGYSFTGYMNVKQSPKKSLEWIGEIIPVTGGTSYNTQKFKAKATLTVDKSSSTAQMQLKSLTSEDSAVYYCARESGGFYWFYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO: 152)
73H10VH	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTATGTTATGCCTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATA TTAATCCTTACAATGATGTTACTAAGTACAATGAGAAGTCAAAGGCAAAGGCCACACTGACTTCAGACAGATCCTCCAGCACAGCCTACATGAAACTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTGCAAGAACTGGGACGTTCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGATCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 153)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYVMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDVTKYNEKFKGKATLTSRSTAYMMLSSLTSEDSAVYYCARNWDVPYWGQGLTITVSA (SEQ ID NO: 154)
74H3VH	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTATCTTATGCACTGGTGAAGCAGAAGCCTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATTAATCCTTAC AATGATGGTACTAAGTACAATGAGAGGTTCAAAGGCAAGGCCACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGACCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAACTGGGACGTTCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGATCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 155)
	CTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAACTGGGACGTACCTTACTGGGGCCAAGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO: 155)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYLMHWVKQKPGQGLEWIGYINPYNDGTYNERFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARNWDVPYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO: 156)

Последовательности человеческих каркасных участков отбирали для каждого мышиногo "лидерногo" антитела на основе гомологии каркасных участков, структуры CDR, консервативных канонических остатков, консервативных остатков, образующих поверхность раздела, и других параметров.

CDR мышинных тяжелых цепей и легких цепей различных мышинных антител представлены в табл. 3 и табл. 4 соответственно. В табл. 4 представлены также три CDR тяжелых цепей, выведенных из мышиногo антитела 6B8 при осуществлении процесса гуманизации.

Таблица 3. Последовательности CDR легких цепей

	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
18C4	RASQSISEYLH (SEQ ID NO: 1)	YASQSI (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
18E5	RASQISDYLY (SEQ ID NO: 4)	FASQSI (SEQ ID NO: 5)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
18D3	RASQISDYLY (SEQ ID NO: 4)	FASQSI (SEQ ID NO: 5)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
20E8	RASQSISEYLH (SEQ ID NO: 1)	YASQSI (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
22E2	RASQISVYLH (SEQ ID NO: 6)	YASQSI (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
24A5	RASQISDYLY (SEQ ID NO: 7)	YASQSI (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
15C11	RSSQSLVHSGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 10)
43F5	RSSQSLVHSGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 10)
27G8	RASKSVSTSGYSYIH (SEQ ID NO: 11)	LASNLD (SEQ ID NO: 12)	QHSRELPYT (SEQ ID NO: 13)
31H9	RASQISDYLY (SEQ ID NO: 7)	YASQSI (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPYT (SEQ ID NO: 14)
2D1	RTSESVYSYGQNFH (SEQ ID NO: 15)	RASNLES (SEQ ID NO: 16)	QQTNEPYT (SEQ ID NO: 17)
9D12	RASETINFGTSFMH (SEQ ID NO: 18)	RASNLES (SEQ ID NO: 16)	QQTNEPYT (SEQ ID NO: 17)
6B8	KASRDVAIAVA (SEQ ID NO: 19)	WASTRHT (SEQ ID NO: 20)	HQYSSYPFT (SEQ ID NO: 21)
73H10	RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 22)	AARNLAD (SEQ ID NO: 23)	QHYYSTPFT (SEQ ID NO: 24)
74H3	RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 22)	AATNLAD (SEQ ID NO: 25)	LHYYSTPFT (SEQ ID NO: 26)
35H8	RSSQSLVHSGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 10)
26F7	RASKSVRFSDFYFMH (SEQ ID NO: 27)	LASNLES (SEQ ID NO: 28)	QNSRELPYT (SEQ ID NO: 29)
34G3	RSSQSLVHSGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 10)
34D9	KASQDVGNAV (SEQ ID NO: 30)	WASTRHI (SEQ ID NO: 31)	QQYSSYLT (SEQ ID NO: 32)

Таблица 4. Последовательности CDR тяжелых цепей

	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3
18C4	GYTFTSSVIH (SEQ ID NO: 33)	YINPYNDGTYNEKFKG (SEQ ID NO: 34)	RLDEAY (SEQ ID NO: 35)
18E5	GYTFTRYLIH (SEQ ID NO: 36)	YINPYNDGTYNEKFKG (SEQ ID NO: 34)	NWDLDY (SEQ ID NO: 37)
18D3	GYTFTRYLIH (SEQ ID NO: 36)	YINPYNDGTYNEKFKG (SEQ ID NO: 34)	NWDLDY (SEQ ID NO: 37)
20E8	GYTFTSSVMH (SEQ ID NO: 38)	YINPYNDGTQYNEKFKG (SEQ ID NO: 39)	RLDEAY (SEQ ID NO: 35)
22E2	GYTFTSSIIH (SEQ ID NO: 40)	YINPYDDVTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 41)	RWDESY (SEQ ID NO: 42)
24A5	GYTFTTSIMH (SEQ ID NO: 43)	YINPYDDVTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 41)	RWDEAY (SEQ ID NO: 44)
15C11	GYTFTDYMN (SEQ ID NO: 45)	VIIPYNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO: 46)	DGHRWYFDV (SEQ ID NO: 47)
43F5	GYSFTGYMN (SEQ ID NO: 48)	EIIPYNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO: 49)	ESGGFYWYFDV (SEQ ID NO: 50)
27G8	GYTFTDHTIH (SEQ ID NO: 51)	YIYPRDGYPKFNEKFKG (SEQ ID NO: 52)	RPPYYAMDY (SEQ ID NO: 53)
31H9	GYTFTRYLMH (SEQ ID NO: 54)	YINPYNDGTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 55)	NWDYAY (SEQ ID NO: 56)
2D1	GFSLTTYAIS (SEQ ID NO: 57)	VIWTGGGTYNSALKS (SEQ ID NO: 58)	KDYNYGGAMDY (SEQ ID NO: 59)
9D12	GFSLNNFAIS (SEQ ID NO: 60)	AIWTGGGTYNSALKS (SEQ ID NO: 61)	KDYSYGGAMDY (SEQ ID NO: 62)
6B8	GNTFTDQTIH (SEQ ID NO: 63)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO: 64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO: 65)
Hu_6B8-2	GYTFTDQTIH (SEQ ID NO: 66)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO: 64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO: 65)
Hu_6B8-5	GFTFTDQTIH (SEQ ID NO: 67)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO: 64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO: 65)
Hu_6B8-36/65	GGTFTDQTIH (SEQ ID NO: 68)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO: 64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO: 65)
73H10	GYTFTRYVMH (SEQ ID NO: 69)	YINPYNDVTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 70)	NWDVPY (SEQ ID NO: 71)
74H3	GYTFTRYLMH (SEQ ID NO: 54)	YINPYNDGTYNERFKG (SEQ ID NO: 72)	NWDVPY (SEQ ID NO: 71)
35H8	GYTFTDYMN (SEQ ID NO: 45)	VIIPYNGGISYNQKFKG (SEQ ID NO: 73)	NDYDWYFDV (SEQ ID NO: 74)
26F7	GYTFTDYMN (SEQ ID NO: 45)	DFNHNDVITYNPKFKG (SEQ ID NO: 75)	GLRGYYAMDY (SEQ ID NO: 76)
34G3	GYSFTDYNMN (SEQ ID NO: 77)	VIIPNYGFTSYNQKFKG (SEQ ID NO: 78)	DGGILLWYLDV (SEQ ID NO: 79)
34D9	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO: 80)	DINPHNGGTIYNQKFKG (SEQ ID NO: 81)	NYYGSSYGWYFDV (SEQ ID NO: 82)

CDR, представленные выше в табл. 3 и 4, определены согласно номенклатуре Хотиа (Al-Lazikani и др., JMB 273, 1997, сс.927-948).

Fab-фрагменты, для которых обнаружено улучшенное или эквивалентное связывание по сравнению с химерным родительским Fab-фрагментом, отбирали для конверсии в формат IgG. 6B8 превращали в формат IgG1KO. IgG1KO ("выключение" (knock-out) эффекторных функций) имеет две мутации в Fc-области, а именно, Leu234Ala и Leu235Ala, которые снижают эффекторную функцию, такую как связывание FcγR и комплемента. IgG-формат описан в литературе (см., например, Hezareh и др., Journal of Virology 75, 2001, сс. 12161-12168). В примере 1 более подробно описан процесс гуманизации. В результате осуществления указанной гуманизации удалось создать последовательности гуманизированных антител. Репрезентативные примеры переменных областей легкой цепи и тяжелой цепи, выведенных из мышиного антитела 6B8, представлены в табл. 5 и 6. Сравнительный анализ первичной структуры гуманизированных переменных областей легкой цепи и тяжелой цепи, выведенных из мышиного антитела 6B8, и переменных областей легкой цепи и тяжелой цепи из мышиного антитела 6B8, представлен на фиг. 1.

Отобранные комбинации гуманизированных переменных областей легкой цепи и тяжелой цепи, выведенных из мышиного антитела 6B8, позволили создать Антитела А, В, С и D.

Антитело А: 6B8-IgG1KO-2 с IgK-66 (переменная область тяжелой цепи 6B8CVH-02 и переменная область легкой цепи 6B8CVK-66);

Антитело В: 6B8-IgG1KO-5 с IgK-66 (переменная область тяжелой цепи 6B8CVH-05 и переменная область легкой цепи 6B8CVK-66);

Антитело С: 6B8-IgG1KO-2 с IgK-65 (переменная область тяжелой цепи 6B8CVH-02 и переменная область легкой цепи 6B8CVK-65);

Антитело D: 6B8-IgG1KO-5 с IgK-65 (переменная область тяжелой цепи 6B8CVH-05 и переменная область легкой цепи 6B8CVK-65).

Антитела А, В, С и D имеют последовательности тяжелых и легких цепей, которые представлены в табл. 7.

Таблица 5. Гуманизированные последовательности 6B8-VK

6B8CVK-65	Gacatccagatgaccagagccsaagcagcctgagcggcagcgtggcgaccgctgaccatcacctgc aaggccagccgcgacgtggccatcggcctggctggtaccagcagaagccaggaaggtgccaagctg ctgctgttctggccagcaccgccacaccggcgtgccaagaccgttcagcggcagcggcagcggcacc gacttcacctgaccatcagcagcctgcagccagaggacctggccgactactactgcccagctacagcag ctaccattcaccttcggcagggcaccgaagctggagatcaag (SEQ ID NO: 157)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASRDVAIAVAWYQQKPKGKVPKLLL FWASTRHTGVPDRFSGSGSRTDFLTISSLQPEDLADYYCHQYSSYPFT FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 158)
6B8CVK-66	Gacatccagatgaccagagccsaagcagcctgagcggcagcgtggcgaccgctgaccatcacctgc aaggccagccgcgacgtggccatcggcctggcctggtaccagcagaagccaggaaggtgccaagctg ctgctgttctggccagcaccgccacaccggcgtgccaagaccgttcagcggcagcggcagcggcacc gacttcacctgaccatcagcagcctgcagccagaggacgtggccgactactactgcccagctacagcag ctaccattcaccttcggcagggcaccgaagctggagatcaag (SEQ ID NO: 159)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASRDVAIAVAWYQQKPKGKVPKLLI YWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFT FGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 160)
6B8CVK-67	Gacatccagatgaccagagccsaagcagcctgagcggcagcgtggcgaccgctgaccatcacctgc aaggccagccgcgacgtggccatcggcctggcctggtaccagcagaagccaggaaggtgccaagctg ctgctgttctggccagcaccgccacaccggcgtgccaagaccgttcagcggcagcggcagcggcacc gacttcacctgaccatcagcagcctgcagccagaggacgtggccgactactactgcccagctacagcag ctaccattcaccttcggcagggcaccgaagctggagatcaag (SEQ ID NO: 161)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASRDVAIAVAWYQQKPKGKVPKLLL YWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFLTISSLQPEDVATYYCHQYSSYPFT FGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 162)
6B8CVK-78	Gacatccagatgaccagagccsaagcagcctgagcggcagcgtggcgaccgctgaccatcacctgc aaggccagccgcgacgtggccatcggcctggcctggtaccagcagaagccaggaaggtgccaagctg ctgctgttctggccagcaccgccacaccggcgtgccaagaccgttcagcggcagcggcagcggcacc gacttcacctgaccatcagcagcctgcagccagaggacgtggccgactactactgcccagctacagcag ctaccattcaccttcggcagggcaccgaagctggagatcaag (SEQ ID NO: 163)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCKASRDVAIAVAWYQQKPKGKVPKLLL FWASTRHTGVPDRFSGSGSRTDFLTISSLQPEDLADYYCHQYSSYPFT FGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 164)

Таблица 6. Гуманизированные последовательности 6B8-VH

6B8CVH-02	Caggtgcagctggtgcagagcggcggcggaggtgaagaagccagcagcagcgtgaaggtgagctgcaa ggccagcggcgtacacctcaccgaccagaccatccactggatgcccagccagccagggcctgga gtggatcggctacatctaccacgcgacgacagccaaagtacaacgagaactcaaggccaaggtcacc atcaccggcgacaagagcaccagcaccgctacatggagctgagcagcctgcgacgagcagcggc gtgtactactgcccattccagaccgagcggctacgctggttcactactggggccagggcaccctggt gacctgagcagc (SEQ ID NO: 165)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLE WIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCAIPDRSGYAWFIYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 166)
6B8CVH-05	Caggtgcagctggtgcagagcggcggcggaggtgaagaagccagcagcagcgtgaaggtgagctgcaa ggccagcggcgtcactcaccgaccagaccatccactgggtgcccagccagccagggcctgga gtggatggcctacatctaccacgcgacgacagccaaagtacaacgagaactcaaggccaaggtcacc ctgaccggcacaagagcaccagcaccgctacatggagctgagcagcctgcgacgagcagaccggc gtgtactactgcccattccagaccgagcggctacgctggttcactactggggccagggcaccctggt gacctgagcagc (SEQ ID NO: 167)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFTDQTIHWVVRQAPGQGLEW MGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAIPDRSGYAWFIYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 168)
6B8CVH-36	Caggtgcagctggtgcagagcggcggcggaggtgaagaagccagcagcagcgtgaagaccagctgcaa ggccagcggcggcactcaccgaccagaccatccactgggtgcccagcggcagccagggcctgga gtggatggcctacatctaccacgcgacgacagccaaagtacaacgagaactcaaggccgctcacc atcaccggcacaagagcaccagcaccgctacatggagctgagcagcctgcgacgagcagaccggc gtgtactactgcccattccagaccgagcggctacgctggttcactactggggccagggcaccctggt gacctgagcagc (SEQ ID NO: 169)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKTSCKASGGTFTDQTIHWVVRQRPQGLEW MGYIYPRDDSPKYNENFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAIPDRSGYAWFIYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 170)
6B8CVH-65	Caggtgcagctggtgcagagcggcggcggaggtgaagaagccagcagcagcgtgaaggtgagctgcaa ggccagcggcggcactcaccgaccagaccatccactgggtgcccagccagccagggcctgga gtggatggcctacatctaccacgcgacgacagccaaagtacaacgagaattcaaggccgctcacc tgaccggcacaagagcaccagcaccgctacatggagctgagcagcctgcgacgagcagaccggc gtgtactctgcccggcagaccgagcggctacgctggttcactactggggccagggcaccctggt gacctgagcagc (SEQ ID NO: 171)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTDQTIHWVVRQAPGQGLEW MGYIYPRDDSPKYNENFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYF CARPDRSGYAWFIYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO: 172)

Таблица 7. Последовательности ДНК и аминокислотные последовательности тяжелых и легких цепей антител А, В, С и D

Антитело А	IgK, легкая цепь, № 66	<u>Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcggcagcgtgg</u> <u>gcgaccgctgaccatcacctgcaaggccagccgacgtggccatc</u> <u>gccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaaagctgct</u> <u>gatctactggccagcaccgcccacaccggcgtgccaaagccgcttc</u> <u>ggcgagcggcagccgaccgacttcaccctgaccatcagcagcctg</u> <u>cagccagaggacgtggccgactacttctgccaccagtacagcagctac</u> <u>ccattcaccttcggcagcggcaccagctggagatcaagcgtactgtg</u> <u>ctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatc</u> <u>ggaactgcctctgttgtgctgctgaataacttctatcccagagaggc</u> <u>caaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcca</u> <u>ggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctc</u> <u>agcagcaccctgacgctgagcaagcagactacgagaacacaaaagt</u> <u>ctagcctggaagtcaccatcagggcctgagctcggccgtcaca</u> <u>gagctcaacaggggagagtgt (SEQ ID NO: 173)</u>
		<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAV</u> <u>AWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSTRFSGS</u> <u>GSRTDFLLTISSLOPEDVADYFCHQYSSYPFTF</u> <u>GSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV</u> <u>VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV</u> <u>TEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE</u> <u>VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 174)</u>
	IgG1 KO, тяжелая цепь, № 2	<u>Caggtgcagctggtgcagagcggcggcaggtgaagaagccaggc</u> <u>agcagcgtgaaggtgagctgcaagccagcggctacacctcaccga</u> <u>ccagaccatccactggatgcccagggccccagggcagggcctggagt</u> <u>ggatcggctacatctaccacgcgacgacagccaaagtacaacgag</u> <u>aactcaagggcaaggtcaccatcaccgcccacaagagcaccagcac</u> <u>cgctacatggagctgagcagcctcgcagcgaggacaccggcgtgt</u> <u>actactcgccatcccagaccgagcggctacgctggtcatctactg</u>

		<p><u>gggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcgctccaccaagggc</u> <u>ccatcggtcttccccctggcaccctctccaagagcacctctgggggca</u> <u>cagcgccctgggctgctggtcaaggactactccccgaaccgggta</u> <u>cggtgctgtggaactcagggcgccctgaccagcggtgcacacctcc</u> <u>cggtgtctactagctctcaggactctactccctcagcagcgtggtgac</u> <u>cagaagcccagcaaccaaggctgacaagagagttgagcccaaat</u> <u>tttgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcaccagaagctgc</u> <u>tgggggaccgtcagtcttctcttcccccaaaaccaaggacacctc</u> <u>atgatctccggaccctgaggtcacatgcgtcgtggtggacgtgagc</u> <u>cacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga</u> <u>ggtgcataatgcaagacaagccgcggaggagcagtaaacagc</u> <u>acgtaccgtgtggtcagcgtctcaccgtctgcaccaggactgggtga</u> <u>atgcaaggagtagaagtcaaggtctccaacaagccctcccagcc</u> <u>cccatcgagaaaaccatctccaagccaaggcgagccccgagaacc</u> <u>acaggtgtacacctgccccatccgggaggagatgaccaagaacc</u> <u>aggtcagcctgacctgctgtaaaaggctctatcccagcgacatgc</u> <u>cgtggagtgggagagaatgggcagccggagaacaactacaagacc</u> <u>acgctcccgtgctggactccgacggctcttctctctacagcaagct</u> <u>caccgtggacaagagcaggtggcagcaggggacgtcttctcatgctc</u> <u>cgtgatcatgaggctctgcacaaccactacgcagaagagcctctc</u> <u>cctgtctccgggt (SEQ ID NO: 175)</u></p>
		<p><u>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQ</u> <u>TIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENF</u> <u>KGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC</u> <u>AIPDRSGYAWFIYWGQGLVTVSSASTKGPSV</u> <u>FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW</u> <u>NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS</u> <u>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT</u> <u>HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT</u> <u>EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA</u> <u>KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE</u> <u>YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL</u> <u>PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES</u> <u>NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS</u> <u>RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u> <u>(SEQ ID NO: 176)</u></p>
Антитело В	IgK, легкая цепь, № 66	(SEQ ID NO: 173)
		(SEQ ID NO: 174)
	IgG1KO, тяжелая цепь, № 5	<p><u>caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaagaagccaggca</u> <u>gcagcgtgaaggtgagctcaaggccaagcggcctcaccctcaccgac</u> <u>cagaccatccactgggtgcgccagggccccagggcctggagt</u> <u>ggatgggctacatctaccacgcgacgacagcccaaggtacaacgag</u> <u>aactcaaggcaaggtcacctgaccgcccacaagagcaccagcac</u> <u>cgctacatggagctgagcagcctgcgcagcgaggacaccgctgt</u> <u>actactgcgcatcccagaccgcagcggctacgcctggtcatctactg</u></p>

		<p>gggccagggcaccctggtgaccctgagcagcgcctccaccaagggc ccatcggtcttcccctggcaccctctccaagacacctctgggggca cagcggccctgggctgctggtcaaggactactccccgaaccgggga cggtgctgctggaactcagcgcctgaccagcggcgtgcacacctcc cggtgctctacagtctcaggactctactcctcagcagcgtggtgac cgtgccctccagcagctgggcaccagacctacatctgcaactgtaa cacaagcccagcaaccaaggctgacaagagaggtgagcccaaatc ttgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagcaccagaagctgc tgggggaccgtcagtcttcttcccccaaaaccaaggacacctc atgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtgacgtgac cacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtgga ggtgcataatgccaagacaaagccgaggaggagcagtaaacagc acgtaccgtggtgacgctcctaccgtcctgaccagactggctga atggcaaggagtaacaagtcaaggtctccaacaagcctccagcc cccacgagaaaacatctccaagccaaagggcagccccgagaacc acaggtgtacacctgccccatccgggaggagatgaccaagaacc aggtcagcctgacctgcctggtcaaaaggcttctatcccagcagatgc cgtggagtgggagagaatgggcaagcggagaacaactacaagacc acgcctcccgtgctggactccgacggctcttcttctctacagaaact caccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaactcttctcatgctc cgtgatcatgaggctctgcacaaccactacgcagaagacctctc cctgtctccgggt (SEQ ID NO: 177)</p>
		<p><u>QVQLVQSGAEVKKPKGSSVKVSCKASGFTFTDQ</u> <u>TIHWVROAPGQGLEWMGYIYPRDDSPKYNEN</u> <u>FKGKVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYY</u> <u>CAIPDRSGYAWFIYWQGLTLVTVSSASTKGS</u> VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEV ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG (SEQ ID NO: 178)</p>
Антитело С	IgK, легкая цепь, № 65	<p><u>Gacatccagatgaccagagcccaagcagcctgagcggcagcgtg</u> <u>gacaccgctgaccatcacctgcaaggccagccgagcgtggccatc</u> <u>gcccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaagctgct</u> <u>gctgttctgggcccagcaccgcccacaccggcgtgccagaccgctca</u> <u>gcgagcggcagcggcaccgacttcacctgaccatcagcagcctg</u> <u>cagccagaggacctggccgactactactgccaccagtacagcagcta</u> <u>ccattcaccttcggccagggcaccagctggagatcaagcgtactgt</u> ggctgcaccatctgttctctcttcccacctctgatgagcagttgaaatc tggaaactgcctctgtgtgctgctgaataacttctatcccagagagg ccaaagtacagtggaaaggtggataacgccctcaatcgggtaactccc aggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcct cagcagcacctgacgctgagcaagcagactacgagaaacacaaa</p>

		gtctacgcctgcaagtcaccatcagggcctgagctgcccgtcaca aagagctcaacaggggagagtgt (SEQ ID NO: 179)
		<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASRDVAIAV</u> <u>AWYQQKPGKVPKLLFWASTRHTGVPDRFSG</u> <u>SGSGTDFLTITSSLOPEDLADYYCHQYSSYPFT</u> <u>FGQGTKLEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 180)
	IgG1KO, тяжелая цепь, № 2	(SEQ ID NO: 175)
		(SEQ ID NO: 176)
Антитело D	IgK, легкая цепь, № 65	(SEQ ID NO: 179)
		(SEQ ID NO: 180)
	IgG1KO, тяжелая цепь, № 5	(SEQ ID NO: 177)
		(SEQ ID NO: 178)

В приведенной выше табл. 7 подчеркнуты переменные области легких цепей и тяжелых цепей Антител А, В, С и D.

