

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **034854**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2020.03.30**

**(21)** Номер заявки  
**201600276**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2014.10.27**

**(51)** Int. Cl. **C07K 16/24** (2006.01)  
**C12N 15/13** (2006.01)  
**C12N 15/63** (2006.01)  
**C12N 5/10** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 37/06** (2006.01)

---

**(54) АНТИ-IL-17-АНТИТЕЛА, СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ И СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

**(31)** 2014109854

**(32)** 2014.03.14

**(33)** RU

**(43)** 2017.04.28

**(86)** PCT/RU2014/000808

**(87)** WO 2015/137843 2015.09.17

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ  
ОБЩЕСТВО "БИОКАД" (RU)**

**(72)** Изобретатель:  
**Улитин Андрей Борисович,  
Евдокимов Станислав Рудольфович,  
Соловьев Валерий Владимирович,  
Черных Юлия Сергеевна, Гончарова  
Ольга Владимировна, Коржавин  
Дмитрий Валерьевич, Черновская  
Татьяна Вениаминовна, Иванов  
Роман Алексеевич, Морозов Дмитрий  
Валентинович (RU)**

**(74)** Представитель:  
**Худяев М.Е. (RU)**

**(56)** WO-A1-2007149032  
WO-A2-2008021156  
CHEN GANG et al. "In vitro scanning  
saturation mutagenesis of all the specificity  
determining residues in an antibody binding site."  
Protein engineering, 1999, vol. 12, no.4, pages  
349-356  
US-A1-2013131319

---

**(57)** Изобретение относится к области медицины, в частности к области моноклональных антител против IL-17 человека. Более подробно изобретение относится к моноклональным антителам - антагонистам IL-17A, которые связываются с высокой аффинностью с эпитопом IL-17, при этом антитела содержат аминокислотные замены в гипервариабельных участках тяжелых и легких цепей. Антитела согласно изобретению могут быть химерными, гуманизированными или человеческими антителами или их антигенсвязывающими фрагментами и могут использоваться в качестве лекарственного средства для лечения аутоиммунных и воспалительных нарушений и нарушений пролиферации и развития клеток. Изобретение также относится к способам получения указанных антител.

---

**034854 B1**

**034854 B1**

### Область применения

Настоящее изобретение относится к области медицины, в частности к области моноклональных антител против IL-17 человека. Более подробно изобретение относится к моноклональным антителам - антагонистам IL-17A, которые связываются с высокой аффинностью с эпитопом IL-17, при этом антитела содержат аминокислотные замены в гипервариабельных участках тяжелых и легких цепей. Антитела согласно изобретению могут быть химерными, гуманизированными или человеческими антителами или их антигенсвязывающими фрагментами и могут использоваться в качестве лекарственного средства для лечения аутоиммунных и воспалительных нарушений и нарушений пролиферации и развития клеток. Изобретение также относится к способам получения указанных антител.

### Уровень техники

Основной функцией иммунной системы является защита организма от инфекций, например бактерий или вирусов, а также от раковых новообразований. Данная система организма включает несколько типов лимфоидных и миелоидных клеток, таких как моноциты, макрофаги, дендритные клетки, эузинофилы, Т-клетки, В-клетки и нейтрофилы. Указанные лимфоидные и миелоидные клетки могут продуцировать сигнальные белки, известные как цитокины. Иммунный ответ включает воспаление, т.е. накопление иммунных клеток системно или в определенном участке организма. В ответ на инфекцию или чужеродное вещество иммунные клетки секретируют цитокины, которые, в свою очередь, модулируют пролиферацию иммунных клеток, их развитие, дифференциацию или миграцию. Иммунный ответ может продуцировать патологические процессы, например, при запуске превышающего норму воспаления, как в случае аутоиммунных заболеваний (см., например, Abbas et al. (eds.) (2000) *Cellular and Molecular Immunology*, W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pa.; Oppenheim and Feldmann (eds.) (2001) *Cytokine Reference*, Academic Press, San Diego, Calif.; von Andrian and Mackay (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1020-1034; Davidson and Diamond (2001) *New Engl. J. Med.* 345:340-350).

На сегодня семейство IL-17 цитокинов включает IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E и IL-17F. Все члены семейства IL-17 имеют четыре высококонсервативных цистеиновых остатка, которые вовлечены в формирование межцепочечных дисульфидных связей, и имеют два или более цистеиновых остатка, которые могут быть вовлечены в межцепочечные дисульфидные связи. Члены семейства IL-17 не имеют никакого сходства с последовательностями любых других известных цитокинов.

Интерлейкин-17A (IL-17A, также известный как цитотоксичный Т-лимфоцитсвязанный антиген 8 (CTLA-8), IL-17) представляет собой гомодимерный цитокин в 20-30 кДа, продуцируемый Т-клетками памяти с последующим распознаванием антигена. Рост таких Т-клеток стимулируется интерлейкином-23 (IL-23) (см., например, McKenzie et al. (2006) *Trends Immunol.* 27(1): 17-23; Langrish et al. (2005) *J. Exp. Med.* 201(2):233-40). IL-17A действует посредством двух рецепторов (IL-17RA и IL-17RC) для инициации выработки многих молекул, вовлеченных в процессы с участием нейтрофилов, воспалительные процессы и разрушение органов. Этот цитокин обладает синергическим действием с фактором некроза опухоли (ФНО) или интерлейкином 1-бета (IL-1 $\beta$ ) для достижения более значимого провоспалительного состояния. Для лечения множества воспалительных, иммунных и пролиферативных состояний, включая ревматоидный артрит (РА), остеоартрит, остеопороз при ревматоидном артрите, воспалительный фиброз (например, склеродерма, фиброз легких и цирроз), гингивит, паронихия или пародонтальные заболевания, воспалительные заболевания кишечника (например, Болезнь Крона, язвенный колит и воспалительное заболевание кишечника), астма (включая аллергическую астму), аллергии, хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), рассеянный склероз, псориаз и рак и другие, было предложено снижать активность IL-17A с помощью антител или антигенсвязывающих фрагментов антител, которые являются в данном случае антагонистами этих рецепторов (см., например, US 2003/0166862, WO 2005/108616, WO 2005/051422 и WO 2006/013107).

В настоящее время создано несколько видов антител против IL-17, в частности антитела против IL-17A, включая AIN457 (секукинумаб, Эбботт Лэборетриз), LY2439821 (икзекизумаб, Эли Лилли), SCH900117 (Мерк), RG4943 (Рош) и другие.

Так в заявке на патент США US 2010/0245666 описываются антитела против IL-17 (секукинумаб, AIN457), содержащие в одном из CDR участков тяжелой или легкой цепи замену аминокислоты или ее делецию. Данные антитела характеризуются высокой аффинностью к IL-17, при этом константа диссоциации  $K_D$  составляет примерно 122 $\mu$ M. Также описано применение данных антител в качестве ингибиторов связывания IL-17 с соответствующим рецептором, в частности, для лечения увеита. В настоящее время описанное антитело проходит клинические исследования по лечению ревматоидного артрита, анкилозирующей спондилоартропатии, болезни Крона, псориаза, рассеянного склероза и нейтрофилии, индуцированной озоном воздуха. Было показано, что это антитело безопасно при применении и эффективно в лечении ревматоидного артрита у 46% пациентов (Durez et al., *Communication EULAR 2009-RA*).

Также в предшествующем уровне техники раскрыты гуманизированные антитела против IL-17 согласно международной публикации заявки WO 2007/070750 (LY2439821, икзекизумаб, Эли Лилли). Данные антитела содержат вариабельные участки тяжелой и легкой цепей с аминокислотными заменами. При этом описанное антитело характеризуется сильным сродством к связыванию ( $K_D$ ) IL-17 человека,

т.е. меньше чем приблизительно 7,0-4,0 пМ, и коэффициентом выведения  $k_{off}$  для IL-17 человека меньше чем  $2 \times 10^{-5} \text{с}^{-1}$ . Антитела проходили клинические испытания на безопасность, переносимость и эффективность при внутривенном введении пациентам с ревматоидным артритом (Genoevse et al., Communication EULAR 2009-RA; Genoevse et al., Arthritis & Rheumatism, 62: 929-39, (2010)).

Также в предшествующем уровне техники описаны другие антитела к IL-17: мышинные античеловеческие нейтрализующие антитела eBio64CAP17 (eBioscience) или их производные. Другие примеры антител к IL-17 раскрыты в заявках на патент US 2009/0175881 A1, US 2008/0269467 A1 и международных публикациях WO 2008/001063 A1 и WO 2007/117749 A1.

Таким образом, учитывая локализованное распространение в участках воспаления, IL-17 является новой мишенью для лечения воспалительных и аутоиммунных заболеваний с потенциально большим профилем безопасности, чем лекарства, которые нацелены на провоспалительные цитокины большого круга кровообращения, такие как ФНО (фактор некроза опухоли). На основе всего вышесказанного можно заключить, что имеется потребность в антителах, которые обладают антагонистическим действием или нейтрализуют активность IL-17A для лечения расстройств, заболеваний или состояний, где присутствие биологической активности IL-17A вызывает или способствует желательному патологическому результату, или там, где снижение биологической активности IL-17A способствует желательному терапевтическому результату, включая воспалительные нарушения, нарушения пролиферации и развития клеток, аутоиммунные нарушения, такие как ревматоидный артрит (РА), рассеянный склероз (РС) и воспалительные заболевания кишечника (ВЗК).