Гуманизованное антитело к IL-23p19, описанное в данной заявке, может обладать по меньшей мере одним или всеми указанными ниже свойствами.

K_D в отношении человеческого IL-23 составляет ≤ 1 пМ (отсутствует сдвиг скорости ассоциации в 50%-ной человеческой сыворотке).

Блокирует связывание IL-23 с человеческим IL-23R/Fc *in vitro*.

Не связывается с человеческим IL-12.

Ингибирует индуцируемое человеческим IL-23 производство IL-17 в мышинных спленоцитах, что характеризуется $IC_{50} \leq 20$ пМ.

Ингибирует индуцируемое человеческим IL-23 фосфорилирование STAT3 в человеческих DB-клетках, что характеризуется $IC_{50} \leq 40$ пМ.

Не прогнозируется наличие ADCC/CDC-активности.

$K_D \leq 1$ пМ в отношении IL-23 обезьян циномогус.

Отсутствует перекрестная реактивность с мышинным или крысиным IL-23.

Ингибирует индуцируемое человеческим IL-23 производство IL-17 и IL-22 в мышинном ухе ($\geq 80\%$ -ное ингибирование обоих цитокинов при концентрации 1 мг/кг).

Стабильность при температуре до 83°C (температура плавления 83°C по данным измерений с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии).

Растворимость ≥ 100 мг/мл (по данным измерений с помощью УФ-спектроскопии и мониторинга мутности).

При подкожном введении в дозе 1,0 мг/кг трем обезьянам циномогус имеет место длительная (≥ 10 нМ) экспозиция в течение примерно 28 дней при биологической доступности примерно 70%.

Под понятием "не прогнозируется наличие ADCC/CDC-активности" в контексте настоящего описания подразумевается, что гуманизованное антитело к IL-23p19 обладает пониженной аффинностью к Fc-рецептору и следовательно у него прогнозируется отсутствие ADCC/CDC-активности.

Кроме того, гуманизованное антитело к IL-23p19 может обладать по меньшей мере одним или всеми указанными ниже свойствами:

K_D в отношении человеческого IL-23 составляет ≤ 1 пМ (отсутствует сдвиг скорости ассоциации в 50%-ной человеческой сыворотке).

Блокирует связывание IL-23 с человеческим IL-23R/Fc *in vitro*.

Не связывается с человеческим IL-12.

Ингибирует индуцируемое человеческим IL-23 производство IL-17 в мышинных спленоцитах, что характеризуется $IC_{50} \leq 20$ пМ.

Ингибирует индуцируемое человеческим IL-23 фосфорилирование STAT3 в человеческих DB-клетках, что характеризуется $IC_{50} \leq 40$ пМ.

Не прогнозируется наличие ADCC/CDC-активности.

$K_D \leq 1$ пМ в отношении IL-23 обезьян циномогус.

Отсутствует перекрестная реактивность с мышинным или крысиным IL-23.

Ингибирует индуцируемое человеческим IL-23 производство IL-17 и IL-22 в мышинном ухе ($\geq 80\%$ -ное ингибирование обоих цитокинов при концентрации 1 мг/кг).

Стабильность при температуре до 83°C (температура плавления 83°C по данным измерений с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии).

Растворимость ≥ 100 мг/мл (по данным измерений с помощью УФ-спектроскопии и мониторинга мутности).

Оно может также обладать одним или всеми указанными ниже свойствами.

K_D в отношении человеческого IL-23 составляет ≤ 1 пМ (отсутствует сдвиг скорости ассоциации в 50%-ной человеческой сыворотке).

Не связывается с человеческим IL-12.

$K_D \leq 1$ пМ в отношении IL-23 обезьян циномоглус.

Отсутствует перекрестная реактивность с мышинным или крысиным IL-23. В частности, гуманизованное антитело характеризуется K_D в отношении человеческого IL-23, составляющей ≤ 1 пМ (отсутствует сдвиг скорости ассоциации в 50%-ной человеческой сыворотке), и не связывается с человеческим IL-12.

Гуманизованное антитело к IL-23p19 может обладать по меньшей мере одним или всеми указанными ниже свойствами.

Блокирует связывание IL-23 с человеческим IL-23R/Fc *in vitro*.

Ингибирует индуцируемое человеческим IL-23 производство IL-17 в мышинных спленocyтaх, что характеризуется $IC_{50} \leq 20$ пМ.

Ингибирует индуцируемое человеческим IL-23 фосфорилирование STAT3 в человеческих DB-клетках, что характеризуется $IC_{50} \leq 40$ пМ.

Ингибирует индуцируемое человеческим IL-23 производство IL-17 и IL-22 в мышинном ухе ($\geq 80\%$ -ное ингибирование обоих цитокинов при концентрации 1 мг/кг).

Гуманизованное антитело к IL-23p19 может обладать по меньшей мере одним или всеми указанными ниже свойствами.

Не прогнозируется наличие ADCC/CDC-активности.

Стабильность при температуре до 83°C (температура плавления 83°C по данным измерений с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии).

Растворимость ≥ 100 мг/мл (по данным измерений с помощью УФ-спектроскопии и мониторинга мутности).

При подкожном введении в дозе 1,0 мг/кг трем обезьянам циномоглус имеет место длительная (≥ 10 нМ) экспозиция в течение примерно 28 дней при биологической доступности примерно 70%.

Гуманизованное антитело к IL-23p19 обладает по меньшей мере одним или всеми указанными ниже свойствами.

Не прогнозируется наличие ADCC/CDC-активности.

Стабильность при температуре до 83°C (температура плавления 83°C по данным измерений с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии).

Растворимость ≥ 100 мг/мл (по данным измерений с помощью УФ-спектроскопии и мониторинга мутности).

Гуманизованное антитело обладает блокирующей активностью, при этом оно снижает связывание IL-23 с рецептором IL-23 по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Способность антитела блокировать связывание IL-23 с рецептором IL-23 можно оценивать с помощью анализов связывания в конкурентных условиях, известных в данной области. В альтернативном варианте блокирующую активность антитела можно измерять путем оценки биологических действий IL-23, таких как производство IL-17 и IL-22, для определения того, ингибируется ли опосредуемая рецептором IL-23 передача сигналов.

Гуманизованное антитело к IL-23p19 присутствует в буфере по меньшей мере на 90% в мономерной форме, или по меньшей мере на 92% в мономерной форме, или по меньшей мере на 95% в мономерной форме. Гуманизованное антитело к IL-23p19 сохраняется в буфере по меньшей мере на 90% в мономерной форме, или по меньшей мере на 92% в мономерной форме, или по меньшей мере на 95% в мономерной форме в течение 1 месяца или в течение 4 месяцев.

Способность антитела или его антигенсвязывающего фрагмента конкурировать за связыванием с IL-23p19 можно оценивать с помощью анализов связывания в конкурентных условиях, известных в данной области.

Гуманизованные антитела к IL-23p19 необязательно включают специфические аминокислотные замены в консенсусных каркасных участках или каркасных участках зародышевой линии. Специфическая замена аминокислотных остатков в этих каркасных положениях может улучшать различные аспекты

характеристик антител, такие как аффинность связывания и/или стабильность, по сравнению с теми, которые характерны для гуманизированных антител, полученных путем "непосредственного обмена" CDR или HVL на каркасные участки человеческой зародышевой линии.

Фрагменты антител описаны в целом выше и разработаны методики для получения фрагментов антител. Фрагменты можно получать путем протеолитического расщепления интактных антител (см., например, Morimoto и др., *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24, 1992, сс. 107-117 и Brennan и др., *Science* 229, 1985, с. 81). В альтернативном варианте фрагменты можно получать непосредственно в рекомбинантных клетках-хозяевах. Например, Fab'-SH-фрагменты можно выделять непосредственно из *E. coli* и химически сшивать с получением F(ab')₂-фрагментов (см., например, Carter и др., *Bio/Technology* 10, 1992, сс. 163-167). Согласно другому подходу F(ab')₂-фрагменты можно выделять непосредственно из культуры рекомбинантной клетки-хозяина. Другие методики получения фрагментов антител должны быть очевидны специалисту в данной области.

Антитело или фрагмент антитела может включать константную область, которая опосредует эффекторную функцию. Константная область может опосредовать ответы, представляющие собой антитело-обусловленную клеточнозависимую цитотоксичность (ADCC), антитело-обусловленный клеточный фагоцитоз (ADCP) и/или комплементзависимую цитотоксичность (CDC), в отношении клетки-мишени, экспрессирующей IL-23. Эффекторный(ые) домен(ы) может(могут) представлять собой, например, Fc-область молекулы Ig.

Эффекторный домен антитела можно получать из организма любых приемлемых видов позвоночных животных и любых изотипов. Изотипы из организма различных видов животных отличаются по способности опосредовать эффекторные функции. Например, по способности опосредовать CDC и ADCC/ADCP человеческие иммуноглобулины, как правило, располагаются в следующем порядке $IgM \approx IgG_1 \approx IgG_3 > IgG_2 > IgG_4$ и $IgG_1 \approx IgG_3 > IgG_2 / IgM / IgG_4$ соответственно. Мышинные иммуноглобулины по своей способности опосредовать CDC и ADCC/ADCP, как правило, располагаются в следующем порядке: мышинный $IgM \approx IgG_3 >> IgG_{2b} > IgG_{2a} >> IgG_1$ и $IgG_{2b} > IgG_{2a} > IgG_1 >> IgG_3$ соответственно. В другом примере мышинный IgG_{2a} опосредует ADCC, а мышинный IgG_{2a} и IgM оба опосредуют CDC.

Модификации антител.

Гуманизированные антитела и агенты к IL-23p19 могут включать модификации гуманизированного антитела к IL-23p19 или его антигенсвязывающего фрагмента. Например, может потребоваться модифицировать антитело в отношении его эффекторной функции, повышая тем самым эффективность антитела при лечении рака. Одной из таких модификаций является интродукция остатка(ов) цистеина в Fc-область, что приводит к образованию в этой области дисульфидной связи между цепями. Полученное таким образом гомодимерное антитело может обладать улучшенной способностью к интернализации и/или повышенной комплементзависимой цитотоксичностью и антитело-обусловленной клеточнозависимой цитотоксичностью (ADCC) (см., например, Caron и др., *J. Exp. Med.*, 176, 1992, сс.1191-1195 и Shopes, *J. Immunol.*, 148, 1992, сс.2918-2922). Гомодимерные антитела с повышенной противоопухолевой активностью можно получать также с использованием гетеробифункциональных перекрестносшивающих линкеров, описанных у Wolff и др., *Cancer Research*, 53, 1993, сс.2560-2565. В альтернативном варианте можно сконструировать антитело, имеющее удвоенное количество Fc-областей, благодаря чему оно может иметь повышенную способность к зависящему от комплемента лизису и ADCC (см. Stevenson и др., *Anti-Cancer Drug Design*, 3, 1989, сс. 219-230).

Антитела с повышенной способностью поддерживать ADCC получали путем модификации схемы гликозилирования их Fc-области. Это представляется возможным, поскольку гликозилирование антитела на остатке аспарагина, N297, в C_{H2}-домене участвует во взаимодействии между IgG и Fcγ-рецепторами, которое необходимо для ADCC. Конструировали линии клеток-хозяев для экспрессии антител с измененным гликозилированием, например, с повышенным уровнем бисекционирующего N-ацетилглюкозамина или пониженным уровнем фукозы. Пониженный уровень фукозы обеспечивает более значительное повышение ADCC-активности, чем увеличение уровня бисекционирующего N-ацетилглюкозамина. Кроме того, повышенная ADCC-активность антител с низким уровнем фукозы не зависит от V/F-полиморфизма FcγRIIIa.

Модификация аминокислотной последовательности Fc-области антител является альтернативой гликозилирования в отношении повышения ADCC-активности. Сайт связывания на человеческом IgG₁ для Fcγ-рецепторов был определен с помощью расширенного анализа мутаций. Это позволило создавать гуманизированные антитела изотипа IgG₁ с мутациями в Fc-области, которые повышали аффинность связывания с FcγRIIIa и усиливали ADCC-активность *in vitro*. Кроме того, получали варианты Fc с многочисленными различными пермутациями способности к связыванию, например, с повышенной способностью к связыванию со специфическими FcγR-рецепторами, но с неизменной или пониженной способностью к связыванию с другими FcγR-рецепторами.

Иммуноконъюгаты содержат гуманизированное антитело или его фрагмент, конъюгированное/конъюгированный с цитотоксическим агентом, таким как химиотерапевтическое средство, токсин (например, обладающий ферментативной активностью токсин бактериального, грибного, растительного

или животного происхождения или их фрагменты) или радиоактивный изотоп (т.е. радиоконъюгат).

Химиотерапевтические средства, которые можно применять для получения таких иммуноконъюгатов, описаны выше. Обладающие ферментативной активностью токсины и их фрагменты, которые можно применять, включают цепь А дифтерийного токсина, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, цепь А экзотоксина (из *Pseudomonas aeruginosa*), цепь А рицина, цепь А абрина, цепь А модещина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, белки диантина, белки *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII и PAP-S), ингибитор из *Momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор из *Sapaonaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин, трикотецены и т.п. Для получения радиоконъюгатов гуманизированных антител к IL-23p19 можно применять различные радионуклиды. Их примерами являются ^{212}Bi , ^{131}I , ^{131}In , ^{90}Y и ^{186}Re .

Конъюгаты гуманизированного антитела к IL-23p19 и цитотоксического или химиотерапевтического средства можно получать известными методами, с использованием целого ряда бифункциональных связывающих белки агентов, таких как N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитиол)пропионат (SPDP), иминотиолан (IT), бифункциональные производные сложных имидоэфиров (такие как диметиладипимидат-HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидилсуберат), альдегиды (такие как глутаровой альдегид), бисазидосоединения (такие как бис(пара-азидобензоил)гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис(пара-диазонийбензоил)этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол-2,6-диизоцианат) и бис-активные соединения фтора (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол). Например, иммунотоксин рицина можно получать согласно методу, описанному у Vitetta и др., *Science*, 238, 1987, с. 1098. Меченная с помощью C^{14} 1-изоцианатобензил-3-метилдиэтилентриаминпентауксусная кислота (MX-DTPA) является примером хелатирующего агента для конъюгации радионуклеотида с антителом. Конъюгаты можно получать также с использованием расщепляемого линкера.

Гуманизированные антитела к IL-23p19, представленные в настоящем описании, можно приготавливать также в виде иммунолипосом. Липосомы, содержащие антитело, получают методами, известными в данной области, например, описанными у Epstein и др., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 1985, с.3688; Hwang и др., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 1980, с.4030; и в US № 4485045 и 4544545. Липосомы с удлинённым временем жизни в кровотоке описаны, например, в US № 5013556.

Наиболее предпочтительные липосомы можно получать методом упаривания с обращенной фазой с использованием липидной композиции, включающей фосфатидилхолин, холестерин и дериватизированный с помощью ПЭГ фосфатидилэтаноламин (ПЭГ-ФЭ). Липосомы экстрадируют через фильтры с определенным размером пор, получая липосомы требуемого диаметра. Fab'-фрагменты антитела, предлагаемого в настоящем изобретении, можно включать в липосомы согласно методу, описанному у Martin и др., *J. Biol. Chem.*, 257, 1982, сс. 286-288, посредством реакции образования дисульфидной связи. В липосомы необязательно можно включать химиотерапевтическое средство (такое как доксорубин) (см., например, Gabizon и др., *J. National Cancer Inst.*, 81(19), 1989, с. 1484).

Антитела, представленные в настоящем описании, можно применять в ADEPT (процедуры на основе антитело-направленного фермента пролекарственной терапии) путем конъюгации антитела с активирующим пролекарство ферментом, который превращает пролекарство (например, пептидильный химиотерапевтический агент) в активное противораковое лекарственное средство (см., например, WO 81/01145, WO 88/07378 и US № 4975278). Компонент иммуноконъюгата, представляющий собой фермент, который можно применять в ADEPT, может представлять фермент, который обладает способностью оказывать такое воздействие на пролекарство, в результате которого оно превращается в более активную цитотоксическую форму. Конкретные ферменты, которые можно применять в ADEPT, включают (но, не ограничиваясь только ими) щелочную фосфатазу для превращения содержащих фосфат пролекарств в свободные лекарственные субстанции; арилсульфатазу для превращения содержащих сульфат пролекарств в свободные лекарственные субстанции; цитозиндеаминазу для превращения нетоксичного 5-фторцитозина в противораковую лекарственную субстанцию 5-фторурацил; протеазы, такие как протеиназа *Serratia*, термоллизин, субтилизин, карбоксипептидазы и катепсины (такие как катепсины В и L), для превращения содержащих пептид пролекарств в свободные лекарственные субстанции; D-аланилкарбоксипептидазы для превращения пролекарств, содержащих D-аминокислотные заместители; расщепляющие углеводы ферменты, такие как β -галактозидаза и нейраминидаза, для превращения гликозилированных пролекарств в свободные лекарственные субстанции; β -лактамазу для превращения пролекарств, дериватизированных β -лактамами, в свободные лекарственные субстанции; и амидазы пенициллина, такие как амидаза пенициллина V или амидаза пенициллина G, для превращения лекарственных субстанций, дериватизированных по азотам амина феноксиацетильной или фенилацетильной группами, соответственно, в свободные лекарственные субстанции. В альтернативном варианте можно применять антитела с ферментативной активностью ("абзимы") для превращения пролекарств в свободные активные лекарственные субстанции (см., например, Massey, *Nature* 328, 1987, сс.457-458). Конъюгаты антитело-абзим можно получать с помощью известных в данной области методов, предназначенных для введения абзима в популяцию опухолевых клеток, например, путем ковалентного связывания фермента с гуманизированным антителом к IL-23p19/гетеробифункциональными перекрестносшивающими реаген-

тами, которые описаны выше. В альтернативном варианте слитые белки, которые содержат, по меньшей мере, антигенсвязывающую область антитела, сцепленную, по меньшей мере, с функционально активной областью фермента, представленного в настоящем описании, можно конструировать с использованием метода рекомбинантной ДНК (см., например, Neuberger и др., *Nature* 312, 1984, сс. 604-608).

Применение фрагмента гуманизированного антитела к IL-23p19 может потребоваться вместо интактного антитела, например, для повышения способности проникать в ткань, например может потребоваться модифицировать фрагмент антитела для удлинения времени полужизни в сыворотке. Для этой цели можно, например, включать эпитоп, связывающийся с рецептором спасения, во фрагмент антитела. Согласно одному из методов соответствующую область фрагмента антитела можно изменять (например, подвергать мутации) или эпитоп можно встраивать в пептидную метку, которую затем сливают с фрагментом антитела на любом конце или в середине, например, с использованием ДНК или пептидного синтеза (см., например, WO 96/32478).

Можно также применять ковалентные модификации гуманизированного антитела к IL-23p19. Ковалентные модификации включают модификацию цистеинильных остатков, гистидильных остатков, лизинильных и аминоконцевых остатков, аргинильных остатков, тирозильных остатков, карбоксильных боковых групп (аспартил или глутамил), глутаминильных и аспарагинильных остатков, или серильных, или треонинильных остатков. Другой тип ковалентной модификации включает химическое или ферментативное сшивание гликозидов с антителом. Указанные модификации можно осуществлять с помощью химического синтеза или путем ферментативного или химического расщепления антитела, если это возможно. Для интродукции других типов ковалентных модификаций в молекулу антитела можно применять взаимодействие меченых аминокислотных остатков антитела с органическим дериватирующим агентом, который может взаимодействовать с выбранными боковыми цепями или аминоконцевыми или карбокси-концевыми остатками.

Удаление любых углеводных фрагментов, присутствующих на антителе, можно осуществлять химическим или ферментативным путем. Химическое дегликозилирование описано у Hakimuddin и др., *Arch. Biochem. Biophys.* 259, 1987, с. 52 и у Edge и др., *Anal. Biochem.*, 118, 1981, с. 131. Ферментативное отщепление углеводных фрагментов на антителах можно осуществлять с помощью различных эндо- и экзогликозидаз согласно методу, описанному у Thotakura и др., *Meth. Enzymol.*, 138, 1987, с. 350.

Другой тип пригодной ковалентной модификации предусматривает связывание антитела с одним из многочисленных небелковых полимеров, например с полиэтиленгликолем (ПЭГ), полипропиленгликолем или полиоксипалкиленами, с помощью методов, описанных в одном или нескольких из US № 4640835, US № 4496689, US № 4301144, US № 4670417, US № 4791192 и US № 4179337.

Гуманизация и варианты аминокислотной последовательности.

Варианты аминокислотной последовательности антитела к IL-23p19 можно получать путем интродукции соответствующих нуклеотидных изменений в ДНК антитела к IL-23p19 или с помощью пептидного синтеза. Указанные варианты включают, например, делеции и/или инсерции, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антител к IL-23p19, представленных в качестве примера в настоящем описании. Для получения конечной конструкции применяют любую комбинацию делеций, инсерции и замен при условии, что конечная конструкция обладает требуемыми характеристиками. Аминокислотные замены могут изменять также пост-трансляционный процессинг гуманизированного антитела к IL-23p19 или его варианта, например изменение количества или положения сайтов гликозилирования.

Пригодным методом идентификации конкретных остатков или областей в антителе к IL-23p19, которые представляют собой предпочтительные сайты для мутагенеза, является так называемый "аланин-сканирующий мутагенез", описанный у Cunningham и Wells, *Science*, 244, 1989, сс. 1081-1085. С его помощью идентифицируют остаток или группу остатков-мишеней (например, заряженные остатки, такие как arg, asp, his, lys и glu) и заменяют на нейтральную или отрицательно заряженную аминокислоту (как правило, на аланин) для воздействия на взаимодействие аминокислот с антигеном IL-23p19. Те положения аминокислот, для которых продемонстрирована функциональная чувствительность к заменам, затем усовершенствуют путем интродукции дополнительных или других вариантов в сайты замены или для сайтов замены.

При этом, хотя сайт для интродукции вариации аминокислотной последовательности является predetermined, природа самой мутации не является predetermined. Например, для анализа эффективности мутации в рассматриваемом сайте осуществляют сканирование аланином или неспецифический мутагенез кодона-мишени или области-мишени и полученные в результате экспрессии варианты антитела к IL-23p19 подвергают скринингу в отношении требуемой активности.

Инсерции в аминокислотную последовательность включают амино- и/или карбоксиконцевые слияния различной длины от одного остатка до полипептидов, которые содержат сто или большее количество остатков, а также инсерции внутрь последовательности одного или нескольких аминокислотных остатков. Примерами концевых инсерции является антитело к IL-23p19, слитое с эпитопом-меткой. Другие инсерционные варианты молекулы антитела к IL-23p19 включают слияние с N- или C-концом антитела к IL-23p19 фермента или полипептида, который удлиняет время полужизни антитела в сыворотке.

Другим типом варианта является вариант, включающий аминокислотную замену. В этих вариантах по меньшей мере один аминокислотный остаток в молекуле антитела к IL-23p19 удален, а другой остаток встроен на его место. Представляющими наибольший интерес сайтами для мутагенеза путем замен являются гипервариабельные участки, но можно осуществлять также изменения в FR. Консервативные замены представлены в табл. 8 под названием "предпочтительные замены". Если такие замены приводят к изменению биологической активности, то можно интродуцировать более существенные замены, обозначенные как "Примеры замен", или другие замены, описанные ниже при ссылке на класс аминокислот, и затем продукты можно подвергать скринингу.

Таблица 8

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

В химии белков является общепринятым, что биологические свойства антитела можно модифицировать путем выбора замен, которые в значительной степени различаются по их воздействию на поддержание (а) структуры каркаса полипептида в области замены, например, складчатой или спиральной конформации, (б) заряда или гидрофобности молекулы в сайте-мишени или (в) размера боковой цепи. Встречающиеся в естественных условиях остатки подразделяют на группы на основе общих свойств боковых цепей:

- (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr;
- (3) кислые: asp, glu;
- (4) основные: asn, gln, his, lys, arg;
- (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: gly, pro; и
- (6) ароматические: trp, tyr, phe.

Неконсервативные замены предусматривают замену представителя одного из этих классов на представителя другого класса.

Любой из остатков цистеина, не участвующий в поддержании соответствующей конформации гуманизированного антитела к IL-23p19 или его варианта, можно заменять также, как правило, на серин, с целью повышения устойчивости молекулы к окислению и предупреждению аномального перекрестного сшивания или для создания точек для конъюгации с цитотоксическим или цитостатическим соединением. И наоборот, можно вводить в антитело цистеиновую(ые) связь(и) для повышения его стабильности (особенно если антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как Fv-фрагмент).

Один из типов создаваемого путем замены варианта включает замену одного или нескольких остатков гипервариабельного участка родительского антитела (например, гуманизированного или человеческого антитела). Как правило, полученный(ые) в результате вариант(ы), отобранный(е) для дальнейшего усовершенствования, должен(ны) обладать улучшенными биологическими свойствами относительно родительского антитела, из которого оно(они) получено(ы). Приемлемый путь получения таких вариантов на основе замены включает созревание аффинности с использованием фагового дисплея. В целом, метод состоит в следующем: несколько сайтов гипервариабельного участка (например, 6-7 сайтов) подвергают мутации, получая все возможные аминокислотные замены в каждом сайте. Полученные таким образом варианты антитела экспонируются в одновалентной форме на поверхности частиц нитчатого фага в виде слияний с продуктом гена III фага M13, который упакован в каждой частице. Варианты, которые экспонируются фагом, затем подвергают скринингу в отношении их биологической активности (например, аффинности связывания). Для того чтобы выявлять перспективные с точки зрения модифика-

ции сайты гипервариабельного участка, можно осуществлять аланин-сканирующий мутагенез с целью идентификации остатков гипервариабельного участка, которые наиболее важны для связывания антигена. В альтернативном или дополнительном варианте может оказаться целесообразным анализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело с целью выявления точек соприкосновения между антителом и человеческим IL-23p19. Такие остатки в точках соприкосновения и соседние остатки являются кандидатами для замены с помощью способов, разработанных при создании настоящего изобретения. После создания таких вариантов панель вариантов подвергают скринингу, представленному в данном описании, и антитела с улучшенными свойствами по данным одного или нескольких соответствующих анализов можно отбирать для дальнейшей разработки.

Другим типом получения аминокислотного варианта антитела является изменение исходной схемы гликозилирования антитела. Под "изменением" подразумевают делецию одного или нескольких углеводных фрагментов, присутствующих в антителе, и/или добавление одного или нескольких сайтов гликозилирования, не присутствующих в антителе.

Гликозилирование антител обычно происходит посредством либо N-связывания, либо O-связывания. N-связывание предусматривает присоединение углеводного фрагмента к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X обозначает любую аминокислоту кроме пролина, представляют собой распознаваемые последовательности, предназначенные для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи остатка аспарагина. Так, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование предусматривает присоединение одного из Сахаров, таких как N-ацетилгалактозамин, галактоза или ксилоза, к гидроксиминокислоте, наиболее часто к серину или треонину, хотя можно применять также 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин. Таким образом, для гликозилирования данного белка, например антитела, создают аминокислотную последовательность белка, которая содержит одну или несколько описанных выше трипептидных последовательностей (для сайтов N-гликозилирования). Изменение может также представлять собой добавление или замену одного или нескольких остатков серина или треонина в последовательности исходного антитела (для сайтов O-гликозилирования).

Молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют варианты аминокислотных последовательностей антитела к IL-23p19, получают с помощью различных методов, известных в данной области. Эти методы включают (но, не ограничиваясь только ими) выделение из природного источника (в случае встречающихся в естественных условиях вариантов аминокислотных последовательностей) или получение с помощью мутагенеза с использованием олигонуклеотидов (или сайтнаправленного мутагенеза), ПЦР-мутагенеза и касетного мутагенеза полученного ранее варианта или невариантной версии антитела к IL-23p19.

Полинуклеотиды, векторы, клетки-хозяева и методы рекомбинации.

Выделенные полинуклеотиды могут кодировать любую требуемую форму антитела к IL-23p19, включая, например, полноразмерные моноклональные антитела, Fab-, Fab'-, F(ab')₂- и Fv-фрагменты, димерные антитела, линейные антитела, молекулы одноцепочечных антител и мульспецифические антитела, полученные из фрагментов антител.

Полинуклеотид(ы), который(ые) содержит(ат) последовательность, кодирующую гуманизированное антитело к IL-23p19 или его фрагмент или цепь, можно сливать с одной или несколькими регуляторными или контролирующими последовательностями, известными в данной области, и можно включать в приемлемые экспрессионные векторы или клетку-хозяина, известные в данной области. Каждую из молекул полинуклеотида, кодирующего переменные домены тяжелой или легкой цепи, можно независимо друг от друга сливать с полинуклеотидной последовательностью, которая кодирует константный домен, например, человеческий константный домен, что позволяет получать интактные антитела. В альтернативном варианте полинуклеотиды или их участки можно сливать вместе, создавая матрицу для получения одноцепочечного антитела.

Для получения с помощью методов рекомбинации полинуклеотид, кодирующий антитело, встраивают в реплицируемый вектор для клонирования (амплификация ДНК) или для экспрессии. Известно и доступно много приемлемых векторов для экспрессии рекомбинантного антитела. Компонентами вектора, как правило, являются (но, не ограничиваясь только ими) один или несколько следующих элементов: сигнальная последовательность, сайт инициации репликации, один или несколько маркерных генов, энхансерный элемент, промотор и последовательность терминатора транскрипции.

Гуманизированные антитела к IL-23p19 можно получать также в виде слитых полипептидов, в которых антитело слито с гетерологичным полипептидом, таким как сигнальная последовательность или другой полипептид, несущий специфический сайт расщепления на аминоконце зрелого белка или полипептида. Выбранная гетерологичная сигнальная последовательность, как правило, представляет собой последовательность, которая распознается и процессируется (т.е. отщепляется сигнальной пептидазой) в клетке-хозяине. Для прокариотических клеток-хозяев, которые не могут распознавать и процессировать сигнальную последовательность гуманизированного антитела к IL-23p19, сигнальную последовательность можно заменять на прокариотическую сигнальную последовательность. Сигнальная последова-

тельность может представлять собой, например, лидерные последовательности щелочной фосфатазы, пенициллиназы, липопротеина или термостабильного энтеротоксина II и т.п. Для секреции из дрожжей нативную сигнальную последовательность можно заменять, например, на лидерную последовательность, полученную из α -фактора дрожжевой инвертазы (включая лидерные последовательности α -фактора *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*), кислой фосфатазы, глюкоамилазы *S. albicans* или сигнальную последовательность, описанную в WO 90/13646. Для экспрессии в клетках млекопитающих можно применять сигнальные последовательности млекопитающих, а также вирусные секреторные лидерные последовательности, например, gD-сигнал вируса герпеса простого. ДНК, кодирующую указанную область-предшественник, лигируют в рамке считывания с ДНК, которая кодирует гуманизованное антитело к IL-23p19.

Экспрессионные и клонирующие векторы содержат нуклеотидную последовательность, которая позволяет вектору реплицироваться в одной или нескольких выбранных клетках-хозяевах. Как правило, в клонирующих векторах эта последовательность представляет собой последовательность, которая обеспечивает репликацию вируса, не зависящую от хромосомной ДНК хозяина, и она включает сайт инициации репликации или автономно реплицирующиеся последовательности. Такие последовательности хорошо известны для различных бактерий, дрожжей и вирусов. Сайт инициации репликации из плазмиды pBR322 пригоден для большинства грамотрицательных бактерий, сайт инициации плазмиды 2 μ пригоден для дрожжей, а различные вирусные сайты инициации (SV40 (обезьяний вирус 40), вируса полиомы, аденовируса, VSV (вирус везикулярного стоматита) или BPV (вирус папилломы крупного рогатого скота)) пригодны для клонирующих векторов в клетках млекопитающих. Как правило, для экспрессионных векторов млекопитающих не требуется компонент, представляющий собой сайт инициации репликации (как правило, можно применять только сайт инициации репликации SV40, поскольку он содержит ранний промотор).

Экспрессионные и клонирующие векторы могут содержать ген, который кодирует селективируемый маркер, для облегчения идентификации или экспрессии. Как правило, гены селективируемых маркеров кодируют белки, которые обуславливают устойчивость к антибиотикам или другим токсинам, таким как ампициллин, неомицин, метотрексат или тетрациклин, или в альтернативном варианте восполняют аутокотрофную недостаточность, или в другом альтернативном варианте пополняют имеющие решающее значение питательные вещества, которые не присутствуют в комплексных средах, например ген, кодирующий D-аланинацетилазу для *Bacilli*.

В одной из приведенных в качестве примерах схем селекции применяют лекарственное средство для прекращения роста клетки-хозяина. В тех клетках, которые успешно трансформированы гетерологичным геном, образуется белок, обуславливающий устойчивость к лекарственному средству, и поэтому клетки выживают при такой схеме селекции. Примерами лекарственных средств, применяемых для такой доминантной селекции, являются неомицин, микофеноловая кислота и гиромоцин. Общепринятыми селективируемыми маркерами для клеток млекопитающих являются маркеры, позволяющие идентифицировать клетки, компетентные в отношении поглощения нуклеиновой кислоты, которая кодирует гуманизованное антитело к IL-23p19, такие как DHFR (дигидрофолатредуктаза), тимидинкиназа, металлотионеин-I и -II (например, гены металлотионеина приматов), аденозиндеаминаза, орнитиндекарбоксилаза и т.п. Клетки, трансформированные применяемым для селекции геном DHFR, идентифицируют, прежде всего, путем культивирования всех трансформантов в культуральной среде, которая содержит метотрексат (Mtx), конкурентный антагонист DHFR. Приемлемой клеткой-хозяином, когда применяют DHFR дикого типа, является клетка яичника китайского хомячка (CHO) с дефицитом DHFR-активности (например, DG44).

В альтернативном варианте клетки-хозяева (прежде всего, хозяева дикого типа, которые содержат эндогенный ген DHFR), трансформированные или совместно трансформированные последовательностями ДНК, которые кодируют антитело к IL-23p19, белок DHFR дикого типа и другой селективируемый маркер, такой как аминокликозид-3'-фосфотрансфераза (APH), можно отбирать по признаку роста клетки в среде, содержащий селективирующий агент для селективирующего маркера, такой как аминокликозидный антибиотик, например, канамицин, неомицин или G418 (см., например, US №4965199).

Когда получение методом рекомбинации осуществляют с использованием дрожжевой клетки в качестве клетки-хозяина, то в качестве маркера можно применять ген TRP1, который присутствует в полученной из дрожжей плазмиде YRp7 (Stinchcomb и др., *Nature*, 282, 1979, с. 39). Ген TRP1 является селективирующим маркером для мутантного штамма дрожжей, лишенного способности расти в среде с добавлением триптофана, например штамма ATCC №44076 или PEP4-1 (Jones, *Genetics*, 85, 1977, с. 12). Таким образом, наличие повреждения *trp1* в геноме дрожжевой клетки-хозяина обеспечивает эффективное окружение для выявления трансформации по признаку роста в отсутствие триптофана. Аналогично этому, штаммы дрожжей с дефицитом *Leu2p*, такие как ATCC 20622 и 38626, дополняют с помощью известных плазмид, несущих ген *LEU2*.

Кроме того, векторы, полученные из кольцевой плазмиды pKD1 размером 1,6 мкм, можно применять для трансформации дрожжей *Kluyveromyces*. С другой стороны, известна экспрессионная система

для крупномасштабного получения рекомбинантного телячьего химозина в *K. lactis* (Van den Berg, *Bio/Technology* 8, 1990, с. 135). Описаны также стабильные мультикопийные экспрессионные векторы для секреции зрелого рекомбинантного человеческого сывороточного альбумина с помощью промышленных штаммов *Kluuyveromyces* (Fleer и др., *Bio/Technology* 9, 1991, сс.968-975).

Экспрессионные и клонирующие векторы, как правило, содержат промотор, распознаваемый организмом-хозяином и функционально связанный с молекулой нуклеиновой кислоты, которая кодирует антитело к IL-23p19 или его полипептидную цепь. Промоторы, которые пригодны для применения в прокариотических хозяевах, представляют собой промотор *rhoA*, промоторные системы β -лактамазы и лактозы, промоторные системы щелочной фосфатазы, триптофана (*trp*) и гибридные промоторы, такие как промотор *tac*. Можно применять также другие промоторы бактерий. Промоторы, предназначенные для применения в бактериальных системах, содержат также последовательность Шайна-Дальгарно (S.D.), функционально связанную с ДНК, которая кодирует гуманизованное антитело к IL-23p19.

Известны многие промоторные последовательности эукариот. Фактически все гены эукариот имеют богатую АТ область, локализованную примерно на расстоянии 25-30 оснований против хода транскрипции от сайта инициации транскрипции. Другая последовательность, обнаруженная на расстоянии 70-80 оснований от сайта инициации транскрипции многих генов, представляет собой CNCAAT-область, в которой N может обозначать любой нуклеотид. На 3'-конце большинства генов эукариот находится последовательность AATAAA, которая может представлять собой сигнал для добавления поли-А-хвоста к 3'-концу кодирующей последовательности. Все эти последовательности можно встраивать в эукариотические экспрессионные векторы.

Примеры промоторных последовательностей, которые можно применять в дрожжевых клетках-хозяевах, включают промоторы 3-фосфоглицераткиназы или других гликолитических ферментов, таких как енолаза, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, гексокиназа, пируватдекарбоксилаза, фосфофруктокиназа, глюкозо-6-фосфатизомераза, 3-фосфоглицератмутаза, пируваткиназа, триозофосфатизомераза, фосфоглюкозоизомераза и глюкокиназа.

Индукцибельные промоторы имеют дополнительное преимущество, связанное с транскрипцией, которая контролируется условиями роста. Они включают дрожжевые промоторные области алкогольдегидрогеназы 2, изоцитохрома C, кислой фосфатазы, расщепляющих ферментов, связанных с метаболизмом азота, металлтионеина, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы и ферментов, ответственных за утилизацию мальтозы и галактозы. Кроме того, приемлемые векторы и промоторы, которые можно применять при экспрессии в дрожжах, описаны в EP 73657. Энхансеры из дрожжей целесообразно применять также в сочетании с промоторами из дрожжей.

Транскрипция гуманизованного антитела к IL-23p19 с векторов в клетках-хозяевах млекопитающих контролируют, например, с помощью промоторов, полученных из геномов вирусов, таких как вирус полиомы, вирус оспы птиц, аденовирус (такой как аденовирус 2), вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус саркомы птиц, цитомегаловирус, ретровирус, вирус гепатита В и обезьяний вирус 40 (SV40), с помощью гетерологичных промоторов млекопитающих, например промотора актина или промотора иммуноглобулина, или промоторов теплового шока при условии, что такие промоторы совместимы с системами клетки-хозяина.

Ранний и поздний промоторы вируса SV40 целесообразно получать в виде рестрикционного фрагмента SV40, который содержит также сайт инициации репликации вируса SV40. Немедленно-ранний промотор человеческого цитомегаловируса целесообразно получать в виде рестрикционного HindIII E-фрагмента. Система экспрессии ДНК в клетках-хозяевах млекопитающих, в которой применяли вирус бычьей папилломы в качестве вектора, описана в US №4419446. Модификация указанной системы описана в US №4601978 (см. также у Reyes и др., *Nature* 297, 1982, сс. 598-601 описание экспрессии кДНК человеческого р-интерферона в мышечных клетках под контролем промотора тимидинкиназы из вируса герпеса простого). В альтернативном варианте в качестве промотора можно применять длинный концевой повтор вируса саркомы Рауса.

Другим важным элементом, который можно применять в рекомбинантном экспрессионном векторе, является энхансерная последовательность, которую используют для повышения транскрипции ДНК, кодирующей гуманизованное антитело к IL-23p19, в высших эукариотических организмах. Известны многие энхансерные последовательности генов млекопитающих (генов глобина, эластазы, альбумина, а-фетопротеина и инсулина). Однако, как правило, применяют энхансер из вируса эукариотической клетки. Примерами являются энхансер SV40, расположенный на удаленной стороне от сайта инициации репликации (пары оснований 100-270), энхансер раннего промотора цитомегаловируса, энхансер полиомы, расположенный на удаленной стороне от сайта инициации репликации, и энхансеры аденовирусов (см. также у Yaniv *Nature* 297, 1982, сс. 17-18 описание энхансерных элементов, применяемых для активации эукариотических промоторов). Энхансер можно встраивать путем сплайсинга в вектор в 5'- или 3'-положение относительно кодирующей последовательности антитела к IL-23p19, но предпочтительно его помещают в сайт, расположенный в 5'-направлении относительно промотора.

Экспрессионные векторы, применяемые в эукариотических клетках-хозяевах (клетки дрожжей, грибов, насекомых, растений, животных, людей или содержащие ядро клетки других многоклеточных

организмов), должны содержать также последовательности, необходимые для терминации транскрипции и стабилизации мРНК. Такие последовательности обычно получают из 5'- и иногда из 3'-нетранслируемых областей эукариотических или вирусных ДНК или кДНК. Эти области содержат нуклеотидные сегменты, транскрибированные в виде полиаденилированных фрагментов в нетранслируемой области мРНК, которая кодирует антитело к IL-23p19. Одним из пригодных компонентов терминации транскрипции является область полиаденилирования бычьего гормона роста (см. WO 94/11026 и представленный в указанной заявке экспрессионный вектор). В некоторых вариантах осуществления изобретения гуманизированные антитела к IL-23p19 можно экспрессировать с помощью системы CHEF (см., например, US №5888809, описание которого включено в настоящее описание в качестве ссылки).

Приемлемыми клетками-хозяевами для клонирования или экспрессии ДНК в векторах, указанных в настоящем описании, являются клетки прокариот, дрожжей или высших эукариот. Приемлемыми прокариотами являются (но, не ограничиваясь ими) эукариотические бактерии (эубактерии), такие как грамотрицательные или грамположительные организмы, например сем. Enterobacteriaceae, такие как *E.coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, например *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, например *Serratia marcescans*, и *Shigella*, а также Bacilli, такие как *B. subtilis* и *B. licheniformis* (например, *B. licheniformis* 41P, который описан в DD 266710, опубликованной 12 апреля 1989 г.), *Pseudomonas*, такие как *P. aeruginosa*, и *Streptomyces*. Одним из предпочтительных штаммов *E.coli*, который применяют в качестве хозяина при клонировании, является штамм *E.coli* 294 (ATCC 31446), хотя можно использовать и другие штаммы *E.coli* B, *E.coli* X1776 (ATCC 31537) и *E.coli* W3110 (ATCC 27325). Эти примеры приведены в качестве иллюстрации и не ограничивают объем изобретения.

Помимо прокариотических организмов в качестве хозяев для клонирования или экспрессии векторов, которые кодируют гуманизированное антитело к IL-23p19, можно использовать эукариотические микроорганизмы, такие как нитчатые грибы или дрожжи. Наиболее часто применяемым низшим эукариотическим микроорганизмом-хозяином является *Saccharomyces cerevisiae*, т.е. обычные пекарские дрожжи. Однако согласно настоящему изобретению можно применять многочисленных известных и доступных представителей других родов, видов и штаммов, таких как *Schizosaccharomyces pombe*; хозяев из сем. *Kluyveromyces* таких, например, как *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus* (ATCC 16045), *K. wickerhamii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilorum* (ATCC 36906), *K. thermotolerans* и *K. marxianus*; *Yarrowia* (EP 402226); *Pichiapastoris* (EP 183070); *Candida*; *Trichoderma reesia* (EP 244234); *Neurospora crassa* (Case и др., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 1979, сс. 5259-5263); *Schwanniomyces*, такие как *Schwanniomyces occidentalis* и нитчатые грибы, такие, например, как *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium* и хозяева р. *Aspergillus*, такие как *A. nidulans* и *A. niger*.