Наибольшее ограничение при применении антител в качестве препаратов накладывает иммуногенность антител и их аффинность. Т.к. большинство моноклональных антител получены на основе мышинных, периодическое применение таких антител у людей приводит к развитию иммунного ответа на терапию антителами, например аллергических реакций. Такие типы иммунного ответа приводят в конечном итоге к потере эффективности при лечении по меньшей мере и, в худшем случае, к возможным анафилактическим реакциям.

Таким образом, согласно настоящему изобретению предложены антитела против IL-17A, содержащие аминокислотные замены, при этом предложенные антитела обладают высокой аффинностью и улучшенной растворимостью, а также повышенной ИС<sub>50</sub>.

#### Описание фигур

Фиг. 1. Форетограмма полученного раствора белка IL-17A:

- 1 -  $9^{10}$  0,25 мкг+β-МЕ;
- 2 -  $9^{10}$  0,5 мкг+β-МЕ;
- 3 -  $9^{10}$  1 мкг+β-МЕ;
- 4 - пусто;
- 5 - неокрашенный ферментом маркер;
- 6 - среда до нанесения на IMACBioRad;
- 7 - среда после нанесения на IMACBioRad;
- 8 - отмывка 1;
- 9 - отмывка 2;
- 10 - отмывка 3;
- 11 - элюция 2,5 мкл;
- 12 - элюция 5 мкл;
- 13 - элюция 10 мкл.

Фиг. 2. Форетограмма полученного раствора белка IL-17A-Fc:

- 1 -  $9^{10}$  мышинного IgG 1 мкг;
- 2 - неокрашенный ферментом маркер;
- 3 - среда до нанесения 10 мкл;
- 4 - среда после нанесения 10 мкл;
- 5 - отмывка ФСБ-Твин 10 мкл;
- 6 - отмывка ФСБ 10 мкл;
- 7 - элюция 1-е 10 мкл;
- 8 - элюция 12 мл 10 мкл;
- 9 - элюция 12 мл 10 мкл;
- 10 - отмывка сорбента pH 2,5 10 мкл;
- 11 - IL-17-Fc после диализа 10 мкл.

Фиг. 3А. Гель электрофорез в 12% SDS-PAGE в восстанавливающих условиях:

- 1 - AIN457 2,5 мкг;
- 2 - AIN457 5 мкг;
- 3 - AIN457 0 мкг;
- 4 - неокрашенный ферментом маркер PW;
- 5 - IgG aIL17 A1CL v4C2P 5 мкл;

- 6 - IgG aIL17 A1CL v3E2P 5 мкл;
- 7 - IgG aIL17 A1CL v1A2C 5 мкл;
- 8 - IgG aIL17 A1CL v7C2P 5 мкл;
- 9 - IgG aIL17 A1CL v1D2C 5 мкл;
- 10 - IgG aIL17 A1CL v2D2C 5 мкл;
- 11 - IgG aIL17 A1CL v4D2P 5 мкл;
- 12 - IgG aIL17 A1CL контроль.

Фиг. 3В. Гель электрофорез в 12% SDS-PAGE в невосстанавливающих условиях:

- 1 - AIN457 2.5 мкг;
- 2 - AIN457 5 мкг;
- 3 - AIN457 0 мкг;
- 4 - неокрашенный ферментом маркер PW;
- 5 - IgG aIL17 A1CL v4C2P 5 мкл;
- 6 - IgG aIL17 A1CL v3E2P 5 мкл;
- 7 - IgG aIL17 A1CL v1A2C 5 мкл;
- 8 - IgG aIL17 A1CL v7C2P 5 мкл;
- 9 - IgG aIL17 A1CL v1D2C 5 мкл;
- 10 - IgG aIL 17 A1CL v2D2C 5 мкл;
- 11 - IgG aIL17 A1CL v4D2P 5 мкл;
- 12 - IgG aIL 17 A1CL контроль.

Фиг. 4. Схема синтеза комбинаторной Fab-библиотеки ламы.

Фиг. 5. Фагмида для клонирования Fab фаговых дисплейных библиотек.

Фиг. 6А. Схема синтеза комбинаторных библиотек гибридных Fab антител.

Фиг. 6В. Схема синтеза комбинаторных библиотек гибридных Fab антител.

Фиг. 7. Комбинирование пулов переменных доменов.

Фиг. 8. ИФА скрининг Fab, специфических против IL-17A человека.

Фиг. 9. Конкурентный ИФА скрининг Fab-кандидатов, блокирующих взаимодействие IL-17A/IL-17R.

Фиг. 10. Результаты koff-скрининга анти-IL-17A Fab кандидатов человека.

Фиг. 11. Электрофореграмма раствора BCD085:

- 1 - неокрашенный ферментами маркер;
- 2 - BCD085, 10 мкг+βМЭ;
- 3 - BCD085, 40 мкг+βМЭ;
- 4 - неокрашенный ферментами маркер;
- 5 - BCD085, 10 мкг - βМЭ;
- 6 - BCD085, 40 мкг - βМЭ.

Фиг. 12. Гель-фильтрационный профиль очищенного препарата BCD085.

Фиг. 13. IL-6 Ингибирующая способность BCD085 в сравнении с AIN 457.

Фиг. 14А. Кривая взаимодействия BCD085 с человеческим IL-17 при концентрациях (нМ) 68,6 (верхняя кривая), 34,3 (нижняя кривая).

Фиг. 14В. Кривая взаимодействия BCD085 с IL-17 макаки (*Macaca mulatta*) при концентрациях (нМ) 68,7 (верхняя кривая), 34,4 (средняя кривая) и 17,2 (нижняя кривая).

Фиг. 15. Хроматограмма антитела BCD085, полученная после проведения термостресса.

Фиг. 16. Фармакокинетика препарата антитела против IL-17A BCD085 при однократном подкожном введении обезьянам макакам резус (*Macaca mulatta*) в дозе 40 мг/кг.

Фиг. 17. Строение антитела типа IgG.

### Описание изобретения

Определения.

"Интерлейкин 17", также указанный как "IL-17" или "IL-17A", является 20-30 кД гликозилированным гомодимерным протеином. Ген IL-17 человека кодирует 155-ти аминокислотный протеин, который имеет 19-ти аминокислотную сигнальную последовательность и 136-ти аминокислотный зрелый сегмент. Полноразмерное антитело в том виде, в котором оно встречается в природе, представляет собой молекулу иммуноглобулина (антитела), которая состоит из четырех пептидных цепей, две тяжелые (H) цепи (приблизительно 50-70 кД при полной длине) и две легкие (L) цепи (приблизительно 25 кД при полной длине), взаимосвязанных дисульфидными мостиками. Аминоконцевая часть каждой цепи включает переменный участок из приблизительно 100-110 или более аминокислот, которые в основном отвечают за распознавание антигенов. Карбоксиконцевая часть каждой цепи определяет константный участок, главным образом, отвечающий за функцию эффектора.

Антитело состоит из нескольких фрагментов: легких и тяжелых цепей.

Переменные участки тяжелых и легких цепей образуют антигенсвязывающий центр (или участок). Строение антитела показано на фиг. 17.

Легкие цепи классифицируют как каппа или лямбда и они характеризуются конкретным константным участком. Каждая легкая цепь состоит из переменного участка N-концевой легкой цепи (в данной заявке "LCVR" или "VL") и константного участка легкой цепи, состоящего из одного домена, CL. Тяжелые цепи классифицируют как гамма, мю, альфа, дельта или эпсилон, и они определяют изотип антитела, такой как IgG, IgM, IgA, IgD и IgE соответственно, и несколько из них могут быть дополнительно разделены на подклассы (изотипы), например IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Каждый тип тяжелой цепи характеризуется конкретным константным участком, Fc. Каждая тяжелая цепь состоит из переменного участка N-концевой тяжелой цепи (в данной заявке "HCVR" или "VH") и константного участка тяжелой цепи, CH. Константный участок тяжелой цепи состоит из трех доменов (CH1, CH2 и CH3) для IgG, IgD и IgA и 4 доменов (CH1, CH2, CH3 и CH4) для IgM и IgE. Участки HCVR и LCVR могут быть дополнительно разделены на участки гипервариабельности, названные Rf-гипервариабельными участками (CDR), перемежающиеся с более консервативными участками, названными каркасными участками (FR). Каждый HCVR и LCVR состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных в следующем порядке от аминоконца к карбоксиконцу: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В данной заявке 3 CDR тяжелой цепи обозначены как "CDRH1, CDRH2 и CDRH3", а 3 CDR легкой цепи обозначены как "CDRL1, CDRL2 и CDRL3". CDR содержат большинство остатков, которые образуют специфические взаимодействия с антигеном. Нумерацию и позиционирование CDR-аминокислотных остатков в пределах HCVR и LCVR участков антител согласно данному изобретению осуществляют с хорошо известной номенклатурой Kabat, если не указано иного. В настоящей заявке используется, если не указано иного, общепринятые буквенные обозначения аминокислот.