Клетки-хозяева, пригодные для экспрессии гликозилированного гуманизированного антитела к IL-23p19, получают из многоклеточных организмов. Примерами клеток беспозвоночных являются клетки растений и клетки насекомых, например многочисленные бакуловирусные штаммы и их варианты и соответствующие пригодные для них в качестве хозяев клетки насекомых, таких как *Spodoptera frugiperda* (гусеница), *Aedes aegypti* (комар), *Aedes albopictus* (комар), *Drosophila melanogaster* (плодовая муха) и *Bombux mori* (шелковичный червь). Широко известны разнообразные штаммы вирусов, которые можно использовать для трансфекции, например вариант L-1 *Autographa californica* NPV и штамм *Bombux mori* Bm-5 NPV, и такие вирусы можно применять, прежде всего, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

В качестве хозяев можно применять также культуры клеток хлопчатника, кукурузы, картофеля, сои, петунии, томатов и табака.

Согласно другому объекту изобретения экспрессию гуманизированного антитела к IL-23p19 осуществляют в клетках позвоночных животных. В настоящее время размножение клеток позвоночных в культуре (культура ткани) стало стандартной процедурой, и соответствующие методики являются широко распространенными. Примерами пригодных в качестве хозяев линий клеток млекопитающих являются линия клеток почки обезьяны CV1, трансформированная SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); линия клеток почки эмбриона человека (293 или клетки линии 293, субклонированные с целью выращивания в суспензионной культуре, Graham и др., J. Gen. Virol., 36, 1977, с. 59); клетки почки детеныша хомячка (BHK, ATCC CCL 10); клетки яичника китайского хомячка/DHFR (CHO, Urlaub и др., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 1980, с. 4216); клетки сертоли мыши (TM4, Mather, Biol. Reprod., 23, 1980, сс. 243-251); клетки почки обезьяны (CV1, ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой марышки (VERO-76, ATCC CRL-1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени бычьей крысы (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, ATCC CCL 75); клетки печени человека (Hep G2, HB 8065); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562, ATCC CCL51); клетки TRI (Mather и др., Ann als N.Y. Acad. Sci., 383, 1982, сс. 44-68); клетки MRC 5; клетки FS4 и линия клеток гепатомы человека (Hep G2).

Клетки-хозяева трансформируют с помощью описанных выше экспрессионных или клонирующих векторов с целью получения гуманизированного антитела к IL-23p19 и культивируют в пригодных питательных средах, соответствующим образом модифицированных для индукции промоторов, отбора трансформантов или амплификации генов, кодирующих требуемые последовательности.

Клетки-хозяева, которые применяют для получения гуманизированного антитела к IL-23p19, можно культивировать в широком разнообразии сред. Для культивирования клеток-хозяев можно использовать имеющиеся в продаже среды, такие как среда Хэма F10 (фирма Sigma-Aldrich Co., Сент-Луис, шт. Миссури), минимальная поддерживающая среда ((MEM), фирма Sigma-Aldrich Co.), RPMI-1640 (фирма Sigma-Aldrich Co.) и модифицированная по методу Дульбекко среда Игла ((DMEM), фирма Sigma-Aldrich Co.). Кроме того, в качестве сред для культивирования клеток-хозяев можно использовать любые из сред, которые описаны в одной или нескольких следующих публикациях: Ham и др., Meth. Enz. 58, 1979, с. 44, Barnes и др., Anal. Biochem. 102, 1980, с.255, US № 4767704, US № 4657866, US № 4927762, US № 4560655, US № 5122469, WO 90/103430 и WO 87/00195. Любую из этих сред при необходимости можно дополнять гормонами и/или другими факторами роста (такими как инсулин, трансферрин или эпидермальный фактор роста), солями (такими как хлорид и фосфат натрия, кальция, магния), буферами (такими как HEPES), нуклеотидами (такими как аденозин и тимидин), антибиотиками (такими как гентамицин), микроэлементами (т.е. неорганическими соединениями), которые обычно присутствуют в конечных концентрациях, находящихся в микромолярном диапазоне) и глюкозой или эквивалентным источником энергии. Специалистам в данной области должно быть очевидно, что можно включать также любые другие необходимые добавки в соответствующих концентрациях. Условия культивирования, такие как температура, значение pH и т.п., представляют собой условия, которые использовались ранее для клеток-хозяев, отобранных для экспрессии, и они должны быть очевидны обычному специалисту в данной области.

При использовании методов рекомбинации антитело может продуцироваться внутри клетки, в периплазматическом пространстве или непосредственно выделяться в среду. Если антитело продуцируется внутри клетки, то на первой стадии клетки можно разрушать для высвобождения белка. Состоящий из отдельных частиц дебрис, либо клеток-хозяев, либо лизированных фрагментов, можно удалять, например, с помощью центрифугирования или ультрафильтрации. У Carter и др., Bio/Technology, 10, 1992, сс. 163-167 описан метод выделения антител, секретируемых в периплазматическое пространство *E. coli*. В целом, метод состоит в следующем: клеточную массу в виде пасты подвергают оттаиванию приблизительно в течение 30 мин в присутствии ацетата натрия (pH 3,5), ЭДТК и фенилметилсульфонилфторида (ФМСФ). Клеточный дебрис можно удалить центрифугированием. Если антитело секретируется в среду, то супернатанты таких экспрессионных систем, как правило, сначала концентрируют с помощью имеющегося в продаже фильтра для концентрирования белков, например устройства для ультрафильтрации типа Amicon или Millipore Pellicon. На любой из предыдущих стадий для ингибирования протеолиза можно добавлять ингибитор протеазы, такой как ФМСФ, а для предупреждения увеличения нежелательных примесей можно добавлять антибиотики. Для выделения антитела из клетки-хозяина можно применять широкое разнообразие методов.

Композицию антитела, полученную из клеток, можно очищать, например, хроматографией на гидроксилатапите, гель-электрофорезом, диализом и аффинной хроматографией, при этом предпочтительным методом очистки является аффинная хроматография. Возможность применения белка А в качестве аффинного лиганда зависит от вида и изотипа Fc-области любого иммуноглобулина, присутствующей в антителе. Белок А можно использовать для очистки антител, основой которых являются человеческие тяжелые гамма1-, гамма2- или гамма4-цепи (Lindmark и др., J. Immunol. Meth., 62, 1983, сс. 1-13). Белок G рекомендуется для применения для всех мышинных изотипов и для человеческой гамма3-цепи (Guss и др., EMBO J., 5, 1986, сс. 1567-1575). В качестве матрицы, с которой связывается аффинный лиганд, наиболее часто применяют агарозу, однако можно использовать и другие матрицы. Устойчивые к механическим воздействиям матрицы, такие как стекло или поли(стиролдвинил)бензол с контролируемым размером пор, позволяют достигать более высоких скоростей потока и более короткого времени процесса по сравнению с характеристиками, достигаемыми при использовании агарозы. Если антитело содержит C_{H3}-домен, то для очистки можно использовать смолу типа Bakerbond ABX™ (фирма J.T. Baker, Филлипсбург, шт. Нью-Джерси). В зависимости от антитела, подлежащего выделению, можно применять также другие методы очистки белка, такие как фракционирование на ионообменной колонке, осаждение этанолом, ЖХВР с обращенной фазой, хроматография на силикагеле, хроматография на гепарин-SEPHAROSE™, хроматографии на анионо- или катионообменной смоле (например на колонке с полиаспартамовой кислотой), хроматофокусирование, ДСН-ПААГ и осаждение сульфатом аммония.

После любой(ых) из предыдущей(их) стадии(й) очистки смесь, содержащую представляющее интерес антитело и примеси, можно подвергать хроматографии, основанной на гидрофобном взаимодействии, при низком значении pH с использованием буфера для элюции, который имеет значение pH приблизительно от 2,5 до 4,5, хроматографию предпочтительно осуществляют при низких концентрациях солей (например, с использованием приблизительно 0-0,25М солей).

Нуклеиновые кислоты могут гибридизоваться с заявленными НК в слабых, умеренных или строгих условиях. Гибридирующаяся область гибридирующейся нуклеиновой кислоты, как правило, состоит по меньшей мере из 15 (например, 20, 25, 30 или 50) нуклеотидов. Гибридирующаяся область гибридирующейся нуклеиновой кислоты идентична по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 90%, по

меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 98% последовательности участка или всей нуклеиновой кислоты, которая кодирует анти-IL-23p19 полипептид (например, переменную область тяжелой цепи или легкой цепи), или ее комплементу. Гибридирующиеся нуклеиновые кислоты можно применять, например, в качестве зонда для клонирования, праймера, например ПЦР-праймера, или диагностического зонда.

В контексте настоящего описания понятия "идентичный" или "процент идентичности" касательно двух или большего количества нуклеотидных или полипептидных последовательностей относится к двум или большему количеству последовательностей или подпоследовательностей, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент одинаковых нуклеотидов или аминокислотных остатков при сравнении и выравнивании для максимального соответствия. Для определения процента идентичности последовательности выравнивают для оптимального сравнения (например, можно интродуцировать брешу в последовательность первой аминокислотной или нуклеотидной последовательности для оптимального сравнительного анализа первичной структуры со второй аминокислотной или нуклеотидной последовательностью). Затем сравнивают аминокислотные остатки или нуклеотиды в соответствующих положениях аминокислот или положений нуклеотидов. Когда в положении в первой последовательности находится такой же аминокислотный остаток или нуклеотид, что и в соответствующем положении во второй последовательности, то молекулы являются идентичными в указанном положении. Процент идентичности между двумя последовательностями является функцией от количества идентичных положений в последовательностях (т.е. % идентичности = количество идентичных положений/общее количество положений (например, перекрывающихся положений)×100). В некоторых вариантах осуществления изобретения две сравниваемые последовательности имеют одинаковую длину после интродукции при необходимости брешей в последовательности (например, исключая дополнительную последовательность, простирающуюся за последовательности, подлежащие сравнению). Например, когда сравнивают последовательности переменных областей, то не рассматривают лидерные и/или последовательности константных доменов. При сравнении последовательностей двух последовательностей "соответствующий" CDR относится к CDR, расположенному в одинаковом положении в обеих последовательностях (например, CDR-H1 каждой последовательности).

Определение процента идентичности или процента сходства между двумя последовательностями можно осуществлять с помощью математического алгоритма. Предпочтительным примером математического алгоритма, который можно применять для сравнения двух последовательностей, является (но, не ограничиваясь только им) алгоритм Karlin и Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 1990, сс. 2264-2268, модифицированный согласно Karlin и Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 1993, сс. 5873-5877. Указанный алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST, описанные у Altschul и др., J. Mol. Biol. 215, 1990, сс. 403-410. Анализ нуклеотидов с помощью BLAST можно осуществлять с помощью программы NBLAST, в которой балл = 100, длина слова = 12, для получения нуклеотидных последовательностей, гомологичных нуклеиновой кислоте, кодирующей представляющей интерес белок. Анализ белков с помощью BLAST можно осуществлять с помощью программы XBLAST, в которой балл = 50, длина слова = 3, для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных представляющему интерес белку. Для осуществления сравнительных анализов первичной структуры, включающей брешу, можно применять программу Gapped BLAST, описанную у Altschul и др., Nucleic Acids, 25, 1997, сс. 3389-3402. В другом варианте можно применять PSI-Blast для осуществления итерационного поиска, позволяющего определять отдаленные взаимосвязи между молекулами (Id.). При применении программ BLAST, Gapped BLAST и PSI-Blast можно применять задаваемые по умолчанию параметры соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST). Другим предпочтительным примером (но, не ограничиваясь только им) математического алгоритма, который можно применять для сравнения последовательностей, является алгоритм, описанный у Myers и Miller, CABIOS, 1989. Указанный алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью пакета программ для сравнительного анализа первичной структуры последовательностей GCG. Когда программу ALIGN применяют для сравнения аминокислотных последовательностей, то можно применять таблицу взвешенных остатков PAM120, штраф за длину брешу 12 и штраф за брешу 4. Дополнительные алгоритмы для анализа последовательностей известны в данной области и включают ADVANCE и ADAM, описанные у Torellis и Robotti, Comput. Appl. Biosci. 10, 1994, сс. 3-5; и FASTA, описанный у Pearson и Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 1988, сс. 2444-2448. В программе FASTA параметр ktpur обозначает контрольный параметр, который задает чувствительность и скорость поиска. Если ktpur = 2, то сходные области в двух подлежащих сравнению последовательностях выявляют путем просмотра пар выровненных остатков; если ktpur = 1, то оценивают индивидуальные выровненные аминокислоты. Для белковых последовательностей можно задавать значение ktpur, равное 2 или 1, а для последовательностей ДНК значения в пределах от 1 до 6. Задаваемое по умолчанию значение ktpur, если его не определяют специально, равно 2 в случае белков и равно 6 в случае ДНК. В альтернативном варианте сравнительный анализ первичной структуры белковых последовательностей можно осуществлять с помощью алгоритма CLUSTAL W, описанного у Higgins и др., Methods Enzymol. 266, 1996, сс. 383-402.

Нетерапевтическое применение.

Антитела можно применять в качестве средств, используемых для очистки на основе аффинности. При осуществлении этого процесса антитела иммобилизуют на твердой фазе, такой как смола, содержащая белок А, с помощью методов, хорошо известных в данной области. Иммобилизованное антитело приводят в контакт с образцом, содержащим белок IL-23p19 (или его фрагмент), который подлежит очистке, и затем подложку отмывают приемлемым растворителем, который должен удалять практически весь материал в образце кроме белка IL-23p19, связанного с иммобилизованным антителом. И, наконец, подложку отмывают другим приемлемым растворителем, который должен отделять белок IL-23p19 от антитела.

Антитела к IL-23p19, например гуманизированные антитела к IL-23p19, можно применять также в диагностических анализах для выявления и/или количественной оценки белка IL-23, например, путем определения экспрессии IL-23 в конкретных клетках, тканях или сыворотке. Антитела к IL-23p19 можно использовать с целью диагностики, например для мониторинга развития или прогрессирования заболевания, в качестве части клинической процедуры тестирования, например для определения эффективности данной схемы лечения и/или профилактики. Выявление можно облегчать путем связывания антитела IL-23p19. Примерами выявляемых субстанций являются различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы, биолюминесцентные материалы, радиоактивные материалы, испускающие позитроны материалы, для выявления которых используют позитрон-эмиссионную томографию, и ионы нерадиоактивных парамагнитных металлов (см., например, US №4741900, в котором описаны ионы металлов, которые можно конъюгировать с антителами для применения в диагностике, предлагаемой в настоящем изобретении).

Антитела к IL-23p19 можно применять в методах диагностирования ассоциированного с IL-23 нарушения (например, нарушения, характеризующегося аномальной экспрессией IL-23) или для определения того, имеет ли индивидуум повышенный риск развития ассоциированного с IL-23 нарушения. Такие методы включают приведение в контакт биологического образца из организма индивидуума с антителом к IL-23p19 и определения связывания антитела с IL-23p19. Под "биологическим образцом" подразумевается любой биологический образец, полученный из индивидуума, клеточной линии, культуры ткани или другого источника клеток, потенциально экспрессирующих IL-23. Методы получения биопсий ткани и общей воды организма млекопитающих хорошо известны в данной области.

В некоторых вариантах осуществления изобретения метод может заключаться также в сравнении уровня IL-23 в образце из организма пациента и в контрольном образце (например, из организма пациента, у которого отсутствует ассоциированное с IL-23 нарушение) для определения того, имеет ли пациент ассоциированное с IL-23 нарушение или риск развития ассоциированного с IL-23 нарушения.

Для диагностических целей целесообразно метить антитело с помощью выявляемого фрагмента. Известны и доступны многочисленные выявляемые метки, такие как радиоизотопы, флуоресцентные метки, метки, представляющие собой субстраты для ферментов и т.п. Метку можно конъюгировать с антителом опосредованным путем с помощью различных известных методик. Например, антитело можно конъюгировать с биотином, и любую из указанных выше меток, относящихся к трем широким категориям, можно конъюгировать с авидином, или наоборот. Биотин избирательно связывается с авидином и поэтому метку можно конъюгировать с антителом опосредованным путем. В альтернативном варианте для достижения опосредованной конъюгации метки с антителом антитело можно конъюгировать с небольшим гаптеном (таким как дигоксин) и одну из различных типов указанных выше меток конъюгировать с антителом к гаптену (например, антителом к дигоксину). Таким путем можно осуществлять опосредованную конъюгацию метки с антителом.

Примерами радиоизотопных меток являются ^{35}S , ^{14}C , ^{125}I , ^3H и ^{131}I . Антитело можно метить радиоизотопом с помощью методик, описанных, например, в *Current Protocols in Immunology*, т. 1 и 2, 1991, под ред. Coligen и др., изд-во Wiley-Interscience, New York, N.Y., 1991. Радиоактивность можно измерять, например, с помощью сцинтилляционного счетчика.

Примерами флуоресцентных меток являются известные метки, полученные на основе хелатов редкоземельных металлов (хелаты европия), или метки на основе флуоресцеина и его производных, родамина и его производных, дансила, лиссамина, фикоэритрина и техасского красного. Флуоресцентные метки можно конъюгировать с антителом с помощью известных методик, например описанных в *Current Protocols in Immunology*, выше. Флуоресценцию можно оценивать количественно с помощью флуориметра.

В данной области известны различные хорошо охарактеризованные фермент-субстратные метки (см., например, обзор, приведенный в US №4275149). Фермент, как правило, катализирует химическое изменение хромогенного субстрата, которое можно оценивать с помощью различных методик. Например, изменение может представлять собой изменение цвета субстрата, которое можно оценивать спектрофотометрически. В другом варианте фермент может изменять флуоресценцию или хемилюминесценцию субстрата. Методики количественной оценки изменения флуоресценции описаны выше. В результате химической реакции в хемилюминесцентном субстрате возникает электронно-возбужденное состояние, вследствие чего он может испускать свет, который можно оценивать, например, с помощью хемилюминиметра, или он является донором энергии для флуоресцентного акцептора.

Примерами ферментативных меток являются люциферазы, такие как люцифераза светляка и бактериальная люцифераза (US №4737456), люциферин, 2,3-дигидрофталазиндионы, малатдегидрогеназа, уреаза, пероксидаза, например пероксидаза из хрена (HRPO), щелочная фосфатаза, β -галактозидаза, глюкоамилаза, лизоцим, оксидазы сахаридов (такие как оксидаза глюкозы, оксидаза галактозы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа), оксидазы гетероциклических соединений (такие как уриказа и оксидаза ксантина), лактопероксидаза, микропероксидаза и т.п. Методики конъюгации ферментов с антителами описаны, например, у O'Sullivan и др., *Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay*, в: *Methods in Enzym.*, под ред. J. Langone и H. Van Vunakis, изд-во Academic Press, N.Y., 73, 1981, сс. 147-166.

Примерами комбинаций фермент-субстрат являются, например: пероксидаза из хрена (HRPO) и гидрогенпероксидаза в качестве субстрата, при этом гидрогенпероксидаза окисляет краситель-предшественник, такой как ортофенилендиамин (OPD) или гидрохлорид 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМВ); щелочная фосфатаза (AP) и пара-нитрофенилфосфонат в качестве хромогенного субстрата; и β -D-галактозидаза (β -D-Gal) и хромогенный субстрат, такой, например, как пара-нитрофенил- β -D-галактозидаза, или флуорегенный субстрат, такой как 4-метилумбеллиферил- β -D-галактозидаза.

Специалистам в данной области известны многочисленные другие комбинации фермент-субстрат. Общий обзор представлен, например, в US № 4275149 и US № 4318980.

Гуманизированное антитело к IL-23p19 можно применять в немеченом виде и выявляют с помощью меченого антитела, связанного с гуманизированным антителом к IL-23p19.

Антитела можно применять в любом известном методе анализа, таком как анализы связывания в условиях конкуренции, прямые и косвенные сэндвич-анализы и анализы на основе иммунопреципитации (см., например, Zola, *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques*, изд-во CRC Press, Inc., 1987, сс. 147-158).

Антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент можно применять для ингибирования связывания IL-23 с рецептором IL-23. Указанные методы заключаются в том, что вводят антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент в клетку (например, клетку млекопитающего) или окружающую клетку среду, тем самым ингибируя передачу сигналов, опосредуемую рецептором IL-23. Эти методы можно осуществлять *in vitro* или *in vivo*. Под "окружающей клетку средой" подразумевается ткань, среда или внеклеточный матрикс, окружающий клетку. Антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в окружающую клетку среду таким образом, что антитело или его фрагмент обладает способностью связываться с молекулами IL-23 вне клеточного окружения или в клеточном окружении, тем самым препятствуя связыванию IL-23 с его рецептором.

Диагностические наборы.

Можно применять гуманизированное антитело к IL-23p19, входящее в состав диагностического набора, представляющего собой упаковку, которая содержит комбинацию реагентов, взятых в предварительно определенных количествах, в сочетании с инструкциями по осуществлению диагностического анализа. Если антитело мечено ферментом, то набор может включать необходимые для фермента субстраты и кофакторы, такие как субстрат-предшественник, образующий выявляемый хромофор или флуорофор. Кроме того, можно включать другие добавки, такие как стабилизаторы и буферы (например, блокирующий буфер или лизирующий буфер) и т.п. Относительные количества различных реагентов могут варьироваться в широких пределах, обеспечивая концентрации реагентов в растворе, которые в значительной степени оптимизируют чувствительность анализа. Реагенты могут представлять собой сухие порошки, как правило, лиофилизированные, включая эксципиенты, которые при растворении должны образовывать раствор реагента, имеющий соответствующую концентрацию.

Терапевтическое применение.

Гуманизированное антитело к IL-23p19 можно применять для лечения различных нарушений, ассоциированных с экспрессией IL-23p19, которые указаны в настоящем описании. Методы лечения ассоциированного с IL-23 нарушения заключаются в том, что вводят в терапевтически эффективном количестве гуманизированное антитело к IL-23p19 индивидууму, который нуждается в этом.