Термин "анти-IL-17-антитело", "антитело к IL-17", "антитело, специфически связывающееся с интерлейкином IL-17" или "антитело против IL-17A" являются взаимозаменяемыми в контексте настоящей заявки и относятся к антителу, которое специфически связывается с IL-17A.

Термин "антитело" в связи с анти-IL-17A моноклональным антителом по изобретению (либо упрощенно, "моноклональное антитело по изобретению"), как используется в данной заявке, относится к моноклональному антителу. "Моноклональное антитело", как используется в данной заявке, относится к антителу грызуна, семейства приматов или Camelidae, предпочтительно к антителу мыши, макаки, верблюда или ламы, химерному антителу, гуманизированному антителу или полностью человеческому антителу, если в данной заявке не указано иное. Моноклональные антитела по изобретению могут быть получены с использованием, например, гибридных методик, хорошо известных из уровня техники, а также рекомбинантных технологий, технологий фагового дисплея, синтетических технологий или комбинаций таких технологий или других технологий, хорошо известных из уровня техники. Термин "моноклональное антитело", как его используют в данной заявке, не ограничивается антителами, полученными с помощью гибридной технологии. "Моноклональное антитело" относится к антителу, полученному из единой копии или клона, включая, например, любой эукариотический, прокариотический или фаговый клон, а не к способу его получения. "Моноклональное антитело" может быть интактным антителом (содержащим полный или полноразмерный Fc-участок), по существу, интактным антителом, частью или фрагментом антитела, содержащими антигенсвязывающую часть, например Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент или F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент антитела. "Fab"-фрагмент содержит переменный и константный домен легкой цепи и переменный домен и первый константный домен (CH1) тяжелой цепи. "F(ab')<sub>2</sub>"-фрагменты антитела содержат пару Fab-фрагментов, которые в основном ковалентно связаны возле их карбоксиконцов шарнирными аминокислотами между ними. Fv - переменный фрагмент антитела (variable fragment), scFv (single chain Fv) - переменный фрагмент антитела, у которого фрагменты легкой и тяжелой цепей связаны полипептидным линкером, (scFv)<sub>2</sub> - фрагмент, состоящий из двух молекул scFv, соединенных дисульфидной связью, dsFv - переменный фрагмент, стабилизированный дополнительной внутримолекулярной дисульфидной связью. Другие химические связывания фрагментов антител также хорошо известны из уровня техники.

Термин "антитело" и "иммуноглобулин" являются взаимозаменяемыми в контексте данной заявки.

Переменные участки каждой из пар легкая/тяжелая цепь образуют антигенсвязывающие сайты антитела. Как используется в данной заявке, "антигенсвязывающая часть", или "антигенсвязывающий участок", или "антигенсвязывающий домен", или "антигенсвязывающий центр" относятся, взаимозаменяемо, к такой части молекулы антитела, которая содержит аминокислотные остатки, взаимодействующие с антигеном и придающие антителу его специфичность и аффинность по отношению к антигену. Эта часть антитела включает "каркасные" аминокислотные остатки, необходимые для поддержания надлежащей конформации антигенсвязывающих остатков.

Предпочтительно CDR антигенсвязывающего участка или весь антигенсвязывающий участок антител по изобретению имеет происхождение из донорской человеческой библиотеки или, по существу, человеческое происхождение с определенными аминокислотными остатками, измененными, например, замещенными разными аминокислотными остатками с тем, чтобы оптимизировать конкретные свойства антитела, например K<sub>D</sub>, k<sub>off</sub>, IC<sub>50</sub>. Предпочтительно каркасные участки антитела по изобретению имеют человеческое происхождение или, по существу, человеческое происхождение (по крайней мере на 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% человеческого происхождения). Предпочтительные каркасные участки антитела

по изобретению имеют следующие аминокислотные последовательности, соответствующие каркасным участкам антитела человека:

Вариабельный домен тяжелой цепи

FR1 QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAADG  
FR2 WVRQAPGKGLEWVS  
FR3 RFTISRDDAKNTLYLQMSSLKTEDTAVYYC  
FR4 WGQGTLVTVSS

Вариабельный домен легкой цепи

FR1 QSVLTQPPSVSVAPGKTVTISC  
FR2 WYQHLPGTAPKLLIY  
FR3 GVPDRFSGSQSGNTASLTISGLQAEDEADYYC  
FR4 FGGGKTLTVLQG.

В других вариантах осуществления антигенсвязывающий участок IL-17-антитела по изобретению может происходить из других нечеловеческих видов, включая кролика, крысу или хомяка, но не ограничиваясь ими. Альтернативно, антигенсвязывающий участок может происходить из человеческих видов.

Кроме того, "моноклональное антитело", как используется в данной заявке, может быть одноцепочечным Fv-фрагментом, который может быть получен путем связывания ДНК, кодирующей LCVR и HCVR, с линкерной последовательностью (см. Pluckthun, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, p. 269-315, 1994). Подразумевается, что вне зависимости от того, указаны ли фрагменты или части, термин "антитело", как используется в данной заявке, включает такие фрагменты или части, а также одноцепочечные формы. До тех пор пока белок сохраняет способность специфического или предпочтительного связывания своей мишени (например, эпитопа или антигена), он относится к термину "антитело". Антитела могут быть гликозилированными, или не быть таковыми, и входят в рамки изобретения.

Популяция "моноклональных антител" относится к гомогенной или, по существу, гомогенной популяции антител (т.е. по крайней мере приблизительно 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96%, более предпочтительно по крайней мере приблизительно 97 или 98% или еще более предпочтительно по крайней мере 99% антител в популяции будут конкурировать в анализе ELISA за тот же антиген или эпитоп или более предпочтительно антитела являются идентичными в аминокислотной последовательности). Антитела могут быть, а могут и не быть, гликозилированными и все еще подпадать в объем изобретения. Моноклональные антитела могут быть гомогенными, если они имеют идентичную аминокислотную последовательность, хотя они могут отличаться по посттрансляционной модификации, например паттернгликолизации.

"Вариант" антитела относится в данной заявке к молекуле, аминокислотная последовательность которой отличается от аминокислотной последовательности "родительского" антитела путем добавления, делеции и/или замещения одного или более аминокислотных остатков в последовательности родительского антитела. В предпочтительном из вариантов осуществления вариантное антитело содержит по крайней мере одну аминокислотную (например, от одной до приблизительно десяти и предпочтительно 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8) добавку, делецию и/или замещение в CDR-участках родительского антитела. Идентичность или гомологичность относительно последовательности вариантного антитела определена в данной заявке как процент аминокислотных остатков в последовательности вариантного антитела, идентичный остаткам родительского антитела, после выравнивания последовательностей и введения разрывов, при необходимости, для достижения максимального процента идентичности последовательности. Вариантное антитело сохраняет способность связывать антиген или предпочтительно эпитоп, с которым связывается родительское антитело или предпочтительно имеет по крайней мере одно свойство или биологическую активность, которая превосходит аналогичные свойства родительского антитела. Например, антитело предпочтительно обладает более сильной аффинностью связывания, большим периодом полувыведения, более низким IC<sub>50</sub> или повышенной способностью ингибировать биологическую активность антигена, чем родительское антитело. Вариантное антитело, представляющее особый интерес, в данной заявке является антителом, проявляющим по крайней мере приблизительно 2-кратное, предпочтительно по крайней мере приблизительно 5-кратное, 10-кратное или 20-кратное увеличение биологической активности по сравнению с родительским антителом.

"Родительское" антитело в данной заявке - это антитело, кодированное аминокислотной последовательностью, которая используется для получения варианта. Родительское антитело может иметь каркасную последовательность происхождения из *Lama glama*, но предпочтительно каркасная последовательность имеет полностью или, по существу, человеческое происхождение. Родительское антитело может быть из ламы, химерным, гуманизированным или человеческим антителом.

Антитела согласно изобретению могут быть получены различными методами конструирования, в том числе с использованием рекомбинантных способов, включая шаффлинг ДНК, полученной из различных источников.

Термин "специфически связывает", как используется в данной заявке, относится к той ситуации, при которой один участник пары специфического связывания не связывает в значительной степени мо-

лекулы, отличные от его партнера (партнеров) по специфическому связыванию. Термин также применим, когда, например, антигенсвязывающий домен антитела по изобретению является специфическим для конкретного эпитопа, который переносится рядом антигенов, в таком случае специфическое антитело, имеющее антигенсвязывающий домен, будет способно к специфическому связыванию различных антигенов, несущих эпитоп. Соответственно моноклональное антитело по изобретению специфически связывает IL-17 человека (т.е. IL-17A), в то время как оно специфически не связывает человеческие IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F.

Термин "эпитоп" относится к той части молекулы, которая способна распознаваться и связываться с антителом в одном или более антигенсвязывающих участках антитела. Эпитопы часто состоят из химически активных поверхностных групп молекул, таких как аминокислоты или сахарные боковые цепи, и обладают специфическими трехмерными структурными характеристиками, а также специфическими зарядовыми характеристиками. Под "ингибирующим эпитопом" и/или "нейтрализующим эпитопом" подразумевается эпитоп, который в контексте интактной антигенной молекулы и при связывании антителом, специфическим к эпитопу, приводит к утрате или к уменьшению биологической активности молекулы или организма, который содержит молекулу, *in vivo* или *in vitro*.