Гуманизированное антитело или агент к IL-23p19 вводят любыми приемлемыми путями, включая парентеральный, подкожный, внутрибрюшинный, внутрилегочный и интраназальный пути введения и, если требуется местное иммуносупрессорное лечение, путем введения в пораженную область (включая перфузию или другой путь обеспечения контакта трансплантата с антителом перед трансплантацией). Гуманизированное антитело и агент к IL-23p19 можно вводить, например, с помощью инфузии или болюса. Парентеральные инфузии включают внутримышечное, внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное или подкожное введение. Кроме того, гуманизированное антитело к IL-23p19 можно вводить путем пульсирующей инфузии, прежде всего с использованием понижающих доз антитела. Дозирование осуществляют путем инъекций, наиболее предпочтительно внутривенных или подкожных инъекций, в том числе в зависимости от того является ли обработка кратковременной или пролонгированной.

Для предупреждения или лечения заболевания соответствующая доза антитела должна зависеть от ряда факторов, таких как тип заболевания, подлежащего лечению, серьезность и процесс течения заболе-

вания, вводят ли антитело для профилактических или терапевтических целей, предшествующая терапия, история болезни пациента и ответ на антитело, а также от предписания лечащего врача. Антитело можно вводить пациенту однократно или путем серий обработок.

В зависимости от типа и серьезности заболевания пациенту можно сначала вводить примерно от 1 мкг/кг до 20 мг/кг (например, 0,1-15 мг/кг) антитела в виде начальной предполагаемой дозы, путем, например, посредством одного или нескольких введений или путем непрерывной инфузии. Как правило, суточная доза должна составлять от примерно 1 мкг/кг до 100 мг/кг или более в зависимости от указанных выше факторов. Для повторных введений в течение нескольких дней или более продолжительного периода времени, в зависимости от состояния, лечение продолжают до требуемого подавления имеющихся симптомов заболевания. Однако можно применять другие схемы введения доз. Успех указанной терапии легко оценивать общепринятыми методами и анализами. Пример схемы введения доз представлен в WO 94/04188.

В контексте настоящего описания понятие "подавление" имеет такое же значение, что и понятия "облегчение" и "купирование", и относится к ослаблению одной или нескольких характеристик заболевания.

Композицию антитела можно включать в препаративную форму, дозировать и вводить в соответствии с надлежащей клинической практикой. Важные в этом плане факторы включают конкретное нарушение, подлежащее лечению, конкретное млекопитающее, подлежащее лечению, клиническое состояние индивидуального пациента, причину нарушения, область введения агента, метод введения, схему введения и другие факторы, известные практикующим медикам. В этой связи "терапевтически эффективное количество" антитела, подлежащего введению, регулируют таким образом, чтобы оно представляло собой минимальное количество, необходимое для предупреждения, облегчения или лечения нарушения, ассоциированного с экспрессией IL-23.

Антитело необязательно, но в определенных случаях, включают в препаративную форму в сочетании с одним или несколькими средствами, применяемыми в настоящее время для предупреждения или лечения рассматриваемого нарушения. Эффективное количество указанных других средств зависит от количества гуманизованного антитела к IL-23p19, присутствующего в препаративной форме, типа нарушения или лечения и других указанных выше факторов. Их, как правило, применяют в таких же дозах и с использованием таких же путей введения, в которых их применяли ранее, или с использованием в дозе, составляющей примерно от 1 до 99% от их принятых для применения доз.

Ассоциированные с IL-23 нарушения.

Антитела или агенты к IL-23p19 можно применять для лечения или предупреждения иммунологического нарушения, характеризующегося аномальной экспрессией IL-23, например несоответствующей активацией иммунных клеток (например, лимфоцитов или дендритных клеток). Указанная аномальная экспрессия IL-23 может быть связана, например, с повышенными уровнями белка IL-23. Антитела к IL-23p19 или их антигенсвязывающие фрагменты могут найти также применение для лечения или предупреждения респираторных нарушений, метаболических нарушений, например сахарного диабета, и определенных типов рака. Лечение или предупреждение иммунологического нарушения, респираторного нарушения, метаболического нарушения или рака с использованием способов, указанных в настоящем описании, осуществляют путем введения индивидууму, который нуждается в таком лечении или предупреждении, в эффективном количестве антитела или агента к IL-23p19, при этом антитело уменьшает активность IL-23, ассоциированную с болезненным состоянием.

Иммунологические заболевания, которые отличаются несоответствующей активацией иммунных клеток и которые можно лечить или предупреждать с помощью способов, предлагаемых в настоящем описании, можно классифицировать, например, по типу(ам) реакции(ий) гиперчувствительности, которая(ые) лежит(ат) в основе нарушения. Эти реакции, как правило, разделяют на 4 типа: анафилактические реакции, цитотоксические (цитолитические) реакции, иммунные комплексные реакции или реакции клеточно-опосредованного иммунитета (СМ) (которые обозначают также как реакции замедленной гиперчувствительности (DTH) (см., например, *Fundamental Immunology*, под ред. William E. Paul, изд-во Raven Press, N.Y., 3-е изд., 1993). Иммунологические заболевания включают воспалительные заболевания и аутоиммунные заболевания.

Конкретными примерами указанных иммунологических заболеваний являются: ревматоидный артрит, аутоиммунные демиелинизирующие заболевания (например, рассеянный склероз, аллергический энцефаломиелит), эндокринная офтальмопатия, увеоретинит, системная красная волчанка, тяжелая псевдопаралитическая миастения, болезнь Грейвса, гломерулонефрит, аутоиммунное гепатологическое нарушение, воспалительное заболевание кишечника (например, болезнь Крона или неспецифический язвенный колит), анафилаксия, аллергическая реакция, синдром Шегрена, сахарный диабет типа I, первичный билиарный цирроз, грануломатоз Вегенера, фибромиалгия, полимиозит, дерматомиозит, воспалительный миозит, множественная эндокринная недостаточность, синдром Шмидта, аутоиммунный увеит, болезнь Аддисона, воспаление надпочечника, тиреоидит, тиреоидит Хашимото, аутоиммунное заболевание щитовидной железы, пернициозная анемия, атрофия желудка, хронический гепатит, волчаночный гепатит, атеросклероз, подострая кожная красная волчанка, гипопаратиреозидзм, синдром Дресслера, ау-

тоиммунная тромбоцитопения, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, гемолитическая анемия, пузырчатка обыкновенная, пузырчатка, дерматит герпетический, гнездная алопеция, пемфигоид, склеродерма, прогрессирующий системный склероз, CREST-синдром (кальциноз, болезнь Рейно, эзофагит (нарушение моторики пищевода), склеродактилия и телеангиоэктазия), мужское и женское аутоиммунное бесплодие, анкилозирующий спондилит, неспецифический язвенный колит, смешанная соединительнотканная болезнь, нодозный полиартериит, системный некротизирующий васкулит, атопический дерматит, атопический ринит, синдром Гудпасчера, болезнь Шагаса, саркоидоз, ревматическая атака, астма, привычный выкидыш, антифосфолипидный синдром, экзогенный аллергический альвеолит, полиформная эритема, посткардиотомический синдром, синдром Кушинга, аутоиммунный хронический активный гепатит, аллергия пчеловодов, токсический эпидермальный некролиз, синдром Альпорта, альвеолит, аллергический альвеолит, фиброзный альвеолит, интерстициальное заболевание легких, узловая эритема, гангренозная пиодермия, реакция на трансфузию, артерит Такаясу, ревматическая полимиалгия, переходящий артерит, шистосомоз, гигантоклеточный артерит, аскариоз, аспергиллез, синдром Самптера, экзема, лимфоматоидный грануломатоз, болезнь Бехчета, синдром Каплана, болезнь Кавасаки, лихорадка Денге, энцефаломиелит, эндокардит, эндокардиальный фиброз, эндофтальмит, стойкая возвышающаяся эритема, псориаз, псориатический артрит, эритробластоз плода, эозинофильный фасцит, синдром Шульмана, синдром Фелти, филяриоз, циклит, хронический циклит, гетерохронический циклит, циклит Фукса, IgA-нефропатия, пурпура Геноха-Шенлейна, реакция "трансплантат-против-хозяина", отторжение трансплантата, кардиомиопатия, синдром Итона-Лэмберта, рецидивирующий полихондрит, криоглобулинемия, макроглобулемия Вальденстрема, синдром Эванса, острый респираторный дистресс-синдром, воспаление легких, остеоопороз, реакция замедленной гиперчувствительности и аутоиммунная гонадная дисфункция.

Иммунологическое нарушение представляет собой опосредуемое Т-клетками иммунологическое нарушение и, таким образом, антитела или агенты к IL-23p19 можно применять также для лечения или предупреждения опосредуемых Т-клетками иммунологических нарушений.

Антитела или агенты к IL-23p19 можно применять для лечения или предупреждения респираторного нарушения, при котором происходит аномальная экспрессия IL-23. Лечение или предупреждение респираторного нарушения с использованием способов, указанных в настоящем описании, осуществляют путем введения индивидууму, который нуждается в таком лечении или предупреждении, в эффективном количестве антител или агентов к IL-23p19, при этом антитело уменьшает активность IL-23, ассоциированную с болезненным состоянием. Они включают (но, не ограничиваясь только ими): жалобы, связанные с респираторной функцией, обструктивные легочные заболевания различного происхождения, эмфизему легких различного происхождения, облитерирующие легочные заболевания, интерстициальные пульмональные заболевания, интерстициальную болезнь легких, муковисцидоз, бронхиты различного происхождения, бронхоэктаз, РДСВ (респираторный дистресс-синдром взрослых) и все формы легочного отека; обструктивные легочные заболевания, выбранные из ХОЗЛ (хроническое обструктивное заболевание легких), астму, бронхиальную астму, педиатрическую астму, серьезную астму, острые приступы астмы и хронический бронхит; эмфизему легких, происхождение которой связано с ХОЗЛ (хроническое обструктивное заболевание легких) или с дефицитом ингибитора α 1-протеиназы; облитерирующие легочные заболевания, выбранные из аллергического альвеолита, облитерирующих легочных заболеваний, которые инициируются работой с вредными токсичными веществами, таких как асбестоз или силикоз, и облитерации, связанной с опухолями легких, такими как карциноматозный лимфатизм, бронхоальвеолярная карцинома и лимфомы; пневмонию, вызванную инфекциями, такими, например, как инфекция, связанная с вирусами, бактериями, грибами, простейшими, гельминтами или другими патогенами, пневмонит, вызываемый различными факторами, такими, например, как аспирация и левожелудочковая сердечная недостаточность, индуцированный облучением пневмонит или фиброз, коллагеноз, такой, например, как красная волчанка, системная склеродерма или саркоидоз, грануломатоз, такой, например, как болезнь Бека, идиопатическая интерстициальная пневмония или идиопатический пневмосклероз (ИПФ); муковисцидоз, бронхит, вызванный бактериальной или вирусной инфекцией, аллергический бронхит и токсический бронхит; бронхоэктаз; отек легких, например, токсический отек легких после аспирации или ингаляции токсических субстанций и чужеродных субстанций; ринит, артрит и родственные артропатии, псориаз, миелоидный лейкоз, рассеянный склероз, болезнь Альцгеймера, гломерулонефрит и хронический атопический дерматит.

Антитела или агенты к IL-23p19 можно применять также для лечения различных типов рака, при которых происходит аномальная экспрессия IL-23.

Типы рака, при которых происходит экспрессия IL-23, которые можно лечить с помощью способов, предлагаемых в настоящем описании, включают, например, лейкоз, например, острый лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоцитарный лейкоз (например, миелобластный, промиелоцитарный, миеломоноцитарный, моноцитарный лейкоз или эритролейкоз), хронический лейкоз, хронический миелоцитарный (гранулоцитарный) лейкоз или хронический лимфоцитарный лейкоз; истинную полицитемию; лимфому (например, болезнь Ходжкина или неходжкинскую лимфому); множественную миелому, макроглобулинемию Вальденстрема; болезнь тяжелых цепей; плотные (солидные) опухоли, такие как

саркомы и карциномы (например, фибросаркома, миксосаркома, липосаркома, хондросаркома, остеогенная саркома, остеосаркома, хордома, ангиосаркома, эндотелиосаркома, лимфангиосаркома, лимфангио-эндотелиосаркома, синовиома, мезотелиома, опухоль Юинга, лейомиосаркома, рабдомиосаркома, карцинома ободочной кишки, колоректальная карцинома, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичника, рак предстательной железы, плоскоклеточная карцинома, базальноклеточная карцинома, аденокарцинома, карцинома потовой железы, карцинома сальной железы, папиллярная карцинома, папиллярные аденокарциномы, цистаденокарцинома, медуллярная карцинома, бронхогенная карцинома, почечноклеточная карцинома, гепатома, карцинома желчного протока, хориокарцинома, семинома, эмбриональная карцинома, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, рак яичка, карцинома легкого, мелкоклеточная карцинома легкого, немелкоклеточная карцинома легкого, карцинома мочевого пузыря, эпителиальная карцинома, глиома, астроцитомы, медуллобластома, краниофарингиома, эпендимомы, пинеалома, гемангиобластома, невринома слухового нерва, олигодендроглиома, менингиома, маланома, нейробластома, ретинобластома, назофарингиальная карцинома или эзофагеальная карцинома).

Фармацевтические композиции и их введение.

Композицию, содержащую IL-23p19-связывающий агент (например, антитело к IL-23p19), можно вводить индивидууму, который страдает или имеет риск развития иммунологического нарушения, респираторного нарушения или рака. IL-23p19-связывающий агент (например, антитело к IL-23p19) применяют для получения лекарственного средства, предназначенного для профилактики или лечения рака, респираторного нарушения или иммунологического нарушения. Понятие "индивидуум" в контексте настоящего описания означает любого больного млекопитающего, которому можно вводить IL-23p19-связывающий агент, включая, например, человека и млекопитающих кроме человека, таких как приматы, грызуны и собаки. С использованием способов, представленных в настоящем описании, можно лечить, в частности людей. Антитела или агенты можно вводить индивидуально или в сочетании с другими композициями для профилактики или лечения иммунологического нарушения, респираторного нарушения или рака. Такие композиции, которые можно применять в сочетании с антителами или агентами, включают метотрексат (MTX) и иммуномодуляторы, например антитела или малые молекулы.

Известны различные системы введения и их можно использовать для введения IL-23p19-связывающего агента. Методы интродукции включают (но не ограничиваются толь ими) внутрикожный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный и оральный пути. IL-23p19-связывающий агент можно вводить, например, путем инфузии, в виде болюса или инъекции, и его можно вводить вместе с другими биологически активными средствами, такими как химиотерапевтические средства. Введение может быть системным или местным. Введение может представлять собой подкожную инъекцию. Препаративные формы для таких инъекций можно приготавливать, например, в виде предварительно заполненных шприцев, и их можно применять с недельным интервалом.

IL-23p19-связывающий агент можно вводить с помощью инъекции, с помощью катетера, с помощью суппозитория или с помощью имплантата, где имплантат состоит из пористого, непористого или гелеобразного материала, включая мембрану, такую как мембрана из силиката, или волокно. Как правило, при введении композиции используют вещества, которые не абсорбируют антитело или агент к IL-23p19.

Антитело или агент к IL-23p19 можно вводить с помощью системы с контролируемым высвобождением. Можно использовать насос (см. например, Langer, Science 249, 1990, сс. 1527-1533; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14, 1989, с 201; Buchwald и др., Surgery 88, 1980, с. 507; Saudek и др., N. Engl. J. Med., 321, 1989, с 574). Можно использовать полимерные материалы (см., например, Medical Applications of Controlled Release, под ред. Langer и Wise, изд-во CRC Press, Boca Raton, Florida, 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, под ред. Smolen и Ball, изд-во Wiley, New York, 1984); Ranger и Peppas, Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23, 1983, с 61; см. также Levy и др., Science 228, 1985, с. 190; Doring и др., Ann. Neurol. 25, 1989, с. 351; Howard и др., J. Neurosurg. 81, 1989, с. 105). У Langer, выше, обсуждены другие системы с контролируемым высвобождением.

IL-23p19-связывающий агент (например, антитело к IL-23p19) можно вводить в виде фармацевтических композиций, содержащих в терапевтически эффективном количестве связывающий агент и один или несколько фармацевтически совместимых ингредиентов.

Фармацевтическую композицию приготавливают согласно общепринятым процедурам с получением фармацевтической композиции, пригодной для внутривенного или подкожного введения человеку. Как правило, композиции для введения путем инъекции представляют собой растворы в стерильном изотоническом водном буфере. При необходимости фармацевтическое средство может содержать также солибилизирующий агент и местный анестетик, такой как липокаин, для снятия боли в месте инъекции. Как правило, ингредиенты поставляются либо по отдельности, либо их смешивают с получением стандартной дозы лекарственного средства, например, в виде сухого лиофилизованного порошка или не содержащего воду концентрата в герметично закрытом контейнере, таком как ампула или саше, с указанием количества действующего вещества. В тех случаях, когда фармацевтическое средство предназначено для введения путем инфузии, то его можно разливать по бутылкам для инфузий, содержащим стерильную воду или физиологический раствор фармацевтической степени чистоты. В тех случаях, когда фармацев-

тическое средство вводят с помощью инъекции, то можно использовать ампулу со стерильной водой для инъекций или физиологическим раствором для того, чтобы ингредиенты можно было перемешивать перед введением.

Кроме того, фармацевтическую композицию можно включать в фармацевтический набор, который содержит (а) контейнер с IL-23p19-связывающим агентом (например, антителом к IL-23p19) в лиофилизованной форме и (б) второй контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый разбавитель (например, стерильную воду) для инъекций. Фармацевтически приемлемый разбавитель можно использовать для восстановления или разведения лиофилизованного антитела или агента к IL-23p19. Необязательно к указанному(ым) контейнеру(ам) может прилагаться уведомление в форме, утвержденной официальным агентством, разрешающим производство, применение или продажу фармацевтических препаратов или биологических продуктов, где в уведомлении отражено разрешение агентства на производство, применение или продажу с целью введения людям.

Количество IL-23p19-связывающего агента (например, антитела к IL-23p19), которое является эффективным для лечения или профилактики иммунологического нарушения или рака, можно определять обычными методами клинических исследований. Кроме того, обязательно можно использовать анализы *in vitro*, результаты которых могут способствовать определению оптимальных пределов доз. Точная доза для применения в препаративной форме должна зависеть также от пути введения и стадии развития иммунологического нарушения или рака, и она должна приниматься на основе рекомендаций лечащего врача и обстоятельств, характерных для каждого пациента. Эффективные дозы можно определять путем экстраполяции на основе кривых дозовой зависимости, полученных по результатам опытов *in vitro* или на модельных тест-системах с использованием животных.

Как правило, доза антитела к IL-23p19 или IL-23p19-связывающего агента, которую вводят пациенту с иммунологическим нарушением или с раком, для которого характерна экспрессия IL-23p19, составляет примерно от 0,1 до примерно 100 мг/кг веса тела индивидуума. Доза, вводимая индивидууму, составляет от примерно 0,1 до примерно 50 мг/кг, от примерно 1 до примерно 30 мг/кг, от примерно 1 до примерно 20 мг/кг, от примерно 1 до примерно 15 мг/кг или от примерно 1 до примерно 10 мг/кг веса тела индивидуума.

Примерами доз являются (но не ограничиваются только ими) дозы, составляющие от 1 нг/кг до 100 мг/кг. Иногда доза составляет примерно 0,5, примерно 1, примерно 2, примерно 3, примерно 4, примерно 5, примерно 6, примерно 7, примерно 8, примерно 9, примерно 10, примерно 11, примерно 12, примерно 13, примерно 14, примерно 15 или примерно 16 мг/кг. Дозу можно вводить, например, каждый день, раз в неделю (каждую неделю), два раза в неделю, три раза в неделю, четыре раза в неделю, пять раз в неделю, шесть раз в неделю, раз в две недели или ежемесячно, каждые два месяца или каждые три месяца. В конкретных вариантах осуществления изобретения доза составляет примерно 0,5 мг/кг/неделю, примерно 1 мг/кг/неделю, примерно 2 мг/кг/неделю, примерно 3 мг/кг/неделю, примерно 4 мг/кг/неделю, примерно 5 мг/кг/неделю, примерно 6 мг/кг/неделю, примерно 7 мг/кг/неделю, примерно 8 мг/кг/неделю, примерно 9 мг/кг/неделю, примерно 10 мг/кг/неделю, примерно 11 мг/кг/неделю, примерно 12 мг/кг/неделю, примерно 13 мг/кг/неделю, примерно 14 мг/кг/неделю, примерно 15 мг/кг/неделю или примерно 16 мг/кг/неделю. Пределы доз составляют от примерно 1 мг/кг/неделю до примерно 15 мг/кг/неделю.

Фармацевтические композиции, содержащие IL-23p19-связывающий агент, могут дополнительно включать терапевтическое средство, конъюгированное или неконъюгированное со связывающим агентом. Антитело к IL-23p19 или IL-23p19-связывающий агент можно вводить совместно с одним или несколькими терапевтическими средствами, применяемыми для лечения или профилактики иммунологических нарушений или рака.

Такая комбинированная терапия может обладать аддитивным или синергетическим действием в отношении признаков заболевания (например, тяжести проявления симптома, количества симптомов или частоты рецидивов).

При применении схем лечения при комбинированном введении антитела к IL-23p19 или IL-23p19-связывающий агент вводят одновременно с терапевтическим средством. Терапевтическое средство также можно вводить до или после введения антитела к IL-23p19 или IL-23p19-связывающего агента, по меньшей мере, в течение периода времени, составляющего от 1 ч до нескольких месяцев, например в течение по меньшей мере 1, 5, 12 ч, одних суток, недели, месяца или трех месяцев до или после введения антитела к IL-23p19 или IL-23p19-связывающего агента.

Изделия.

Изделие, как правило, включает контейнер и этикетку. Приемлемыми контейнерами являются, например, бутылки, флаконы, шприцы и лабораторные пробирки. Контейнеры могут быть изготовлены из различных материалов, таких как стекло или пластик. Контейнер содержит композицию, которая является эффективной для лечения конкретного состояния, и может иметь стерильный порт доступа. Например, контейнер может представлять собой мешок или флакон для внутривенного раствора, имеющий запирающее устройство, пронизываемое для инъекционной иглы для подкожного введения. Действующее вещество в композиции представляет собой гуманизованное антитело к IL-23p19. На этикетке на кон-

тейнере или связанной с ним указывается, что композиция используется для лечения выбранного состояния. Изделие может дополнительно включать второй контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как забуференный фосфатом физиологический раствор, раствор Рингера и раствор декстрозы. Он может дополнительно включать другие вещества, присутствие которых желательно с коммерческой и потребительской точки зрения, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы и вкладыши в упаковку с инструкциями по применению.

Изобретение описано ниже с помощью представленных примеров, которые не направлены на ограничение объема изобретения.

Примеры

Пример 1. Получение гуманизированных антител к IL-23p19.

Мышиное "лидерное" антитело 6B8 превращали в химерное антитело, состоящее из переменного домена мышиного 6B8 и константного домена человеческого IgG1KO. Мышиное антитело 6B8 представлено выше в табл. 1 и 2. IgG1KO (knock out, выключение) несет две заместительные мутации (транскверсии) (Leu234Ala и Leu235Ala), которые элиминируют ADCC- и CDC-активность путем снижения эффекторных функций, таких как связывание с FcγR и комплементом. Переменные домены мышиных и химерных антител являются идентичными. Химерные антитела создавали для подтверждения функции антитела и для гарантии того, что получена правильная последовательность. Затем переменную область антитела гуманизировали посредством конструирования и процесса скрининга. Получали библиотеку, в которой человеческие и мышиные остатки варьировали таким образом, чтобы в любом конкретном положении мог находиться либо человеческий, либо мышиный остаток. Указанную библиотеку создавали для тех аминокислотных остатков, которые были различными у человеческой зародышевой линии и мышиного антитела. Отбирали только те клоны, у которых сохранялась функция родительского мышиного антитела. Репрезентативные гуманизированные переменные области антитела 6B8 представлены в табл. 5 и 6.

Таким образом, Антитело А, Антитело В, Антитело С и Антитело D представляли собой гуманизированные антитела, выведенные из мышиного антитела 6B8 (клонированного в каркасе человеческого IgG1-KO (KO - сокращение knock-out)/каппа). Антитела А, В, С и D представлены в табл. 7.

Пример 2. Связывание антител с рекомбинантным белком IL-23.

А) Данные о кинетике и аффинности связывания мышиных антител к IL-23p19 с рекомбинантным человеческим IL-23 представлены ниже (табл. 9). Кинетические характеристики и аффинность связывания оценивали на основе технологии Fortebio Octet (фирма Fortebio, Менло-Парк, шт. Калифорния), используя материал, полученный из гибридомы, после одной очистки на колонке. Поскольку Octet не представляет собой технологию на основе жидкостей, то этот метод не позволяет точно определять скорость диссоциации. В некоторых случаях удавалось оценивать только аффинность.

Таблица 9

Антитело	$k_a(1/Мс)$	$k_d(1/с)$	$K_D(пМ)$
18C4	3,84E+05	2,14E-06	5,57
18E 5	3,29E+05	2,61E-06	7,93
18D3	3,19E+05	2,16E-06	6,78
20 E8	4,21E+05	2,69E-04	638
22 E2	3,46E+05	3,53E-04	1024
24A5	2,02E+05	4,57E-06	22,6
15C11	4,11E+05	1,07E-05	26
43F5	1,72E+05	5,96E-06	34,6
27G8	1,57E+05	4,26E-06	27,2
31H9	2,99E+05	3,45E-06	11,5
2D1		< 1E-6	< 1
9D12		< 1E-6	< 1
6B8		< 1E-6	< 1
73H10	5,29E+04	5,24E-06	99,2
74H3	3,06E+04	2,09E-06	68,3
35H8			
26F7	4,76E+05	1,34E-05	28,1
34G3	9,18E+05	3,10E-05	32,8
34D9	3,44E+03	1,87E-06	544

Б) Оценивали аффинность гуманизированных антител, выведенных из мышиного антитела 6B8. Данные о кинетике связывания, измеренные с помощью устройства ProteON XPR36 (фирма Biorad, Геркулес, шт. Калифорния) и глобальной аппроксимации на основе модели связывания 1:1, продемонстрировали, что взаимодействия между рекомбинантным IL-23, который либо содержал состоящий из 21 аминокислот линкер, ковалентно связанный с субъединицами p19 и p40, либо не содержал указанный

линкер, характеризовались высокой аффинностью в диапазоне 1 ~ 100 пМ (табл. 10). Тестировали также Антитело 6H12 (описанное в WO 2007/027714), антитело QF20 (описанное в WO 2007/024846) и антитело C1273 (описанное в WO 2007/005955).

Таблица 10

Антитело	Человеческий IL-23 с линкером			Человеческий IL-23 без линкера		
	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (пМ)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (пМ)
Мышиное 6B8				5,57E+05	1,38E-05	24,5
Антитело А	6,27E+05	< 1E-6	< 1	5,51E+05	< 1E-6	< 1
Антитело В	3,56E+05	< 1E-6	< 1	5,17E+05	< 1E-6	< 1
Антитело С	3,74E+05	1,19E-05	31,8	4,54E+05	1,65E-05	36,3
Антитело D	3,82E+05	4,07E-05	107	3,66E+05	4,93E-05	135
C-1273				3,60E+05	5,75E-06	15,8
6H12				4,99E+05	1,07E-04	214
QF20				2,03E+05	5,89E-06	2,91

В) Аффинность и кинетические характеристики связывания антител к IL-23p19 с IL-23 обезьяны циномогус измеряли с помощью устройства ProteON XPR36 и глобальной аппроксимации на основе модели связывания 1:1 (табл. 11). Тестировали также Антитело 6H12 (описанное в WO 2007/027714), антитело QF20 (описанное в WO 2007/024846) и антитело C1273 (описанное в WO 2007/005955).

Таблица 11

Антитело	K_D (пМ)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)
Антитело А	< 1	2,95E+06	< 1E-6
Антитело В	< 1	2,99E+06	< 1E-6
Антитело С	2,9	3,23E+06	9,36E-06
Антитело D	15,9	2,07E+06	3,29E-05
C-1273	>5000	n/a	n/a
6H12	157	9,91E+05	1,56E-04
QF20	1,2	3,90E+06	4,78E-06

Г) Селективность на молекулярном уровне в отношении человеческого IL-12.

Антитела к IL-23p19 инъецировали также на поверхность человеческого IL-12 в концентрации 100 нМ. Сигнал связывания указанных антител, измеренный с использованием технологии ForteBio Octet, равнялся нулю, что свидетельствует о том, что эти антитела избирательно связываются с человеческим IL-23. Связывание антител к IL-23p19 с IL-23 анализировали также в присутствии 50% человеческой сыворотки и обнаруженное отсутствие существенного воздействия сыворотки на скорость ассоциации, демонстрирует высокую специфичность.

Пример 3. Анализ связывания в конкурентных условиях человеческого IL-23, связывающегося с человеческим IL-23R/Fc.

Человеческий IL-23R-Fc иммобилизовали на поверхности биосенсора и инъецировали 10 нМ человеческого IL-23. Сенсограммы свидетельствовали о специфическом связывании между IL-23 и рецептором IL-23 (фиг. 2, верхний чертеж). Затем антитела совместно инъецировали с 10 нМ человеческим IL-23 для решения вопроса о том, может ли связывание антитела с IL-23 ингибировать взаимодействие между IL-23 и рецептором IL-23. В этом примере было установлено, что, если антитело связывается с человеческим IL-23 и обладает способностью ингибировать взаимодействие, то имеет место пониженное связывание или отсутствие связывания (фиг. 2, нижний график). В этом примере Антитело А, которое применяли в эквивалентной молярной концентрации, инъецировали совместно с 10 нМ рекомбинантным человеческим IL-23.

Пример 4. Функциональные клеточные анализы, ингибирование производства IL-17 в стимулированных IL-23 мышечных спленоцитах.

Один из функциональных клеточных анализов антител к IL-23p19 позволял измерять способность ингибировать стимулированное IL-23 производство IL-17 в мононуклеарных клетках, выделенных из селезенки мышей. Человеческий рекомбинантный белок IL-23 обладает способностью стимулировать высвобождение IL-17 из мышечных спленоцитов. Кроме того, для стимуляции производства IL-17 в мышечных мононуклеарных клетках можно применять встречающийся в естественных условиях источник человеческого IL-23, обнаруженный в супернатанте активированных человеческих моноцитарных ТНР-

1-клеток.

Человеческий рекомбинантный IL-23 или встречающийся в естественных условиях IL-23 из активированных ТНР-1-клеток предварительно инкубировали с титрованными антителами к IL-23p19. Затем комбинации IL-23/антитело добавляли к свежесделанным мышинным спленоцитам. Образец, в который входил только рекомбинантный IL-23, применяли в качестве положительного контроля. После культивирования в течение 2 дней клеточные супернатанты собирали и анализировали в отношении IL-17 с помощью ELISA (фирма R&D Systems, Миннеаполис, шт. Миннесота). Ниже приведены репрезентативные величины IC₅₀ для антител к IL-23p19. Изученные антитела представляли собой мышинные антитела, выведенные из гибридом (строки 1-19, см. табл. 1 и 2), химерные антитела (строки 20-23) и Антитела А-D. Тестировали также Антитело 6H12 (описанное в WO 2007/027714), антитело QF20 (описанное в WO 2007/024846) и антитело C1273 (описанное в WO 2007/005955).

Таблица 12

Антитело	Величины IC ₅₀ (пМ), рекомбинантный человеческий IL-23	Величины IC ₅₀ (пМ), встречающийся в естественных условиях человеческий IL-23
18C4	471	100, 413
18E5	не определяли	9, 9, 13
18D3	234	не определяли
20E8	не определяли	438, 561
22E2	61, 130	117, 35
24A5	22, 37	85, 31
15C11	126	232
43F5	250, 8000	8000
27G8	235	5000
31H9	960	2000
2D1	не определяли	2336, 1911, 1597
9D12	59	281, 138
6B8	13	8, 2
73H10	1411	не определяли
74H3	1352	не определяли
36H8	не определяли	не определяли
26F7	27	2, 8
34G3	336	27, 25
34D9	510	456
химерное 18E5	31	8, 36, 10, 9
химерное 22E2	100	9, 178
химерное 24A5	404	95, 102
химерное 6B8	26, 37, 57	5, 2, 6, 3
Антитело А	5, 5, 5, 15	1, 1
Антитело В	13, 30, 54, 42	9, 8
Антитело С	53, 71, 162, 89	16, 32
Антитело D	236, 225, 614, 458	133, 125
6H12	1600, 806, 1300	957, 4400, 1013, 439
QF20	не определяли	7, 12
C1273	не определяли	93, 44

Пример 5. Определение функциональной специфичности в отношении IL-12 с помощью анализа в человеческих активированных Т-клетках.

Тестировали антитела к IL-23p19 в отношении функционального ингибирования IL-12 с помощью анализа в человеческих активированных Т-клетках. Человеческий рекомбинантный IL-12 (1 нг/мл) предварительно инкубировали с антителами к IL-23p19 в концентрации 5 мкг/мл. Затем добавляли комбинацию IL-12/антитело к полученным с использованием ФГА (фитогемагглютинина) бластным Т-клеткам. Образец, содержащий только рекомбинантный IL-12, применяли в качестве положительного контроля. Антитело к IL-12p70 (фирма Bender MedSystems, Вена, Австрия) применяли в качестве контрольного ингибирующего антитела. После культивирования в течение 2 дней клеточные супернатанты собирали и анализировали в отношении IFN-γ с помощью ELISA (фирма R&D Systems). Образцы оценивали в трех повторностях и определяли средний уровень IFN-γ. Результаты (с указанием стандартных отклонений)

приведены ниже в таблице.

Таблица 13

Антитело	Стимуляция цитокина	Средний уровень (пг/мл) IFN- γ \pm стандартное отклонение
антитело отсутствует	нет	87 \pm 7
антитело отсутствует	1 нг/мл IL-12	532 \pm 51
химерное 18E5	1 нг/мл IL-12	511 \pm 3
химерное 6B8	1 нг/мл IL-12	523 \pm 60
Антитело А	1 нг/мл IL-12	497 \pm 30
Антитело В	1 нг/мл IL-12	537 \pm 2
Антитело С	1 нг/мл IL-12	495 \pm 25
Антитело D	1 нг/мл IL-12	539 \pm 38
антитело к IL-12p70	1 нг/мл IL-12	119 \pm 12

Пример 6. Ингибирование индуцируемого IL-23 фосфорилирования STAT3 на человеческой клеточной линии DB.

Человеческая клеточная линия DB (ATCC, Манасас, шт. Виргиния) отвечает на стимуляцию IL-23 с помощью эндогенного комплекса IL-23R (IL-23R и IL-12RP1) и в ней происходит фосфорилирование STAT3 в зависимости от дозы IL-23. Осуществляли анализ для оценки ингибирования антителом к IL-23p19 индуцируемого IL-23 фосфорилирования STAT3. DB-клетки высевали из расчета 1×10^6 клеток/лунку в 96-луночный планшет. Подлежащие тестированию антитела серийно разводили и предварительно инкубировали с рекомбинантным человеческим IL-23 (10 нг/мл) в течение 1 ч при комнатной температуре. Затем к клеткам добавляли смесь антитело/IL-23 в течение 30 мин при 37°C. Клетки собирали центрифугированием при 4°C в течение 10 мин и затем лизировали в охлажденном на льду буфере (фирма Cell Signaling Technology, Беверли, шт. Массачусетс). Часть лизата использовали для анализа с помощью ELISA, предназначенного для оценки фосфо-STAT3 (фирма Invitrogen). Величины IC₅₀ для антител рассчитывали в виде процента ингибирования фосфорилирования STAT3 по сравнению с контрольными лунками без антитела. Репрезентативные величины IC₅₀ приведены ниже в таблице.

Таблица 14

Антитело	IC ₅₀ (нМ)
Антитело А	25, 15, 38, 23, 13, 18
Антитело В	73, 84
Антитело С	132, 80
Антитело D	158
QF20	26, 26, 27
C-1273	163, 438

Пример 7. Модель *in vivo* индуцируемого IL-23 производства цитокинов в ухе мышей.

Применяли созданную на мышах модель *in vivo*. Рекомбинантный человеческий IL-23 инъецировали в кожу уха мышей в течение 4 последовательных дней, что приводило к эпидермальному утолщению и повышающей регуляции белков IL-17 и IL-22. На этой модели оценивали антитела к IL-23p19. Осуществляли одну внутрибрюшинную инъекцию антитела в дозе 1 или 5 мг/кг за 1 ч до начала введения IL-23 в кожу. Рекомбинантный человеческий IL-23 (с линкером) инъецировали один раз в день в течение 3 дополнительных дней, и образцы ткани получали для оценки цитокинов. Продемонстрировано, что антитела ингибировали производство цитокинов. Ниже в таблице представлены результаты трех экспериментов (пример 1: строки 1-7, пример 2: строки 8-10, пример 3: строки 11-14).

Таблица 15

	Ткань уха, IL-17 пг/мл среднее значение \pm СКО	Ткань уха, процент ингибирования IL-17	Ткань уха, IL-22 пг/мл среднее значение \pm СКО	Ткань уха, процент ингибирования IL-22
0,1% БСА + цитратный буфер i.p. (нестимулированный контроль)	3 \pm 1	NA	1 \pm 0	NA
0,3 мкг IL-23 + цитратный буфер i.p. (наполнитель в качестве контроля)	25 \pm 3	NA	274 \pm 30	NA

0,3 мкг IL-23 + 1 мг/кг Антитела 6B8	7 ± 2	81	57 ± 19	80
0,3 мкг IL-23 + 1 мг/кг Антитела А	2 ± 1	101	17 ± 3	94
0,3 мкг IL-23 + 1 мг/кг Антитела В	5 ± 1	93	30 ± 2	89
0,3 мкг IL-23 + 1 мг/кг Антитела С	11 ± 1	66	108 ± 12	61
0,3 мкг IL-23 + 1 мг/кг Антитела D	10 ± 1	67	151 ± 12	45
0,1% БСА + наполнитель (нестимулированный контроль)	14 ± 1	NA	1 ± 1	NA
0,3 мкг IL-23 + наполнитель	31 ± 4	NA	129 ± 29	NA
0,3 мкг IL-23 + 5 мг/кг 24A5	14 ± 1	102	10 ± 5	93
0,1% БСА + mIgG (нестимулированный контроль)	17 ± 1	NA	4 ± 1	NA
0,3 мкг IL-23 + mIgG (наполнитель в качестве контроля)	30 ± 2	NA	208 ± 40	NA
0,3 мкг IL-23 + 5 мг/кг 24A5	16 ± 0	109	28 ± 5	88
0,3 мкг IL-23 + 5 мг/кг 18E5	21 ± 2	70	53 ± 41	80

Пример 8. Фармакокинетические исследования на обезьянах циномогус.

Гуманизированные антитела к IL-23p19 вводили путем десятиминутной внутривенной инфузии в дозе 1,0 мг/кг трем обезьянам циномогус. Образцы сыворотки получали в течение 6-недельного периода и концентрации свободных антител оценивали с помощью специфического ELISA. Профили зависимости концентрации в сыворотке от времени для антител и соответствующие фармакокинетические параметры обобщены ниже в табл. 16.

Таблица 16

Антитело	CL (мл/д/кг)	Объем (мл/кг)	AUC (нМ•ч/мл)	T _{1/2} (дни)	MRT (дни)
Антитело А	5,2	88	32262	12,1	17,2
Антитело В	6,0	87	27030	10,1	14,8
Антитело С	4,7	91	34642	14,1	19,6
Антитело D	3,4	67	47633	12,6	19,8

Пример 9. Экспрессия в NSO-клетках и биофизические данные.

Трансфекция NSO-клеток и получение стабильных пулов.

NSO-клетки выращивали в присутствии 1% FBS перед трансфекцией. Собирали 40×10⁶ клеток и ресуспендировали в 0,8 мл в средах, содержащих 2% FBS, с 20 мкг линейаризованной ДНК (экспрессионные векторы тяжелой цепи и легкой цепи) и затем клетки инкубировали на льду в течение примерно 15 мин перед электропорацией клеток при 750 В/25 мкФ (фирма Bio-Rad, устройство Gene Pulser Xcell). Клетки выделяли с помощью 2% FBS в течение примерно 48 ч при 37°С и 5% CO₂, затем высевали из расчета 2×10⁵ клеток/мл в 96-луночные планшеты, содержащие G418 и микофеноловую кислоту, и выдерживали в течение 14-21 дня до формирования колоний.

Супернатанты из 96-луночных планшетов, содержащих колонии, подвергали скринингу с помощью ELISA. Планшеты для ELISA сенсibilizировали козьим антителом к каппа-цепи в концентрации 1 мкг/мл (фирма Southern Biotech, Бирмингем, шт. Алабама) в ЗФР и разведенный супернатант инкубировали и затем оценивали с помощью козьего антитела к человеческому IgG Fc-HRP (фирма Jackson ImmunoResearch Laboratories, Вест-Гроув, шт. Пенсильвания). Дающие положительную реакцию колонии объединяли для размножения. Титры образовавшихся антител определяли с помощью устройства фирмы ForteBio, используя покрытые белком А насадки согласно протоколу производителя. Титры Антитела А и Антитела D составляли 250-350 мг/л, при этом регенерация белка после очистки составляла более 80% и обнаружено более 94% мономеров после очистки электродиализом и ионообменом (IEX). Белки ресуспендировали в конечном буфере, содержащем 20мМ цитрат натрия и 115мМ NaCl, pH 6,0, и они сохраняли стабильность при 4°С в течение по меньшей мере 4 месяцев, и их растворимость в указанном буфере составляла вплоть до 100 мг/мл.

Таблица 17

	Колонка с белком А			ИЕХ-колонка	
	Титр (мг/л)	Выход (мг/л)	Регенерация	Выход (мг/л)	Регенерация
Антитело А	345	275	80%	221	80%
Антитело D	248	225	90%	175	78%

Таблица 18

	Качество		Стабильность				Растворимость
	АУЦ, свежевыделенное (%М)	ГФХ, свежевыделенное (%М)	АУЦ 1 мес. (%М)	ГФХ 1 мес. (%М)	АУЦ 4 мес. (%М)	ГФХ 4 мес. (%М)	
Антитело А	98	99	97	99	96	99	99
Антитело D	94	100	98	100	99	99	97

АУЦ: аналитическое центрифугирование, основанное на измерении скорости осаждения при концентрациях 0,5-1 мг/мл; ГФХ: гель-фильтрационная хроматография; %М: процент мономеров.

Пример 10. Эпитопное картирование.

Применяли масс-спектрометрию на основе водородно/дейтериевого обмена (HXMS) для картирования эпитопа Антитела А, связывающегося с человеческой субъединицей IL-23p19. С помощью этого метода определяли чувствительность водородного амидного каркаса IL-23p19 к обмену на D₂O. Эксперимент проводили с использованием только IL-23 и IL-23 с добавлением Антитела А. Таким путем идентифицировали области в последовательности IL-23p19, для которых установлена выраженная защита от обмена в результате связывания с Антителом А. Разрешение метода определяли по пептидам, образовавшимся при расщеплении пепсином или протеазой XVIII. Указанные выведенные из IL-23p19 пептиды идентифицировали с помощью дополнительных контрольных экспериментов с образцами, в которых не осуществляли обмен, применяя стандартные точные методики определения массы и ЖХВР-МС/МС.

Применяли рекомбинантный человеческий IL-23. В случае образца, содержащего белок + антитело, 50 мкл IL-23 (0,8 мг/мл) инкубировали с 10 мкл Антитела А (12,7 мг/мл) в течение 15 мин при комнатной температуре. Конечное молярное соотношение Антитело А/IL-23 составляло 1,2:1.

Для осуществления обмена 5 мкл белка IL-23 добавляли к 50 мкл дейтерированного буфера (50мМ ЗФР в D₂O) и инкубировали в течение 100 с при комнатной температуре. Добавляли 50 мкл 2М мочевины/0,5М ТСЕР и инкубировали в течение 60 с при комнатной температуре. Добавляли 5 мкл пепсина или протеазы XVIII (4 мг/мл в 0,1% муравьиной кислоты) и образец немедленно охлаждали до 4°C.

Через 5 мин 50 мкл образца инъецировали в ЖХВР-систему Shimadzu (контролирующее устройство SCL10A и два LC10AD-насоса) в следующих условиях.

Подвижная фаза А: 99/1/0,1 (вода/ацетонитрил/муравьиная кислота).

Подвижная фаза Б: 95/5/0,1 (ацетонитрил/вода/муравьиная кислота).

Скорость потока: 100 мкл/мин.

Колонка: Phenomenex Jupiter C5, 5 мкм, 50×1,0 мм.

Линии подвижных фаз, колонка, петля инжектора находились в ледяных банях.

Градиент: момент времени 0 (3%Б), момент времени 2,2 (3%Б), момент времени 10,1 (90%Б), момент времени 12,0 (90%Б), момент времени 12,1 (3%Б).

Масс-спектрометрию осуществляли следующим образом:

масс-спектрометр: Thermo Orbitrap Velos (0900865).

Методы.