Термин "эпитоп", как используется в данной заявке, кроме того, относится к части полипептида, которая обладает антигенной, и/или иммуногенной активностью у животного, предпочтительно млекопитающего, например мыши или человека. Термин "антигенный эпитоп", как используется в данной заявке, определяется как часть полипептида, с которой может специфически связываться антитело, определенная любым способом, хорошо известным из уровня техники, например при помощи традиционного иммунного анализа. Антигенные эпитопы не обязательно должны быть иммуногенными, но могут также быть иммуногенными. "Иммуногенный эпитоп", как используется в данной заявке, определяется как часть полипептида, который вызывает отклик антитела у животного, как устанавливается любым способом, известным из уровня техники. "Нелинейный эпитоп" или "конформационный эпитоп" содержит несмежные полипептиды (или аминокислоты) в пределах антигенного протеина, с которым антитело, специфическое к эпитопу, связывается.

Выражения "биологическое свойство" или "биологическая характеристика" или термины "активность" или "биоактивность" по отношению к антителу по изобретению используются в данной заявке как взаимозаменяемые и включают, но не ограничиваются приведенными, эпитоп/антигенную аффинность и специфичность, способность нейтрализовать или быть антагонистом активности IL-17 *in vivo* или *in vitro*, IC<sub>50</sub>, стабильность антитела и иммуногенные свойства антитела *in vivo*. Остальные идентифицируемые из уровня техники биологические свойства или характеристики антитела включают, например, перекрестную реактивность (т.е. с нечеловеческими гомологами пептида-мишени или с остальными протеинами или мишенями, в общем) и способность сохранять высокие уровни экспрессии протеина в клетках млекопитающих. Вышеуказанные свойства или характеристики могут наблюдаться, измеряться или оцениваться с использованием методик, признанных в уровне техники, включая, но не ограничиваясь приведенными, анализ ELISA, конкурентный анализ ELISA, BIACORE или анализ поверхностного плазмонного резонанса KINEXA, анализы нейтрализации *in vitro* или *in vivo* без ограничений, рецепторного связывания, продуцирования и/или секреции цитокина или фактора роста, сигнальную трансдукцию и иммуногистохимию срезов тканей, полученных из различных источников, включая человека, примата или любой другой источник.

Термин "ингибировать" или "нейтрализовать", как используется в данной заявке, по отношению к активности антитела по изобретению, означает способность в значительной степени противодействовать, препятствовать, предотвращать, ограничивать, замедлять, прерывать, уничтожать, прекращать, уменьшать или обращать, например, развитие или тяжесть того, что ингибируют, включая, но не ограничиваясь вышеприведенными, биологическую активность (например, активность IL-17) или свойство, заболевание или состояние. Ингибирование или нейтрализация активности IL-17 в результате связывания антитела по изобретению с IL-17 составляет предпочтительно по крайней мере приблизительно 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95% или выше.

Термин "пациент" в данной заявке относится к млекопитающему, включая, но не ограничиваясь приведенными, мышей, обезьян, людей, млекопитающих сельскохозяйственных животных, млекопитающих спортивных животных и млекопитающих комнатных животных; предпочтительно термин относится к людям. В определенном из вариантов осуществления пациент, предпочтительно млекопитающее, предпочтительно человек, дополнительно характеризуется заболеванием, или расстройством, или состоянием, опосредованными IL-17A, которые могут быть улучшены путем уменьшения биоактивности IL-17.

Термин "вектор" включает молекулу нуклеиновой кислоты, способную транспортировать другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана, включая плазмиды и вирусные векторы, но не ограничиваясь ими. Определенные векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую они введены, в то время как остальные векторы могут быть интегрированы в геном клетки-хозяина и, таким образом, реплицированы наряду с геномом-хозяином. Более того, определенные векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы имеют в данной

заявке название "векторы рекомбинантной экспрессии" (или, упрощенно, "векторы экспрессии"), а иллюстративные векторы хорошо известны из уровня техники.

Как используется в данной заявке, выражения "клетка", "клетка-хозяин", "линия клеток" и "клеточная культура", "клеточная линия как производитель" используются как взаимозаменяемые и включают индивидуальную клетку или клеточную культуру, являющиеся реципиентом любого выделенного полинуклеотида по изобретению или любого рекомбинантного вектора (любых рекомбинантных векторов), которые содержат последовательность, кодирующую HCVR, LCVR или моноклональное антитело по изобретению. Клетки-хозяева включают потомство индивидуальной клетки-хозяина, и потомство может не обязательно быть полностью идентичным (по морфологии или полному ДНК комплементу) оригинальной родительской клетке из-за природных, случайных или преднамеренных мутаций и/или изменений. Клетка-хозяин включает клетки, трансформированные, трансдуцированные или инфицированные рекомбинантным вектором, или моноклональное антитело, которое экспрессирует полинуклеотид по изобретению или его легкую или тяжелую цепь. Клетка-хозяин, которая содержит рекомбинантный вектор по изобретению (как стабильно включенный в хромосом-хозяин, так и не включенный), также может называться "рекомбинантной клеткой-хозяином". Предпочтительными клетками-хозяевами для использования в изобретении являются CHO клетки (например, ATCC CRL-9096), NS0 клетки, SP2/0 клетки, COS клетки (ATCC, например, CRL-1650, CRL-1651) и HeLa (ATCC CCL-2). Дополнительные клетки-хозяева для использования в изобретении включают растительные клетки, дрожжевые клетки, другие клетки млекопитающих и прокариотные клетки.

Термин "опосредуемое IL-17A заболевание или нарушение" включает в себя заболевание или нарушение, связанное с аномальными уровнями IL-17 в организме или тканях. Данное заболевание или нарушение может быть как инфекционного или воспалительного характера, так и аутоиммунного, и может быть выбрано из ревматоидного артрита, остеоартрита, ювенильного хронического артрита, септического артрита, артрита Лайма, псориатического артрита, реактивного артрита, спондилоартропатии, системной красной волчанки, болезни Крона, язвенного колита, воспалительного заболевания кишечника, инсулинзависимого сахарного диабета, тиреоидита, астмы, аллергических заболеваний, псориаза, дерматита, склеродермии, реакции "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата органа, острого или хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, саркоидоза, атеросклероза, диссеминированного внутрисосудистого свертывания, болезни Кавасаки, болезни Грэйвса, нефротического синдрома, синдрома хронической усталости, гранулематоза Вегенера, пурпуры Шенлейна-Геноха, микроскопического васкулита почек, хронического активного гепатита, увеита, септического шока, синдрома токсического шока, септического синдрома, кахексии, инфекционных заболеваний, паразитарных заболеваний, синдрома приобретенного иммунодефицита, острого поперечного миелита, хореи Гентингтона, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, инсульта, первичного билиарного цирроза, гемолитической анемии, злокачественных опухолей, сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, болезни Аддисона, спорадического полигландулярного дефицита типа I и полигландулярного дефицита типа II, синдрома Шмидта, взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома, алопеции, очаговой алопеции, серонегативной артропатии, артропатии, болезни Рейтера, псориатической артропатии, связанной с язвенным колитом артропатии, энтеропатического синовита, связанной с хламидиями, иерсиниями и сальмонеллами артропатии, спондилоартропатии, атероматозного заболевания/артериосклероза, атопической аллергии, аутоиммунного буллезного заболевания, пемфигуса обыкновенного, листовидного пемфигуса, пемфигоида, болезни линейных IgA, аутоиммунной гемолитической анемии, Кумбс-положительной гемолитической анемии, приобретенной пернициозной анемии, ювенильной пернициозной анемии, миалгического энцефалита/синдрома хронической усталости, хронического кожно-слизистого кандидоза, гигантоклеточного артериита, первичного склерозирующего гепатита, криптогенного аутоиммунного гепатита, синдрома приобретенного иммунодефицита, связанных с приобретенным иммунодефицитом заболеваний, гепатита В, гепатита С, переменного неклассифицируемого иммунодефицита (переменной неклассифицируемой гипогаммаглобулинемии), кардиомиопатии с дилатацией, женского бесплодия, недостаточности яичников, преждевременного угасания функции яичников, фиброзного заболевания легких, криптогенного фиброзного альвеолита, поствоспалительного интерстициального заболевания легких, интерстициального пневмонита, связанного с болезнью соединительной ткани интерстициального заболевания легких, связанного со смешанной болезнью соединительной ткани заболевания легких, связанного с системной склеродермией заболевания легких, связанного с ревматоидным артритом интерстициального заболевания легких, связанного с системной красной волчанкой заболевания легких, связанного с дерматомиозитом/полимиозитом заболевания легких, связанного с болезнью Шегрена заболевания легких, связанного с анкилозирующим спондилитом заболевания легких, васкулитного диффузного заболевания легких, связанного с гемосидерозом заболевания легких, индуцированного лекарственным средством интерстициального заболевания легких, фиброза, связанного с радиацией фиброза, облитерирующего бронхиолита, хронической эозинофильной пневмонии, заболевания легких с инфильтрацией лимфоцитов, постинфекционного интерстициального заболевания легких, подагрического артрита, аутоиммунного гепатита, аутоиммунного гепатита I типа (классического аутоиммунного или люпоидного гепатита), аутоиммунного гепатита II типа (гепатита, связанного с анти-

телом против LKM), опосредуемой аутоиммунным заболеванием гипогликемии, устойчивости к инсулину типа В с акантокератодермией, гипопаратиреоза, острого иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, остеоартроза, первичного склерозирующего холангита, псориаза I типа, псориаза II типа, идиопатической лейкопении, аутоиммунной нейтропении, NOS-болезни почек, гломерулонефрита, микроскопического васкулита почек, болезни Лайма, дискоидной красной волчанки, идиопатического или NOS-мужского бесплодия, аутоиммунитета к сперматозоидам, рассеянного склероза (все подтипы), симпатической офтальмии, легочной гипертензии, вторичной для болезни соединительной ткани, синдрома Гудпасчера, легочного проявления узелкового полиартериита, острой ревматической атаки, ревматоидного спондилита, болезни Стилла, системной склеродермии, синдрома Шенгрена, болезни/артериита Такаэсу, аутоиммунной тромбоцитопении, идиопатической тромбоцитопении, аутоиммунного заболевания щитовидной железы, гипертиреозидизма, зобного аутоиммунного гипотиреоза (болезнь Хашимото), атрофического аутоиммунного гипотиреоза, первичной микседемы, факогенного увеита, первичного васкулита, витилиго, острого заболевания печени, хронического заболевания печени, алкогольного цирроза, индуцированного алкоголем повреждения печени, холестаза, идиосинкразического заболевания печени, индуцированного лекарственным средством гепатита, неалкогольного стеатогепатита, аллергии и астмы, стрептококковой инфекции группы В (GBS), психических расстройств (включая депрессию и шизофрению), опосредуемых типом Th2 и типом Th1 заболеваний, острой и хронической боли (различные формы боли), и злокачественных опухолей, таких как рак легкого, молочной железы, желудка, мочевого пузыря, толстого кишечника, поджелудочной железы, яичника, предстательной железы и прямой кишки и гемопозитические злокачественные опухоли (лейкоз и лимфома), абеталипопротеинемии, акроцианоза, острых и хронических паразитарных и инфекционных процессов, острого лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого миелоидного лейкоза, острой или хронической бактериальной инфекции, острого панкреатита, острой почечной недостаточности, аденокарцином, эктопической систолы предсердий, СПИД-дементного комплекса, индуцированного алкоголем гепатита, аллергического конъюнктивита, аллергического контактного дерматита, аллергического ринита, отторжения аллотрансплантата, дефицита альфа-1-антитрипсина, бокового амиотрофического склероза, анемии, стенокардии, дегенерации клеток передних рогов спинного мозга, терапии против CD3, антифосфолипидного синдрома, реакций гиперчувствительности против рецепторов, аортальных и периферических аневризм, расслоения аорты, артериальной гипертензии, артериосклероза, артериовенозного свища, атаксии, фибрилляции предсердий (постоянной или пароксизмальной), трепетания предсердий, атриовентрикулярной блокады, В-клеточной лимфомы, отторжения трансплантата кости, отторжения трансплантата костного мозга (ВМТ), блокады пучка Гиса, лимфомы Беркитта, ожогов, аритмий сердца, синдрома оглушения сердца, опухолей сердца, кардиомиопатии, воспалительных ответов на искусственное кровообращение, отторжения трансплантата хряща, дегенерации коры головного мозга, нарушений мозжечка, хаотической или многоочаговой тахикардии предсердий, связанных с химиотерапией нарушений, хронического миелоцитарного лейкоза (СМЛ), хронического алкоголизма, хронических воспалительных патологий, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), хронического обструктивного заболевания легких, хронической интоксикации салицилатами, карциномы ободочной и прямой кишки, застойной сердечной недостаточности, конъюнктивита, контактного дерматита, легочного сердца, болезни коронарных артерий, болезни Крейтцфельда-Якоба, культурально-негативного сепсиса, кистозного фиброза, связанных с цитокиновой терапией нарушений, деменции боксеров, демиелинизирующих заболеваний, геморрагической лихорадки денге, дерматита, дерматологических состояний, диабета, сахарного диабета, диабетического атеросклеротического заболевания, диффузного заболевания с тельцами Леви, застойной кардиомиопатии с дилатацией, нарушений базальных ганглиев, синдрома Дауна в среднем возрасте, двигательных нарушений, индуцированных лекарственным средством, которое блокирует дофаминовые рецепторы ЦНС, чувствительности к лекарственным средствам, экземы, энцефаломиелита, эндокардита, эндокринопатии, эпиглоттита, инфекции вирусом Эпштейна-Барр, эритромегалгии, экстрапирамидальных и мозжечковых нарушений, семейного гематофагоцитарного лимфогистиоцитоза, отторжения имплантата эмбрионального тимуса, наследственной атаксии Фридрейха, функциональных нарушений периферических артерий, грибкового сепсиса, газовой гангрены, язвы желудка, гломерулонефрита, отторжения трансплантата любого органа или ткани, грамотрицательного сепсиса, грамположительного сепсиса, гранулем вследствие внутриклеточных организмов, волосатоклеточного лейкоза, болезни Галлервордена-Шпатца, тиреоидита Хашимото, сенной лихорадки, отторжения трансплантата сердца, гемахроматоза, гемодиализа, гемолитического уремического синдрома/тромболитической тромбоцитопенической пурпурой, кровопотери, гепатита (А), аритмий пучка Гиса, ВИЧ-инфекции/ВИЧ-невропатии, болезни Ходжкина, гиперкинетических двигательных нарушений, реакций гиперчувствительности, связанного с гиперчувствительностью пневмонита, гипертензии, гипокинетических двигательных нарушений, обследования гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, идиопатической болезни Аддисона, идиопатического фиброза легких, опосредуемой антителами цитотоксичности, астении, младенческой спинальной атрофии, воспаления аорты, вируса гриппа а, облучения ионизирующей радиацией, иридоциклита/увеита/оптического неврита, повреждения при ишемии-реперфузии, ишемического инсульта, ювенильного ревматоидного

артрита, ювенильной спинальной мышечной атрофии, саркомы Капоши, отторжения трансплантата почки, легионеллеза, лейшманиоза, лепры, повреждений кортикоспинальной системы, жирового отека, отторжения трансплантата печени, лимфатического отека, малярии, злокачественной лимфомы, злокачественного гистиоцитоза, злокачественной меланомы, менингита, менингококкемии, метаболических/идиопатических заболеваний, мигрени, митохондриального полисистемного нарушения, смешанной болезни соединительной ткани, моноклональной гаммапатии, множественной миеломы, полисистемной дегенерации (Менцеля, Дежерина-Тома, Шая-Дрейджера и Мачадо-Джозефа), миастении, внутриклеточных *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis*, миелодиспластического синдрома, инфаркта миокарда, ишемических нарушений миокарда, карциномы носоглотки, хронического заболевания легких новорожденных, нефрита, нефроза, нейродегенеративных заболеваний, нейрогенных мышечных атрофий I, нейтропенической лихорадки, неходжкинских лимфом, окклюзии брюшного отдела аорты и ее ветвей, окклюзионных нарушений артерий, терапии ОКТЗ®, орхита/эпидидимита, орхита/возвратных процедур после вазэктомии, органомегалии, остеопороза, отторжения трансплантата поджелудочной железы, карциномы поджелудочной железы, паранеопластического синдрома/гиперкальцемии при злокачественной опухоли, отторжения трансплантата паразитовидной железы, воспалительного заболевания органов таза, круглогодичного ринита, заболевания перикарда, периферического артериосклеротического заболевания, периферических сосудистых нарушений, перитонита, пернициозной анемии, пневмонии *Pneumocystis carinii*, пневмонии, синдрома POEMS (полиневропатия, органомегалия, эндокринопатия, моноклональная гаммапатия и синдром кожных изменений), постперфузионного синдрома, синдрома после искусственного кровообращения, посткардиотомного синдрома после инфаркта миокарда, преэклампсии, прогрессирующего супрануклеарного паралича, первичной гипертензии легких, лучевой терапии, феномена и болезни Рейно, болезни Рейно, болезни Рефсума, регулярной тахикардии с узким комплексом QRS, вазоренальной гипертензии, реперфузионного повреждения, рестриктивной кардиомиопатии, сарком, склеродермии, сенильной хорей, сенильной деменции с тельцами Леви, серонегативных артропатий, шока, серповидноклеточной анемии, отторжения аллотрансплантата кожи, синдрома кожных изменений, отторжения трансплантата тонкого кишечника, солидных опухолей, специфических аритмий, спинальной атаксии, спиноможечковых дегенераций, стрептококкового миозита, структурных повреждений мозжечка, подострого склерозирующего панэнцефалита, обмороков, сифилиса сердечно-сосудистой системы, системной анафилаксии, синдрома системного воспалительного ответа, ювенильного ревматоидного артрита с системным началом, Т-клеточного или FAB ALL, телеангиэктазии, облитерирующего тромбангита, тромбоцитопении, токсичности, трансплантации, травмы/кровопотери, реакций гиперчувствительности типа III, гиперчувствительности типа IV, нестабильной стенокардии, уремии, уросепсиса, крапивницы, заболеваний клапанов сердца, варикоза вен, васкулита, заболеваний вен, венозного тромбоза, фибрилляции желудочков, вирусных и грибковых инфекций, энцефалита с высоким риском смертельного исхода/асептического менингита, гемофагоцитарного синдрома с высоким риском смертельного исхода, синдрома Вернике-Корсакова, болезни Вилсона, отторжения ксенотрансплантата любого органа или ткани, острого коронарного синдрома, острого идиопатического полиневрита, острой воспалительной демиелинизирующей полирадикулоневропатии, острой ишемии, болезни Стилла в зрелых, очаговой алопеции, анафилаксии, синдрома антифосфолипидных антител, апластической анемии, артериосклероза, атопической экземы, атопического дерматита, аутоиммунного дерматита, аутоиммунного нарушения, связанного со стрептококковой инфекцией, аутоиммунной энтеропатии, аутоиммунной потери слуха, аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома, аутоиммунного миокардита, аутоиммунного преждевременного угасания функции яичников, блефарита, бронхоэктазов, буллезного пемфигоида, сердечно-сосудистого заболевания, катастрофического антифосфолипидного синдрома, глютеиновой болезни, шейного спондилеза, хронической ишемии, рубцового пемфигоида, клинически изолированного синдрома (cis) с риском рассеянного склероза, конъюнктивита, психиатрического нарушения с началом в детском возрасте, хронического обструктивного заболевания легких, дакриоцистита, дерматомиозита, диабетической ретинопатии, сахарного диабета, грыжи межпозвоночного диска, пролапса межпозвоночного диска, индуцированной лекарственным средством иммунной гемолитической анемии, эндокардита, эндометриоза, эндофтальмита, эписклерита, полиформной эритемы, тяжелой полиформной эритемы, гестационного пемфигоида, синдрома Гийена-Барре, сенной лихорадки, синдрома Хьюза, идиопатической болезни Паркинсона, идиопатической интерстициальной пневмонии, опосредуемой IgE аллергии, иммунной гемолитической анемии, миозита с тельцами включения, инфекционного воспалительного заболевания глаз, воспалительного демиелинизирующего заболевания, воспалительного заболевания сердца, воспалительного заболевания почек, идиопатического пневмосклероза/идиопатического легочного фиброза, ирита, кератита, сухого кератоконъюнктивита, болезни Куссмауля или болезни Куссмауля-Мейера, паралича Ландри, гистиоцитоза клеток Лангерганса, синдрома мраморной кожи, дегенерации желтого пятна, микроскопического полиангиита, болезни Бехтерева, нарушений двигательных нейронов, пемфигоида слизистых оболочек, полиорганной недостаточности, миастении, миелодиспластического синдрома, миокардита, нарушений корешков нервов, невропатии, не-А не-В гепатита, оптического неврита, остеолитизиса, рака яичника, олигоартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, окклюзионного заболевания периферических артерий, заболевания периферических сосудов, заболева-