А. Фрагментация (до ID-пептидов): 12 мин - время захвата (3-минутная задержка на старте), полное сканирование на основе масс-спектрометрии с Фурье-преобразованием (FTMS) при разрешении 30000, семь сканированных изображений данных в зависимости от ионного захвата (CID).

Б. МС-погоны: 12 мин - время захвата (3-минутная задержка на старте), полное сканирование на основе FTMS при разрешении 60000.

Пептиды, полученные после обработки пепсином и протеазой XVIII, идентифицировали с использованием данных о фрагментации и программы Proteome Discoverer (фирма ThermoScientific, Уолтем, шт. Массачусетс). Идентифицированные пептиды визуализировали путем сравнения (индивидуальный белок в сравнении с белком в присутствии антитела), используя программу Xcalibur (фирма ThermoScientific). При осуществлении обмена вне IL-23p19-области не обнаружено никаких существенных сдвигов при оценке IL-23 индивидуально по сравнению с IL-23 в присутствии Антитела А. Для p19-области белка

данные анализировали с использованием программы ПерМар (фирма ThermoScientific). Эта программа позволяет рассчитывать среднюю массу измененных пептидов. Проверяли результаты, полученные с помощью ПерМар, и те пептиды, для которых не были получены подтвержденные результаты, рассчитывали с помощью Microsoft Excel.

Области последовательности IL-23, для которых установлена выраженная защита от обмена в результате связывания с Антителом А, идентифицировали как содержащие аминокислотные остатки 108-126 SEQ ID NO: 181 и аминокислотные остатки 137-151 SEQ ID NO: 181.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Бёрингер Ингельхайм Интернациональ ГмбХ

<120> АНТИТЕЛА К IL-23p19 ИЛИ ИХ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ ФРАГМЕНТЫ, ИХ ПРИМЕНЕНИЕ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ЭТИ АНТИТЕЛА, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ПОЛИНУКЛЕОТИДЫ, ЭКСПРЕССИОННЫЕ ВЕКТОРЫ И КЛЕТКИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИТЕЛ

<130> 09-0561

<150> 61/410,158

<151> 2010-11-04

<150> 61/411,953

<151> 2010-11-10

<150> 61/412,594

<151> 2010-11-11

<150> 61/448,785

<151> 2011-03-03

<160> 181

<170> FastSEQ для Windows, версия 4.0

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> Мышиная

<400> 1

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Glu	Tyr	Leu	His
1				5					10	

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

<213> Мышиная

<400> 2

Tyr	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser
1				5		

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Мышиная

<400> 3

Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe Thr
 1 5

<210> 4
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 4
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu Tyr
 1 5 10

<210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 5
 Phe Ala Ser Gln Ser Ile Ser
 1 5

<210> 6
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 6
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Val Tyr Leu His
 1 5 10

<210> 7
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 7
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu His
 1 5 10

<210> 8
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 8
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
 1 5 10 15

<210> 9
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 9
 Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 1 5

<210> 10
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 10
 Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 11
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 11
 Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Ile His
 1 5 10 15

<210> 12
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 12
 Leu Ala Ser Asn Leu Asp Ser
 1 5

<210> 13
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 13
 Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 14
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 14
 Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 15
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 15
 Arg Thr Ser Glu Ser Val Tyr Ser Tyr Gly Gln Asn Phe Ile His
 1 5 10 15

<210> 16
 <211> 7

<212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 16
 Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

<210> 17
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 17
 Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 18
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 18
 Arg Ala Ser Glu Thr Ile Asn Phe Tyr Gly Thr Ser Phe Met His
 1 5 10 15

<210> 19
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 19
 Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala Val Ala
 1 5 10

<210> 20
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 20
 Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
 1 5

<210> 21
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 21
 His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe Thr
 1 5

<210> 22
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 22

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 23

Ala Ala Arg Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 24

Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 25

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 26

Leu His Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 27

Arg Ala Ser Lys Ser Val Arg Phe Ser Asp Tyr Phe Tyr Met His
1 5 10 15

<210> 28

<211> 7

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 28

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 29
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 29
 Gln Asn Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 30
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 30
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Asn Ala Val Val
 1 5 10

<210> 31
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 31
 Trp Ala Ser Thr Arg His Ile
 1 5

<210> 32
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 32
 Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Leu Thr
 1 5

<210> 33
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 33
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Val Ile His
 1 5 10

<210> 34
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 34
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 35
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 35
 Arg Leu Asp Glu Ala Tyr
 1 5

<210> 36
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 36
 Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Leu Ile His
 1 5 10

<210> 37
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 37
 Asn Trp Asp Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 38
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 38
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Val Met His
 1 5 10

<210> 39
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 39
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 40
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 40
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Ile Ile His
 1 5 10

<210> 41
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 41
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 42
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 42
 Arg Trp Asp Glu Ser Tyr
 1 5

<210> 43
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 43
 Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ser Ile Met His
 1 5 10

<210> 44
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 44
 Arg Trp Asp Glu Ala Tyr
 1 5

<210> 45
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 45
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
 1 5 10

<210> 46
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 46
 Val Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 47
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 47
 Asp Gly His Arg Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5

<210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 48
 Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr Met Asn
 1 5 10

<210> 49
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 49
 Glu Ile Ile Pro Thr Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Ala

<210> 50
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 50
 Glu Ser Gly Gly Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 51
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His Thr Ile His
 1 5 10

<210> 52
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 52
 Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Tyr Pro Lys Phe Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 53
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 53
 Arg Pro Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5

<210> 54
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 54
 Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Leu Met His
 1 5 10

<210> 55
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 55
 Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 56
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 56
 Asn Trp Asp Tyr Ala Tyr
 1 5

<210> 57
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 57
 Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr Ala Ile Ser
 1 5 10

<210> 58
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 58
 Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 59
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 59
 Lys Asp Tyr Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 60
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 60
 Gly Phe Ser Leu Asn Asn Phe Ala Ile Ser
 1 5 10

<210> 61
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 61
 Ala Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 62
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 62
 Lys Asp Tyr Ser Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 63
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 63
 Gly Asn Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
 1 5 10

<210> 64
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 64
 Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 65
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 65
 Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
 1 5 10

<210> 66
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизованная последовательность

<400> 66
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
 1 5 10

<210> 67
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизованная последовательность

<400> 67
 Gly Phe Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
 1 5 10

<210> 68
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизованная последовательность

<400> 68
 Gly Gly Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
 1 5 10

<210> 69
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 69
 Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Val Met His
 1 5 10

<210> 70
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 70

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 71

<211> 6

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 71

Asn Trp Asp Val Pro Tyr
 1 5

<210> 72

<211> 17

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 72

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 73

<211> 17

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 73

Val Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Gly Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 74

Asn Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5

<210> 75

<211> 17

<212> PRT

<213> МЪШИНАЯ

<400> 75

Asp Phe Asn His Asn Asn Asp Val Ile Thr Tyr Asn Pro Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 76
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 76
 Gly Leu Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 77
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 77
 Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asn
 1 5 10

<210> 78
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 78
 Val Ile Ile Pro Asn Tyr Gly Phe Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 79
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 79
 Asp Gly Gly Ile Leu Leu Trp Tyr Leu Asp Val
 1 5 10

<210> 80
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 80
 Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asp
 1 5 10

<210> 81
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 81
 Asp Ile Asn Pro His Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 82
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 82
 Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val
 1 5 10

<210> 83
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 83
 gacattgtgc tgaccsaatc tccaggttct ttggtgtgt ctctagggca gagggccacc 60
 atatcctgca gaaccagtga aagtgtttat agttatggcc aaaattttat aacttggtac 120
 cagcagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc gtgcatccaa cctggaatct 180
 gggatccctg ccaggttcag tggcagtggt tctaggacag acttcaccct caccatgaat 240
 cctgtggagg ctgatgatgt tgcaacctat tactgtcagc aaactaatga ggatccgtac 300
 acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aga 333

<210> 84
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 84
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Thr Ser Glu Ser Val Tyr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Gln Asn Phe Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Met Asn
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg
 100 105 110

<210> 85
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 85
 gacattgtga tgaccsagtc tcacaaatc ttgtccacat cagtgggaga cagggtcacc 60
 atcacttgca aggccagtcg ggatgtggct attgctgtag cctgggtatca acagaaacca 120
 gggcaatctc ctaaactact tcttttctgg gcatccacc gacacactgg ggtccctgat 180
 cgcttcacag gcagtggate tcggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcagtct 240
 gaagacttgg cagattatct ctgtcaccaa tatagcagct atccattcac gttcggctcg 300
 gggacaaagt tggaataaa g 321

<210> 86
 <211> 107
 <212> PRT

<213> Мъшиная

<400> 86

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Leu Ser Thr Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Leu
 35 40 45
 Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 87

<211> 333

<212> ДНК

<213> Мъшиная

<400> 87

gacattgcgc tgaccsaatc tccagcttct ttgctgtgt ctctggggca gagggccacc 60
 atatcctgca gagccagtga aactattaat ttttatggca ctagttttat gcactggtac 120
 cagcagaaac caggacagtc acccaaactc ctcactatc gtgcatccaa cctagaatct 180
 gggatccctg ccaggttcag tggcagtggt tctaggacag acttcaccct caccattaat 240
 cctgtggagg ctgatgatgt tgcaacctat tactgtcagc aaactaatga ggatccgtac 300
 acgttcggag gggggactaa gttggaaata aaa 333

<210> 88

<211> 111

<212> PRT

<213> Мъшиная

<400> 88

Asp Ile Ala Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Thr Ile Asn Phe Tyr
 20 25 30
 Gly Thr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Ala Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asn
 85 90 95
 Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 89

<211> 336

<212> ДНК

<213> Мъшиная

<400> 89

gatgttggtga tgaccsaaac tccactctcc ctgctgtgca gtcttgagaga tcaagcctcc 60
 atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta ttacattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt 180

030436

tctgggggtcc cagacagggtt cagtggcagt ggatcagggga cagatttcac actcaagatc 240
 aacagagtgg aggctgagga tctgggagtt tattttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
 tacacgttcg gaggggggac ccagctggaa ataaaa 336

<210> 90
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 90
 Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Asn Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 91
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 91
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Leu His Trp Tyr Gln Gln Arg Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Val Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 92
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 92
 gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
 ctttcctgca gggccagtc gagtattagc gactacttat actggtatca acaaaaaatca 120
 catgagtctc caaggcttct catcaaattt gcttcccatt ccatctctgg gatccccctc 180
 aggttactct gcaagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcgacag tgtggaacct 240
 gatgatgttg gactcttttt ctgtcaaaat ggtcacagct ttccggttcac gttcggaggg 300
 gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 93
 <211> 107

<212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 93

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
           20           25           30
Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
           35           40           45
Lys Phe Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Thr Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asp Ser Val Glu Pro
65           70           75           80
Asp Asp Val Gly Val Phe Phe Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe
           85           90           95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
           100           105

```

<210> 94
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 94

```

gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gactacttac actggtatca acaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaatat gcttccaat ccatctctgg gatccccctc 180
aggttcagtg gcagtggtac agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtgtatta ctgtcaaaaat ggtcacacgt ttccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa a 321

```

<210> 95
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 95

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Glu Tyr
           20           25           30
Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
           35           40           45
Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
65           70           75           80
Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe
           85           90           95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
           100           105

```

<210> 96
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 96

```

gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gactacttat actggtatca acaaaaatca 120

```

catgagtctc caaggcttct catcaaattt gtttcccaat ccactctctgg gatccccctc 180
 aggttcactg gcagtgatc agggtcagat ttcactctca gtatcgacag tgtggaacct 240
 gatgatgttg gagtcttttt ctgtcaaaat ggtcacagct ttccggtcac gttcggaggg 300
 gggaccaagc tggaataaa a 321

<210> 97
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 97
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Phe Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asp Ser Val Glu Pro
 65 70 75 80
 Asp Asp Val Gly Val Phe Phe Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 98
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 98
 gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
 ctttctctgca gggccagcca gagtatttagc gagtatttac actggtatca acaaaaatca 120
 catgagtctc caaggcttct catcaaatat gtttcccaat ccactctctgg gatccccctc 180
 aggttcactg gcagtgatc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
 gaagatgttg gagtttatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcggctcg 300
 gggacaaagt tggaataaa a 321

<210> 99
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 99
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Glu Tyr
 20 25 30
 Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 100

<211> 321
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 100
 gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
 ctctcctgca gggccagcca gagtattagc gtctacttac actggtatca acaaaaaatca 120
 cctgagtctc caaggcttct catcaaatat gtttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
 aggttcagtg gcagtgatc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
 gaagatggtg gagtttatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcggctcg 300
 gggacaaagt tggaaataaa a 321

<210> 101
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 101
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Val Tyr
 20 25 30
 Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Pro Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 102
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 102
 gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaaa tagagtctct 60
 ctttctgca gggccagcca gagtattagc gactacttac actggtatca acaaaaaatca 120
 catgagtctc caaggcttct catcaaatat gtttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
 aggttcagtg gcagtgatc agggtcaaaat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
 gaagatggtg gagtgtatta ttgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcggctcg 300
 gggacaaagt tggaaataaa a 321

<210> 103
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 103
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Asn Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Ser Asn Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
 65 70 75 80

030436

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 104
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 104
 gacattgtgc tgacacagtc tctgtcttcc ttagctgttt ctctggggca gagggccacc 60
 atctcatgca gggccagcaa aagtgtcaga ttctctgact atttttatat gcaactggtag 120
 caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctacc ttgcatccaa cctagaatct 180
 ggggtccctg ccagggttcag tggcagtgagg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcaga acagtaggga gcttccgtac 300
 acgttcggag gggggaccaa gctggagata aaa 333

<210> 105
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 105
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Arg Phe Ser
 20 25 30
 Asp Tyr Phe Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Ser Arg
 85 90 95
 Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 106
 <211> 333
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 106
 gacattgtgt tgacacagtc tctgtcttcc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc 60
 atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct atagttatat acaactggtag 120
 caacagaaac cgggacagcc acccaaattc ctcatctatc ttgcatccaa cctagattct 180
 ggggtccctg ccagggttcag tggcagtgagg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
 cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc acagtaggga gcttccgtac 300
 acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaa 333

<210> 107
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 107
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser

030436

20 25 30
 Gly Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Phe Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Asp Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
 85 90 95
 Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 108
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 108
 gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
 ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gactacttac actggtatca acaaaaaatca 120
 catgagtctc caaggcttct catcaaatat gcttcccaat ccatctctgg gatccccctcc 180
 aggttcagtg gcagtggtgc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
 gaagatggtg gagtgtatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccgtacac gttcggagggg 300
 gggaccaagc tggaataaa a 321

<210> 109
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 109
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 110
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 110
 gatgttgtga tgaccsaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
 atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120
 tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
 tctgggggtcc ccgacaggtt cagtggcagt ggatcagggg cagattttcac actcaagatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
 tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataat 336

<210> 111
 <211> 112

<212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 111

Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Thr	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Gly
1				5					10					15	
Asp	Gln	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Val	His	Ser
			20					25					30		
Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Leu	His	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
		35					40					45			
Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
	50					55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
65					70					75					80
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Leu	Gly	Val	Tyr	Phe	Cys	Ser	Gln	Ser
				85				90					95		
Thr	His	Val	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Asn
			100					105						110	

<210> 112
 <211> 318
 <212> ДНК
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 112

```

gacattatga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgggt aatgctgtgg tctggatca acaaaaacca 120
gggcaatctc ctaaactact gatttactgg gcatccacc ggcacattgg agtcctgat 180
cgcttcacag gcagtggtgc tgggacagat ttcactctca ccattaccaa tgtgcagtct 240
gaagacttgg cagattatct ctgtcagcaa tatagcagct atctcacggt cgggtgctggg 300
accaagctgg agctgaaa                                     318
  
```

<210> 113
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 113

Asp	Ile	Met	Met	Thr	Gln	Ser	His	Lys	Phe	Met	Ser	Thr	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Ser	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Gly	Asn	Ala
			20					25					30		
Val	Val	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	His	Ile	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Thr	Asn	Val	Gln	Ser
65					70					75					80
Glu	Asp	Leu	Ala	Asp	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Leu	Thr
				85				90						95	
Phe	Gly	Ala	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys						
			100					105							

<210> 114
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> МЪШИНАЯ

<400> 114

```

gatgttgtga tgaccsaatc tccactctcc ctgcctgtca gtcttgaga tcaagcctcc 60
atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tctacattgg 120
  
```

tacctgctga agccaggcca gtctccaaag ctctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
 tctgggggtcc cagacagggt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
 agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
 tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa 336

<210> 115
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> МЫШИНАЯ

<400> 115
 Asp Val Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Leu Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
 85 90 95
 Thr His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 116
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> МЫШИНАЯ

<400> 116
 gacatccaga tgactcagtc tccagttttc ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60
 atcacatgtc gagcaagtga gaatattgac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120
 ggaaaatctc ctcagctcct ggtctttgct gcacgaaact tagcagatgg tgtgccatca 180
 aggttcagtg gcagtgatc aggcacacag tattctctca agatcaacag aatgcagtct 240
 gaagatggtg cgagatacta ctgtcaacat tattatagta ctccattcac gttcggctcg 300
 gggacaaagt tggaataga a 321

<210> 117
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> МЫШИНАЯ

<400> 117
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Val Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 35 40 45
 Phe Ala Ala Arg Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Arg Met Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Glu
 100 105

<210> 118

<211> 321
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 118
 gacatccaga tgactcagtc gccagcttcc ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcatc 60
 ttcacatgtc gagcaagtga gaatattgac agttatntag catggatatca gcagaaacag 120
 ggaaaatctc ctcaagctct ggtctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca 180
 aggttcagtg gcagtggtac aggcacacag tattctctca agatcaacag cctgcagtct 240
 gaagatggtg cgagatatta ctgtctacat tattatagta ctccattcac gttcggctcg 300
 gggacagagt tggaaataaa a 321

<210> 119
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 119
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Glu Thr Val Ile Phe Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Arg Tyr Tyr Cys Leu His Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Glu Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 120
 <211> 357
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 120
 caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctgggtggcgc cctcacagag cctgtccatc 60
 acatgcaactg tctctggggt ctcatataacc acctatgcta taagctgggt tcgccagtca 120
 ccaggaagg gtctggagtg gcttggagtc atatggactg gtggaggcac aaaatataat 180
 tcagctctca aatccagact gagcatcagc aaagacaact ccaagagtca agttttctta 240
 aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccagggtact actgtgccag aaaggactat 300
 aattacgggg gtgctatgga ctactgggggt caaggaacct cagtcaccgt ctctca 357

<210> 121
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 121
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80

<400> 125

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Ala Ile Trp Thr Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Val
 85 90 95
 Arg Lys Asp Tyr Ser Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 126

<211> 354

<212> ДНК

<213> Мъшиная

<400> 126

gaggtccagc tgcaacagctc tggacctgtg ctgggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgtaagg cttctggata cacattcact gactactata tgaactgggt gaagcagagc 120
 catggaaga gccttgagt gattggagtt attattcctt acaacgggtg tactagctac 180
 aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgttgaca agtcctccag cacagcctac 240
 atggagctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc acgagatggt 300
 caccgctggt acttcgatgt ctggggcaca gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 127

<211> 118

<212> PRT

<213> Мъшиная

<400> 127

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Val Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gly His Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr
 100 105 110
 Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 128

<211> 115

<212> PRT

<213> Мъшиная

<400> 128

030436

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Cys Cys
 20 25 30
 Ile Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Trp Asp Glu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ala
 115

<210> 129
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 129
 gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctgggtcaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggata cacattcact cgctatctta ttcactgggt gaaacagaag 120
 cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaaatac 180
 aatgagaagt tcaaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgeggctt attactgtac ctctaactgg 300
 gacctcgact actggggcca aggcaccact ctcaacagtct cctca 345

<210> 130
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 130
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30
 Leu Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Ser Asn Trp Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser
 115

<210> 131
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 131
 gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgaa gtggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cctctggata cacattcact agttctgtta tacactgggt gaagcagaag 120

gctgggcagg gccttgagtg gattggatat atcaatccct ataatgatgg tactaagtac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca gatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtac aagacgggtg 300
gacgaggctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 132
<211> 115
<212> PRT
<213> Мышиная

<400> 132
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser
20 25 30
Val Ile His Trp Val Lys Gln Lys Ala Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Arg Leu Asp Glu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 133
<211> 345
<212> ДНК
<213> Мышиная

<400> 133
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggctgc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact cgctatctta ttcactgggt gaagcagaag 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaaatat 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtac ctctaattgg 300
gacctgact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca 345

<210> 134
<211> 115
<212> PRT
<213> Мышиная

<400> 134
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ala Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30
Leu Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Ser Asn Trp Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
100 105 110
Val Ser Ser

115

<210> 135
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 135
 gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cctctggata cacattcact agttctgtta tgcactgggt gaagcagaag 120
 gctgggcagg gccttgagtg gattggatat atcaatccct ataatgatgg tactcagtac 180
 aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aattttccag cacagcctac 240
 atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgoggtct attactgtac aagacgggtg 300
 gacgaggctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 136
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 136
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser
 20 25 30
 Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Ala Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Phe Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Arg Leu Asp Glu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ala
 115

<210> 137
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 137
 gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggata cacattcact agctctatta ttactgggt gaagcagagg 120
 cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acgatgatgt tactaagtac 180
 aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgoggtct attactgtgc aagacgggtg 300
 gacgagtctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 138
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 138
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser
 20 25 30

Ile Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Trp Asp Glu Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ala
 115

<210> 139
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 139
 gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggata cacttttact acctctatta tgcaactgggt gaaacagaag 120
 cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatacctt acgatgatgt tactaagtac 180
 aatgaaaagt tcaaaggcaa ggccacattg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcagtct attactgtgt aagacgggtg 300
 gacgaggctt actgggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 140
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 140
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ser
 20 25 30
 Ile Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg Arg Trp Asp Glu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ala
 115

<210> 141
 <211> 357
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 141
 gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgag ctgggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
 tcctgtaagg cttctggata cacttttact gactactaca tgaactgggt gaggcagagc 120
 catggagaga gccttgagtg gattggagat tttaatcata acaatgatgt tattacttac 180
 aacccgaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaga agtcttccac cacagcctac 240
 atggagctcc gcagcctgtc atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aaggggggcta 300
 cgaggctact atgctatgga ctactgggggt caaggaacct cagtcaccgt ctctca 357

<210> 142
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 142
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ser His Gly Glu Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asp Phe Asn His Asn Asn Asp Val Ile Thr Tyr Asn Pro Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Val Glu Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Ser Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Leu Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 143
 <211> 354
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 143
 cagggttcagc tgcaacagtc tgacgctgag ttgggtgaaac ctggagcttc agtgaagata 60
 tcttgcaagg tttctggcta caccttcaact gaccatacta ttcactggat gaagcagagg 120
 cctgaacagg gcctggaatg gattggatat atttataccta gagatggtta tcctaagttc 180
 aatgagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atgcagctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aagacggccc 300
 ccttactatg ctatggacta ctgggggtcaa ggaacctcag tcgccgtctc ctca 354