ния периферических артерий (PAD), флебита, узелкового полиартериита (или нодозного полиартериита), полихондрита, ревматической полимиалгии, полиоза, полиартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, синдрома полиэндокринной недостаточности, полимиозита, ревматической полимиалгии (PMR), синдрома после искусственного кровообращения, первичного паркинсонизма, рака предстательной железы и прямой кишки и гемопозитических злокачественных опухолей (лейкоз и лимфому), простатита, истинной эритроцитарной аплазии, первичной недостаточности надпочечников, рецидивирующего оптического нейромиелиита, рестеноза, ревматической болезни сердца, SAPHO (синовит, акне, пустулез, гиперостоз и остеоит), склеродермии, вторичного амилоидоза, шокового легкого, склерита, ишиаса, вторичной недостаточности надпочечников, связанного с кремнийорганическими соединениями заболевания соединительных тканей, дерматоза Снеддона-Уилкинсона, анкилозирующего спондилита, синдрома Стивенса-Джонсона, синдрома системного воспалительного ответа, височного артериита, токсоплазменного ретинита, токсического эпидермального некролиза, поперечного миелита, TRAPS (связанный с рецептором фактора некроза опухоли периодический синдром), аллергической реакции I типа, диабета типа II, крапивницы, обычной интерстициальной пневмонии, васкулита, весеннего конъюнктивита, вирусного ретинита, синдрома Фогта-Коянаги-Харада (синдром VKH), влажной дегенерации желтого пятна, заживления ран и связанной с иерсиниями и сальмонеллами артропатии.

Подробное описание антител.

Согласно настоящему изобретению, предложены антитела или их фрагменты, специфически связывающиеся с IL-17A, при этом вариабельный домен тяжелой цепи ( $V_H$ ) антитела содержит 3 гипервариабельных участка HCDR1, HCDR2 и HCDR3:

гипервариабельный участок HCDR1 включает последовательность SEQ NO: 1;

гипервариабельный участок HCDR2 включает SEQ ID NO: 2, и

гипервариабельный участок HCDR3 включает SEQ ID NO: 3, и

3 гипервариабельных участка LCDR1, LCDR2 и LCDR3:

гипервариабельный участок LCDR1 включает SEQ ID NO: 4,

гипервариабельный участок LCDR2 включает SEQ ID NO: 5, и

гипервариабельный участок LCDR3 включает SEQ ID NO: 6 в вариабельных областях легких цепей

( $V_L$ ).

В предпочтительных вариантах реализации изобретения антитело представляет собой выделенное моноклональное антитело или его фрагмент, содержащий вариабельные домены тяжелой цепи  $V_H$  и легкой цепи  $V_L$ , где указанное антитело или фрагмент содержит

HCDR1, включающий последовательность F-T-F-S-N-Y-A-M-S (SEQ ID NO: 7);

HCDR2, включающий последовательность R-I-E-G-G-I-S-S-T-Y (SEQ ID NO: 8);

HCDR3, включающий последовательность C-A-V-N-Y-Y-G-M-Y-Y (SEQ ID NO: 9);

а вариабельная область легкой цепи  $V_L$  содержит

LCDR1, включающий последовательность T-G-T-S-E-D-V-G-F-G-N-Y (SEQ ID NO: 10);

LCDR2, включающий последовательность R-V-N-T-R-P-S (SEQ ID NO: 11);

LCDR3, включающий последовательность C-S-S-Y-K-A-G-G-T-Y (SEQ ID NO: 12).

Еще в одном предпочтительном варианте реализации изобретения антитело представляет собой выделенное моноклональное антитело, специфически связывающееся с IL-17A человека, или его фрагмент, содержащий вариабельные домены тяжелой цепи ( $V_H$ ) и легкой цепи ( $V_L$ ), где указанное антитело или его активный фрагмент содержит по меньшей мере один вариабельный домен, включающий:

а) вариабельный домен тяжелой цепи ( $V_H$ ) антитела, который включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13,

б) вариабельный домен легкой цепи ( $V_L$ ) антитела, который включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

Также антитело может содержать аминокислотную последовательность тяжелой цепи, идентичную SEQ ID NO: 15. Еще в одном варианте реализации антитело содержит легкую цепь с аминокислотной последовательностью, идентичной SEQ ID NO: 16.

Также антитела согласно настоящему изобретению могут содержать дополнительные мутации M252Y/S254T/T256E, N434W, N434A, N434F, H433K/N434F/Y436H, H433K/N434F/Y436H+M252Y/S254T/T256E, T307A/E380A/N434A, T250Q/M428L. Указанные замены не приводят к потере способности антитела связывать IL-17A, но могут приводить к снижению ADCC (антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности) или увеличению аффинности или других биологических свойств антител.

Антитела согласно настоящему изобретению обладают улучшенными биологическими свойствами, в частности лучшей ингибирующей способностью ( $IC_{50}$ ) в отношении IL-17A и повышенной агрегационной стабильностью.

Также согласно изобретению предложена конструкция ДНК, кодирующая описанные антитела, а также экспрессионный вектор, содержащий указанную конструкцию ДНК, для получения антител согласно изобретению.

Кроме того, предложена клеточная линия, содержащая в клетках экспрессионный вектор с ДНК,

описанной выше, которая может быть использована в качестве продуцента антитела согласно данному изобретению.

#### **Фармацевтические композиции**

Антитело по изобретению может быть включено в фармацевтическую композицию, пригодную для введения пациенту (см., пример 14). Антитела по изобретению могут быть введены отдельно или в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем и/или наполнителем в однократных или многократных дозах. Фармацевтические композиции для введения разработаны таким образом, чтобы соответствовать выбранному режиму введения, а фармацевтически приемлемые разбавители, носители и/или наполнители, такие как диспергирующие агенты, буфера, поверхностно-активные вещества, консерванты, солюбилизирующие агенты, изотонические агенты, стабилизаторы и т.п. использованы должным образом (см. пример 14). Указанные композиции разработаны в соответствии с традиционными методами, приведенными в, например, Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA 1995, где описаны различные методы получения композиций, в общем известных специалистам.

Фармацевтическая композиция, содержащая анти-IL-17 моноклональное антитело по изобретению, может быть введена пациенту, имеющему риск развития или имеющему патологию, как описано в данной заявке, с использованием стандартных методов введения, включая пероральное, внутривенное, интраперитонеальное, подкожное, легочное, трансдермальное, внутримышечное, интраназальное, буккальное, сублингвальное или при помощи суппозиториев.

Фармацевтическая композиция по изобретению предпочтительно содержит или является "терапевтически эффективным количеством" антитела по изобретению. "Терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному при дозировках и на протяжении периодов времени, необходимого для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество антитела может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние болезни, возраст, пол и вес индивидуума, и способности антитела или части антитела вызывать желательную реакцию у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также представляет собой количество, при котором терапевтически полезный эффект антитела преобладает над токсическим или вредным эффектом. "Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному при дозировках и на протяжении периодов времени, необходимых для достижения желательного профилактического результата. Поскольку профилактическую дозу используют для индивидуумов до или на ранней стадии заболевания, то, типично, профилактически эффективное количество может быть меньшим, чем терапевтически эффективное количество.

Терапевтически эффективное или профилактически эффективное количество представляет собой, по крайней мере, минимальную дозу, но меньшую, чем токсическая доза активного агента, необходимую для обеспечения терапевтической пользы пациенту. С другой стороны, терапевтически эффективное количество антитела по изобретению представляет собой количество, которое у млекопитающих, предпочтительно людей, снижает биологическую активность IL-17, например связывание IL17R, где присутствие IL-17 вызывает или способствует нежелательным патологическим эффектам, или снижение уровня IL-17 вызывает благоприятный терапевтический эффект у млекопитающего, предпочтительно человека.

Путь введения антитела по изобретению может быть пероральным, парентеральным, путем ингаляции или местным. Предпочтительно антитела по изобретению могут быть включены в фармацевтическую композицию, пригодную для парентерального введения. Термин "парентеральный", как используется в данной заявке, включает внутривенное, внутримышечное, подкожное, ректальное, вагинальное или интраперитонеальное введение. Преимущественным является введение путем внутривенной, или интраперитонеальной, или подкожной инъекции. Подходящие носители для таких инъекций непосредственно известны из уровня техники.

Фармацевтическая композиция, как указано в соответствующих руководствах, должна быть стерильной и стабильной в условиях производства и хранения в контейнере, который обеспечивается, включая, например, герметично закрытый флакон (ампула) или шприц. Поэтому фармацевтические композиции могут быть стерильно профильтрованными после получения состава либо сделаны микробиологически пригодными иным образом. Типичная композиция для внутривенной инфузии может иметь объем в 250-1000 мл жидкости, такой как стерильный раствор Рингера, физиологический раствор, раствор декстрозы и раствор Хенка, и терапевтически эффективную дозу (например, 1-100 мг/мл или более) концентрации антитела. Доза может варьировать в зависимости от вида и тяжести заболевания. Как хорошо известно из уровня техники в области медицины, дозировки для любого из пациентов зависят от многих факторов, включая размеры пациента, площадь поверхности тела, возраст, конкретное соединение, предназначенное для введения, пол, время и путь введения, общее состояние здоровья и другие лекарства, которые вводят одновременно. Типичная доза может находиться, например, в диапазоне 0,001-1000 мкг; однако предвидятся дозы, находящиеся ниже или выше этого иллюстративного диапазона, особенно учитывая вышеуказанные факторы. Режим дозирования ежедневного парентерального введения может составлять от 0,1 мкг/кг до 100 мг/кг от общей массы тела, предпочтительно от 0,3 мкг/кг до 10 мг/кг и более предпочтительно от 1 мкг/кг до 1 мг/кг, даже более предпочтительно от 0,5 до 10 мг/кг массы тела в

день. Процесс лечения можно контролировать путем периодической оценки состояния пациента. Для повторного введения в течение нескольких дней или дольше в зависимости от состояния пациента лечение повторяют до достижения желаемого ответа или подавления симптомов болезни. Однако также могут применяться другие режимы дозирования, которые не описаны в данной заявке. Желаемая дозировка может быть введена путем однократного введения, множественных болюсных введений или путем непрерывного инфузионного введения антитела в зависимости от образца фармакокинетического распада, которого хочет достигнуть практикующий специалист.

Эти предположительные количества антитела в сильной степени зависят от решения терапевта. Ключевым фактором выбора соответствующей дозы и режима является желаемый результат. Факторы, рассматриваемые в данном контексте, включают конкретное заболевание, которое лечат, конкретное млекопитающее, которое лечат, клиническое состояние отдельного пациента, причину расстройства, место введения антитела, конкретный вид антитела, способ введения, режим введения и остальные факторы, известные практикующим специалистам-медикам.

Терапевтические агенты по изобретению могут быть заморожены либо лиофилизированы и восстановлены перед применением в подходящем стерильном носителе. Лиофилизирование и восстановление могут приводить к различным степеням потери активности антитела. Дозировки могут быть скорректированы для компенсации этой потери. В общем случае преимущественными являются значения pH фармацевтической композиции от 6 до 8.

Готовые изделия.

В другом из вариантов осуществления по изобретению обеспечивается готовое изделие, содержащее материалы, полезные для лечения или профилактики расстройств или состояний, описанных выше.

Готовое изделие содержит контейнер, содержащий фармацевтическую композицию с антителом, с обозначением и возможно инструкцию. Подходящие контейнеры включают, например, флаконы, ампулы, шприцы и аналитические пробирки. Контейнеры могут быть сделаны из ряда материалов, таких как стекло или полимерный материал. Контейнер содержит композицию согласно изобретению, которая является эффективной для лечения заболевания или нарушения, опосредованного IL-17A, и может иметь выход со стерильным доступом (например, контейнер может быть пакетом для внутривенного раствора или флаконом, имеющим пробку, проницаемую для гиподермальной иглы для инъекций). Активный агент в композиции является анти-IL-17-антителом согласно изобретению. Обозначение на контейнере и инструкция, присоединенная к нему, указывает на то, что композицию применяют для лечения выбранного заболевания. Готовое изделие может дополнительно содержать второй контейнер, содержащий фармацевтически приемлемый буфер, такой как фосфатно-буферный раствор, раствор Рингера и раствор декстрана. Он может дополнительно включать другие материалы, желательные с коммерческой и потребительской точки зрения, включая другие буферы, разбавители, фильтры, иглы, шприцы и вкладыши в упаковку с инструкциями по применению.

Следующие примеры приведены только в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения области данного изобретения.

### Примеры

Пример 1. Продукция рекомбинантных антигенов и антител в суспензионной культуре клеток млекопитающих.

Антитела и антигены продуцировали в клетках постоянной клеточной линии, полученной из клеток яичника китайского хомячка (линия CHO-K1), согласно опубликованным протоколам [Biotechnol Bioeng. 2005 Sep 20; 91(6):670-677, Liao Metal., 2004; Biotechnol Lett. 2006 Jun; 28(11):843-848; Biotechnol Bioeng. 2003 Nov 5;84(3):332-342]. Использовали клетки, конститутивно экспрессирующие ген белка EBNA1 (Epstein-Barrvirus nuclear antigen 1). Суспензионное культивирование осуществляли в колбах на орбитальном шейкере с использованием бессывороточных сред производства компании Life Technologies Corporation и согласно инструкциям производителя. Для транзientной экспрессии клетки в концентрации  $2 \times 10^6$ /мл трансфекцировали с помощью линейного полиэтиленimina (ПЭИ "MAX", компания "Polysciences"). Соотношение ДНК/ПЭИ составляло 1:3-1:10. Через 5-7 дней после трансфекции культуральную среду центрифугировали при 2000g в течение 20 мин и фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм. Целевые белки выделяли из культуральной жидкости с помощью аффинной хроматографии.

Рекомбинантный белок IL-17A, содержащий шесть аминокислот His на C-конце белка, выделили и очистили из культуральной жидкости, используя смолу Profimity IMAC Ni-charged (от компании BioRad). До очистки в культуральную жидкость добавили  $\text{NiCl}_2$  до концентрации 1 mM. Далее добавили в культуральную жидкость 5 мл смолы Profimity IMAC Ni-charged и перемешивали на качалке 1 ч при комнатной температуре. Перенесли сорбент на колонку Thermo scientific Polypropylene columns объемом 5 мл, промыли 5 колоночными объемами ФСБ, чтобы вымыть неспецифически связывающие компоненты. Связанный антиген элюировали, используя 0,3 M имидазол, pH 8, 150 mM NaCl. Далее белок перевели в ФСБ (pH 7,4) с помощью диализа, используя технологию SnakeSkin Dialysis Tubing, профильтровали (0,22 мкм), перенесли в пробирки и хранили при  $-70^\circ\text{C}$ . Чистоту полученного раствора белка оценивали с помощью SDS-гель-электрофореза (фиг. 1).

Рекомбинантный белок IL-17A-Fc из культуральной жидкости выделили и очистили, используя ко-

лонку для аффинной хроматографии протеин А. Осветленную культуральную жидкость пропускали через колонку HiTrap rProtein A Sepharose FF объемом 5 мл (GE Healthcare), которая была уравновешена фосфатно-солевым буфером (ФСБ, pH 7,4). Затем колонку промыли 5 колоночными объемами ФСБ, чтобы вымыть неспецифически связывающие компоненты. Связанный антиген элюировали, используя 0,1 М глициновый буфер pH 3. Главный протеиновый пик элюции собрали и довели его pH до нейтральности с помощью 1 М буфера Tris (pH 8). Все стадии проводили при скорости потока 110 см/ч. Далее белок перевели в ФСБ (pH 7,4) с помощью диализа, используя технологию SnakeSkin Dialysis Tubing, профильтровали (0,22 мкм), перенесли в пробирки и хранили при -70°C. Чистоту полученного раствора белка оценили с помощью SDS-гель-электрофореза (фиг. 2).