<210> 144
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 144
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Asp Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Met Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Tyr Pro Lys Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Pro Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Ser Val Ala Val Ser Ser
 115

<210> 145

<211> 345
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 145
 gaggtccaac tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttctggata cacattcact aggtatctta tgcactgggt gaagcagaag 120
 cctgggscagg gccttgagtg gattggttat attaatcctt acaatgatgg tactaattac 180
 aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
 atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcgggtct attactgttc ccttaactgg 300
 gactatgctt actgggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 146
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 146
 Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
 20 25 30
 Leu Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Leu Asn Trp Asp Tyr Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ala
 115

<210> 147
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Мышиная

<400> 147
 gagttccagc tgcagcagtc tggacctgag ctgggtgaagc ctggcgcttc agtgaagata 60
 tcctgcaagg cttctgggta ctcattcact gactacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
 aaaggaaaga gccttgagtg gattggagta attattccta actatggttt tactagctac 180
 aatcagaact tcaagggcaa ggccactttg actgtagacc agtcttccag cacagcccac 240
 atgcagctca acagtgtgac atctgaggac tctgcagctct attactgtgt aagagatggg 300
 ggaatactcc tctggtatct cgatgtctgg ggcacagggg ccacgggtcac cgtctctca 360

<210> 148
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Мышиная

<400> 148
 Glu Phe Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Asn Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Lys Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Val Ile Ile Pro Asn Tyr Gly Phe Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe

<210> 152
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 152

Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Gly	Tyr
			20					25					30		
Tyr	Met	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Ser	Pro	Glu	Lys	Ser	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Glu	Ile	Ile	Pro	Thr	Thr	Gly	Gly	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Lys	Ala	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75				80	
Met	Gln	Leu	Lys	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Glu	Ser	Gly	Gly	Phe	Tyr	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Thr
			100					105					110		
Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser								
			115				120								

<210> 153
 <211> 345
 <212> ДНК
 <213> Мъшиная

<400> 153

```

gagggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggccttc agtgaagatg 60
tctctgcaagg cttctggata cacattcaact aggtatgtta tgcactgggt gaagcagaag 120
cctggggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgt tactaagtac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca gatcctccag cacagcctac 240
atgaaactca gcagcctgac ctctgaggac tctgoggtct attattgtgc aagaaactgg 300
gacgttcctt actggggcca agggactctg atcactgtct ctgca 345
  
```

<210> 154
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Мъшиная

<400> 154

Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Glu	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Met	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Arg	Tyr
			20					25					30		
Val	Met	His	Trp	Val	Lys	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Tyr	Ile	Asn	Pro	Tyr	Asn	Asp	Val	Thr	Lys	Tyr	Asn	Glu	Lys	Phe
	50					55					60				
Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ser	Asp	Arg	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75				80	
Met	Lys	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Asn	Trp	Asp	Val	Pro	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Ile	Thr
			100					105					110		
Val	Ser	Ala													
			115												

<210> 155
 <211> 345

<212> ДНК
<213> Мышиная

<400> 155
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctgggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcaact aggtatctta tgcactgggt gaagcagaag 120
cctggacagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtac 180
aatgagaggt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgoggtct attactgtgc aagaaactgg 300
gacgtacctt actgggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 156
<211> 115
<212> PRT
<213> Мышиная

<400> 156
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30
Leu Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asn Trp Asp Val Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala
115

<210> 157
<211> 321
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Гуманизированная последовательность

<400> 157
gacatccaga tgaccsagag cccaagcagc ctgagcgcga gcgtggggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atgcgcgtgg cctgggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gctgttctgg gccagcacc gccacaccgg cgtgccagac 180
cgcttcagcg gcagcggcag cggcacccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacctgg ccgactacta ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggccag 300
ggcaccsaagc tggagatcaa g 321

<210> 158
<211> 107
<212> PRT
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Гуманизированная последовательность

<400> 158
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala

030436

20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Leu
 35 40 45
 Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 159
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизированная последовательность

<400> 159
 gacatccaga tgaccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca ccgctgacc 60
 atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
 ggcaaggtgc caaagctgct gatctactgg gccagcacc gccacaccgg cgtgccaaagc 180
 cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
 gaggacgtgg ccgactactt ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
 ggcaccaagc tggagatcaa g 321

<210> 160
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизированная последовательность

<400> 160
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 161
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизированная последовательность

<400> 161

gacatccaga tgaccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca ccgctgacc 60
 atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
 ggcaaggtgc caaagctgct gatctactgg gccagcacc gccacaccgg cgtgccaaagc 180
 cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
 gaggacgtgg ccgactactt ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
 ggcaccaagc tggagatcaa g 321

<210> 162

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 162

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10						15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Arg	Asp	Val	Ala	Ile	Ala
			20					25					30		
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Val	Pro	Lys	Leu	Leu	Leu
		35					40					45			
Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	His	Thr	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Arg	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Val	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	His	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Pro	Phe
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

<210> 163

<211> 321

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 163

gacatccaga tgaccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca ccgctgacc 60
 atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
 ggcaaggtgc caaagctgct gctgttctgg gccagcacc gccacaccgg cgtgccagac 180
 cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
 gaggacctgg ccgactacta ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
 ggcaccaagc tggagatcaa g 321

<210> 164

<211> 107

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 164

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5				10						15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Arg	Asp	Val	Ala	Ile	Ala
			20					25					30		
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Val	Pro	Lys	Leu	Leu	Leu
		35					40					45			

030436

Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 165
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизированная последовательность

<400> 165
 caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
 agctgcaagg ccagcgggcta caccttcacc gaccagacca tccactggat gcgccaggcc 120
 ccaggccagg gcctggagtg gatcggctac atctaccacac gcgacgacag cccaaagtac 180
 aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccatc accgcccgaca agagcaccag caccgcctac 240
 atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgcccgtgt actactgcgc catcccagac 300
 cgcagcggct acgcctgggt catctactgg gccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360

<210> 166
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизированная последовательность

<400> 166
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Gln
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 167
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизированная последовательность

<400> 167

030436

caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
 agctgcaagg ccagcgggctt caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccaggcc 120
 ccaggccagg gcttggagtg gatgggctac atctaccac gcgacgacag cccaaagtac 180
 aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccctg accgcccaca agagcaccag caccgcctac 240
 atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgcccgtg actactgccc catcccagac 300
 cgcagcggct acgcttggtt catctactgg ggccagggca ccctgggtgac cgtgagcagc 360

<210> 168

<211> 120

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 168

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Gln
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 169

<211> 360

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 169

caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaagacc 60
 agctgcaagg ccagcgggagg caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccaggcc 120
 ccaggccagg gcttggagtg gatgggctac atctaccac gcgacgacag cccaaagtac 180
 aacgagaact tcaagggccg cgtcaccatc accgcccaca agagcaccag caccgcctac 240
 atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgcccgtg actactgccc catcccagac 300
 cgcagcggct acgcttggtt catctactgg ggccagggca ccctgggtgac cgtgagcagc 360

<210> 170

<211> 120

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 170

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

030436

Ser Val Lys Thr Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Thr Asp Gln
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 171
 <211> 360
 <212> ДНК
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизированная последовательность

<400> 171
 caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaagggtg 60
 agctgcaagg ccagcggcgg caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccaggcc 120
 ccaggccagg gcttgagtg gatgggctac atctaccac gcgacgacag cccaaagtac 180
 aacgagaatt tcaagggccg cgtcaccctg accgcccaca agagcaccag caccgcctac 240
 atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgcccgtg acttctgccc ccgccagac 300
 cgcagcggct acgcttggtt catctactgg ggccagggca ccctgggtgac cgtgagcagc 360

<210> 172
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Гуманизированная последовательность

<400> 172
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Thr Asp Gln
 20 25 30
 Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 173
 <211> 642
 <212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 173

```

gacatccaga tgaccsagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca ccgctgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gatctactgg gccagcacc gccacaccgg cgtgccaagc 180
cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacgtgg ccgactactt ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
ggcaccaagc tggagatcaa gcgtactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcc 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

```

<210> 174

<211> 214

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 174

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
           20           25           30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
           35           40           45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
           50           55           60
Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Val Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
           85           90           95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
           100          105          110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
           115          120          125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
           130          135          140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145          150          155          160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
           165          170          175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
           180          185          190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
           195          200          205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
           210

```

<210> 175

<211> 1347

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 175

```

caggtgcagc tgggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaagggtg 60
agctgcaagg ccagcgggcta caccttcacc gaccagacca tccactggat gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcttggagtg gatcgggtac atctaccacac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccatc accgcccaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgcccgtg actactgccc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctgggt catctactgg ggccagggca ccttgggtgac cgtgagcagc 360
gcctccacca agggcccacc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccttgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgctg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tcgacaagag agttgagccc 660
aaatcttgtg aaaaaactca cacatgcccc ccgtgcccag caccagaagc tgctgggggga 720
ccgtcagctc tctcttccc cccaaaacc aaggacacc tcatgatctc ccggaccct 780
gaggtcacat gcgtcgtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900
agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtctctgacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccc gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt ctctctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctcctgtc tccgggt 1347

```

<210> 176

<211> 449

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 176

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1          5          10          15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Gln
 20          25          30
Thr Ile His Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35          40          45
Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
 50          55          60
Lys Gly Lys Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65          70          75          80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85          90          95
Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr Trp Gly Gln
 100         105         110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115         120         125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130         135         140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145         150         155         160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165         170         175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180         185         190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195         200         205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

```

210						215					220					
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	
225					230					235					240	
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	
				245					250					255		
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	
			260					265					270			
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	
		275					280					285				
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	
290						295						300				
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	
305					310					315					320	
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	
				325					330					335		
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	
			340					345					350			
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	
		355						360				365				
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	
370						375					380					
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	
385					390					395					400	
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	
				405					410					415		
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	
			420					425					430			
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	
		435					440					445				

Gly

<210> 177

<211> 1347

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 177

```

cagggtgcagc  tgggtgcagag  cggcgccgag  gtgaagaagc  caggcagcag  cgtgaagggtg  60
agctgcaagg  ccagcggcct  caccttcacc  gaccagacca  tccactgggt  gcgccaggcc  120
ccaggccagg  gcctggagtg  gatgggctac  atctaccac  gcgacgacag  cccaaagtac  180
aacgagaact  tcaagggcaa  ggtcacctg  accgcccaca  agagcaccag  caccgctac  240
atggagctga  gcagcctgag  cagcgaggac  accgcccgtg  actactgagc  catcccagac  300
cgcagcggct  acgcttggtt  catctactgg  ggccagggca  ccctgggtgac  cgtgagcagc  360
gcctccacca  agggcccacc  ggtcttcccc  ctggcaccct  cctccaagag  cacctctggg  420
ggcacagcgg  ccctgggctg  cctgggtcaag  gactacttcc  ccgaaccggt  gacgggtgctg  480
tggaactcag  gcgcccctgac  cagcggcgtg  cacaccttcc  cggtgtcct  acagtcctca  540
ggactctact  ccctcagcag  cgtgggtgacc  gtgcccctca  gcagcttggg  caccagacc  600
tacatctgca  acgtgaatca  caagcccagc  aacaccaagg  tcgacaagag  agttgagccc  660
aaatcttggtg  acaaaaactca  cacatgccc  ccgtgcccag  caccagaagc  tgctgggggga  720
ccgtcagctc  tcctcttccc  cccaaaacc  aaggacacc  tcatgatctc  ccggaccct  780
gaggtcacat  gcgtcgtggt  ggacgtgagc  cacgaagacc  ctgaggtcaa  gttcaactgg  840
tacgtggagc  gcgtggaggt  gcataatgcc  aagacaaagc  cgccgggagga  gcagtacaac  900
agcacgtacc  gtgtggctag  cgctctcacc  gtctgcacc  aggactggct  gaatggcaag  960
gagtacaagt  gcaaggtctc  caacaaagcc  ctcccagccc  ccatcgagaa  aaccatctcc  1020
aaagccaaag  ggcagccccg  agaaccacag  gtgtacacc  tgccccatc  ccgggaggag  1080
atgaccaaga  accaggtcag  cctgacctgc  ctgggtcaaag  gcttctatcc  cagcgacatc  1140
gccgtggagt  gggagagcaa  tgggcagccg  gagaacaact  acaagaccac  gcctcccgtg  1200
ctggactccg  acggctcctt  cttctctac  agcaagctca  ccgtggacaa  gagcaggtgg  1260

```

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacag 1320
 cagaagagcc tctccctgtc tccgggt 1347

<210> 178

<211> 449

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизированная последовательность

<400> 178

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1			5						10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Gln
			20					25						30	
Thr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Tyr	Ile	Tyr	Pro	Arg	Asp	Asp	Ser	Pro	Lys	Tyr	Asn	Glu	Asn	Phe
	50					55					60				
Lys	Gly	Lys	Val	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90						95
Ala	Ile	Pro	Asp	Arg	Ser	Gly	Tyr	Ala	Trp	Phe	Ile	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105						110	
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val
		115					120					125			
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala
	130					135					140				
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser
145					150					155					160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val
				165					170					175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro
			180					185					190		
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys
		195				200						205			
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp
		210				215					220				
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly
225					230					235					240
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
				245					250					255	
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
			260				265						270		
Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
		275					280					285			
Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
	290					295					300				
Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
305					310					315					320
Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
				325					330					335	
Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
			340					345					350		
Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
		355					360					365			
Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
	370					375					380				
Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val
385					390					395					400
Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp

				405						410						415
Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	
				420						425				430		
Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	
				435						440				445		
Gly																

<210> 179

<211> 642

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизованная последовательность

<400> 179

```

gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcca ccgctgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gctgttctgg gccagcacc ccacaccgg cgtgccagac 180
cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacctgg ccgactacta ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagatcaa gcgtactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcc 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag cacctgacg 540
ctgagcaaac cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

```

<210> 180

<211> 214

<212> PRT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Гуманизованная последовательность

<400> 180

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ala	Ser	Arg	Asp	Val	Ala	Ile	Ala
				20				25					30		
Val	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Val	Pro	Lys	Leu	Leu	Leu
				35			40					45			
Phe	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	His	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly
50						55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Leu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	His	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Pro	Phe
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
				100				105					110		
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
		115				120						125			
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
				130		135					140				
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155					160
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
				165					170					175	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
				180				185						190	

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 181
 <211> 189
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 181
 Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
 1 5 10 15
 Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
 20 25 30
 Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
 35 40 45
 Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
 50 55 60
 Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
 65 70 75 80
 Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
 85 90 95
 Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
 100 105 110
 Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu
 115 120 125
 Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr
 130 135 140
 Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
 145 150 155 160
 Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
 165 170 175
 Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
 180 185

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

а) вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); и

б) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63, 66, 67 или 68 (CDR1-H); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

2. Антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

а) вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); и

б) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63 (CDR1-H); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

3. Антитело к IL-23p19 или его антигенсвязывающий фрагмент по п.1, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

а) вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); и

б) вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66 (CDR1-H); аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); и аминокислотную

держит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178.

17. Моноклональное антитело к IL-23p19 по п.14, где указанное антитело содержит легкую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180, и тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176.

18. Моноклональное антитело к IL-23p19 по п.14, где указанное антитело содержит легкую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180, и тяжелую цепь, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178.

19. Применение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по одному из пп.1-18 для лечения воспалительного заболевания, аутоиммунного заболевания, респираторного заболевания, метаболического нарушения или рака.

20. Применение по п.19 для лечения псориаза, воспалительного заболевания кишечника, псориатического артрита, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, болезни Крона или анкилозирующего спондилита.

21. Применение по п.19 для лечения астмы или хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ).

22. Фармацевтическая композиция для лечения воспалительного заболевания, аутоиммунного заболевания, респираторного заболевания, метаболического нарушения или рака, содержащая антитело или антигенсвязывающий фрагмент по одному из пп.1-18 и фармацевтически приемлемый носитель.

23. Выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела по п.18.

24. Выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела по п.18.

25. Выделенный полинуклеотид по п.23, где указанный полинуклеотид содержит последовательность, которая кодирует легкую цепь антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174 или 180.

26. Выделенный полинуклеотид по п.24, где указанный полинуклеотид содержит последовательность, которая кодирует тяжелую цепь антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176 или 178.

27. Экспрессионный вектор, включающий полинуклеотид по пп.23-26.

28. Клетка-хозяин для получения антитела по пп.1-18, включающая:

а) выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, 160, 162 или 164;

б) выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, 168, 170 или 172.

29. Клетка-хозяин по п.28, где указанный выделенный полинуклеотид по а) включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160, и указанный выделенный полинуклеотид по б) включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166.

30. Клетка-хозяин по п.28, где указанный выделенный полинуклеотид по а) включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 160, и указанный выделенный полинуклеотид по б) включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168.

31. Клетка-хозяин по п.28, где указанный выделенный полинуклеотид по а) включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, и указанный выделенный полинуклеотид по б) включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166.

32. Клетка-хозяин по п.28, где указанный выделенный полинуклеотид по а) включает последовательность, кодирующую вариабельную область легкой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, и указанный выделенный полинуклеотид по б) включает последовательность, кодирующую вариабельную область тяжелой цепи антитела или фрагмента антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 168.

33. Клетка-хозяин для получения антитела по пп.1-18, включающая:

а) выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует легкую цепь антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174 или 180, и

б) выделенный полинуклеотид, содержащий последовательность, которая кодирует тяжелую цепь антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176 или 178.

34. Клетка-хозяин по п.33, где указанный выделенный полинуклеотид по а) включает последова-

тельность, кодирующую переменную область легкой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174, и указанный выделенный полинуклеотид по б) включает последовательность, кодирующую переменную область тяжелой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176.

35. Клетка-хозяин по п.33, где указанный выделенный полинуклеотид по а) включает последовательность, кодирующую переменную область легкой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174, и указанный выделенный полинуклеотид по б) включает последовательность, кодирующую переменную область тяжелой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178.

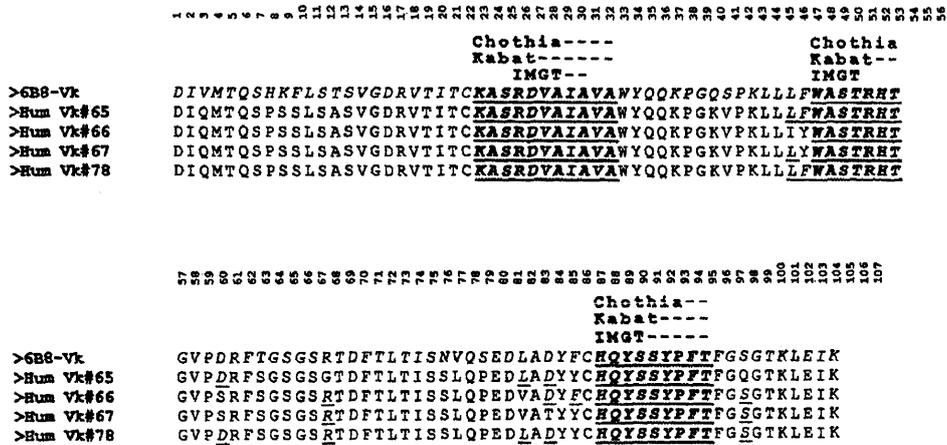
36. Клетка-хозяин по п.33, где указанный выделенный полинуклеотид по а) включает последовательность, кодирующую переменную область легкой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180, и указанный выделенный полинуклеотид по б) включает последовательность, кодирующую переменную область тяжелой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176.

37. Клетка-хозяин по п.33, где указанный выделенный полинуклеотид по а) включает последовательность, кодирующую переменную область легкой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 180, и указанный выделенный полинуклеотид по б) включает последовательность, кодирующую переменную область тяжелой цепи антитела, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 178.

38. Способ получения антитела или антигенсвязывающего фрагмента, включающий:

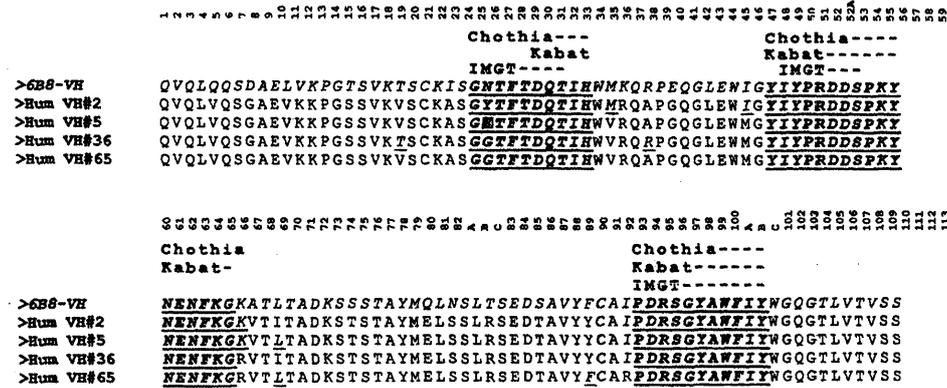
- а) получение клетки-хозяина по пп.28-37;
- б) культивирование клетки-хозяина;
- в) выделение и очистку антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

Сконструированные V_k-области антитела к IL-23p19 6B8

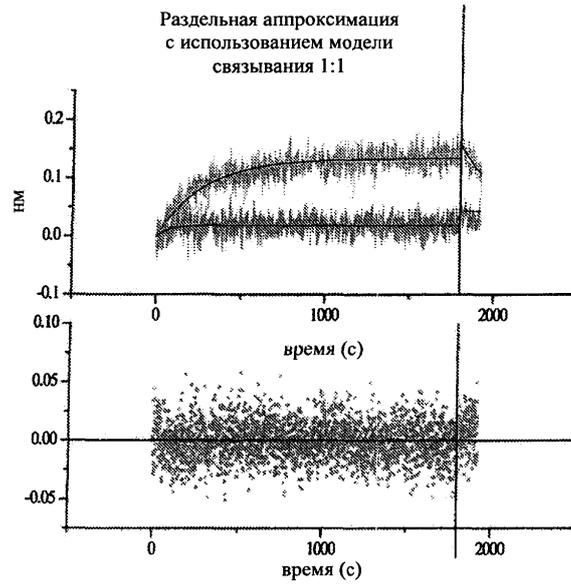


Фиг. 1а

Сконструированные V_H-области антитела к IL-23p19 6B8



Фиг. 1б



Фиг. 2