Антитела IgG1 очищали на колонке Hi Trap rProteinA FF объемом 1 мл (GE Healthcare) согласно методике, описанной выше для антигена IL-17A-Fc. Чистоту полученного раствора белка оценивали с помощью SDS-гель-электрофореза (фиг. 3).

Пример 2. Иммунизация ламы IL-17A человека и создание Fab-библиотеки фаговых антител ламы.

Животное Lama Glama последовательно иммунизировали 5 раз путем подкожного введения антигенного материала, смешанного с равным объемом полного (при первой инъекции) или неполного (при остальных инъекциях) адъюванта Фрейнда. В качестве антигена использовали смесь рекомбинантных белков (по 0,2 мг каждого из белков на 1 инъекцию), одним из которых был человеческий IL-17A (набор от R&D Systems). Вторую инъекцию (стадию иммунизации) проводили через 3 недели после первой, затем с интервалом в две недели проводили еще три иммунизации. Взятие крови (50 мл) проводили через 5 дней после каждой инъекции, начиная с третьей.

Кровь разводили в 2 раза раствором ФСБ, содержащим 1 mM ЭДТА. 35 мл разбавленного раствора крови наслаивали на среду Histopaque® - 1077 (от Sigma) с плотностью 1,077 г/мл объемом 15 мл и проводили центрифугирование в течение 20 мин при 800g. Мононуклеарные клетки (лимфоциты и моноциты) отбирали из интерфазной зоны плазма/среда Histopaque, после чего промывали раствором ФСБ, содержащим 1 mM ЭДТА.

Суммарную РНК мононуклеарных клеток ламы выделяли с помощью набора RNeasy Mini Kit согласно предлагаемому протоколу (QIAGEN). Концентрацию РНК определяли с помощью Nanovue (GE Healthcare) и проверяли качество выделенной РНК с помощью электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле.

Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием набора MMLV RT kit (от Evrogen) согласно рекомендуемому протоколу с использованием обратной транскриптазы MMuLV и рандом-гексамерных олигонуклеотидов в качестве затравки.

Продукты обратной транскрипции использовали в качестве матрицы в двухступенчатой полимеразной цепной реакции для получения генов переменных доменов, фланкированных сайтами рестрикции, с использованием набора олигонуклеотидов и протоколом авторов [J Biol Chem. 1999 Jun 25; 274(26): 18218-30; WO 2010/001251]. Далее соединение генов переменных доменов легких и тяжелых цепей в один фрагмент проводили путем последовательных реакций рестрикции, лигирования и амплификации согласно схеме, приведенной на фиг. 1. Гены тяжелых цепей соединяли с генами каппа и отдельно с генами лямбда легких цепей. При этом расчетное количество молекул матрицы во всех реакциях составляло не менее  $10^{11}$ . Полученный ДНК препарат VL-CK-VH обрабатывали рестриктазами NheI /Eco91I и лигировали в оригинальную фагмиду pH 5. Строение фагмиды показано на фиг. 2. Продукты лигирования трансформировали в электрокомпетентные клетки штамма SS320, приготовленные согласно протоколам [Methods Enzymol. 2000; 328: 333-63]. Репертуар производной каппа Fab-библиотеки составил  $5,1 \times 10^8$  и лямбда  $3,7 \times 10^8$  соответственно. Препарат фага наивных библиотек был приготовлен согласно процедуре, описанной ранее [J Mol Biol. 1991 Dec 5; 222(3): 581-97].

Пример 3. Селекция Fab-библиотек фаговых антител.

Специфичные анти-IL17A фаговые Fab-антитела выделяли из фаговой Fab-дисплейной библиотеки на рекомбинантном IL-17A человека (набор от R&D Systems), осуществляя серии циклов селекции, как описано ранее (J Biol Chem. 1999 Jun 25; 274(26): 18218-30; Nat Biotechnol. 1996 Mar; 14(3): 309-14; J Mol Biol. 1991 Dec 5; 222(3): 581-97). Для осуществления селекции методом пэннинга IL-17A человека в 50 mM карбонатном буфере (pH 9,5) адсорбировали в течение ночи при 4°C на поверхности сорбирующих пробирок HighSorb (Nunc). Пробирки промывали ФСБ (pH 7,4), затем блокировали раствором ФСБ (pH 7,4) - обезжиренное молоко (0,5% мас./об.) в течение 1 ч. Далее 2-4 мл раствора фагов в ФСБ (pH 7,4) - обезжиренное молоко (0,5% мас./об.) в концентрации  $10^{12}$  фаговых частиц на мл добавляли в пробирку с антигеном и инкубировали в течение 1 ч при перемешивании. Несвязавшиеся фаги удаляли в ходе серий циклов промывки с использованием раствора ФСБ (pH 7,4) - Твин 20 (0,1% об./об.). Количество отмывок увеличивали от первого раунда к третьему раунду 20-30-40 раз соответственно. Оставшиеся связанными фаговые частицы элюировали 100 mM раствором Gly-HCl (pH 2,5) в течение 15 мин при перемешивании, затем нейтрализовали 1 M TRIS-HCl (pH 7,6). Бактерии штамма E. coli TG1 инфицировали полученными фагами, затем фаги выделяли и использовали в следующем цикле селекции.

Пример 4. Конструирование библиотек химерных Fab-фаговых антител.

Суммарную РНК В-лимфоцитов из крови 550 человеческих доноров выделяли с помощью набора

RNeasy Mini Kit согласно предлагаемому протоколу (от QIAGEN). Концентрацию РНК определяли с помощью набора Nanovue (от GE Healthcare), и проверяли качество выделенной РНК с помощью электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием набора MMLV RT kit (от Evrogen) согласно рекомендуемому протоколу с использованием обратной транскриптазы MMLV и рандом-гексамерных олигонуклеотидов в качестве затравки.

Продукты обратной транскрипции использовали в качестве матрицы в двухступенчатой полимеразной цепной реакции для получения генов переменных доменов, фланкированных сайтами рестрикции, с использованием набора олигонуклеотидов и протоколом авторов [J Biol Chem. 1999 Jun 25; 274(26): 18218-30]. Создание химерных Fab, специфичных против IL-17A, проводили согласно технологии, описанной в международной публикации WO 93/06213, на основе оригинальной фагамиды pH5, описанной выше. Для этого соединение генов переменных доменов легких цепей доноров человека с геном переменного домена тяжелой цепи антитела A1 ламы в один фрагмент проводили путем последовательных реакций рестрикции, лигирования и амплификации согласно схеме, приведенной на фиг. 6А. Аналогично соединение гена переменного домена легкой цепи антитела клона A1 ламы с генами переменных доменов тяжелых цепей доноров человека с геном переменного домена тяжелой цепи антитела клона A1 ламы в один фрагмент проводили путем последовательных реакций рестрикции, лигирования и амплификации согласно схеме, приведенной на фиг. 6В. При этом расчетное количество молекул матрицы генов переменных доменов человека во всех реакциях составляло не менее  $10^{12}$ . Полученный ДНК препарат VL-СК-VH обрабатывали рестриктазами NheI /Eco911 и лигировали в оригинальную фагамиду pH5. Продукты лигирования трансформировали в электрокомпетентные клетки штамма SS320, приготовленные согласно протоколу [Methods Enzymol. 2000;328: 333-63]. Репертуар химерной Fab-библиотеки chA1VH/hVL на основе тяжелой цепи клона A1 и смешанных каппа и лямбда цепей человека составил  $2,8 \times 10^9$  трансформантов. Репертуар химерной Fab-библиотеки chA1VL/hVH на основе легкой цепи клона A1 и тяжелых цепей человека составил  $1,1 \times 10^{10}$ . Препараты фага химерных Fab-библиотек были приготовлены согласно процедуре, описанной ранее [J Mol Biol. 1991 Dec 5;222(3): 581-97]. Селекции полученных фаговых химерных Fab-библиотек проводили в условиях, аналогичных описанным выше (см. селекция фаговых Fab-библиотек).

После второго раунда селекции на IL-17A обе библиотеки показали значительное обогащение. Результирующие пулы клонов обогащенных химерных Fab-библиотек были использованы в качестве источника для комбинации генов переменных доменов VH и VK/VL человека, специфичных против IL-17A.

Пример 5. Конструирование библиотеки Fab-фаговых антител человека, специфичных против IL-17A.

Для создания Fab-фаговых антител человека, специфичных против IL-17A, пулы клонов из обогащенных химерных Fab-библиотек были использованы в качестве источника для комбинации генов переменных доменов VH и VK/VL человека, специфичных против IL-17A. Для этого гены легких цепей человека были амплифицированы со специфическими праймерами из обогащенной после второго раунда библиотеки chA1VH/hVL, а гены тяжелых цепей человека были амплифицированы со специфическими праймерами из обогащенной после второго раунда библиотеки chA1VL/hVH. Оба пула генов переменных доменов цепей человека были комбинированы последовательно реакцией рестрикции с рестриктазой SfiI, лигирования и амплификации, согласно схеме, приведенной на фиг. 7. Полученный ДНК препарат VL-СК-VH обрабатывали рестриктазами NheI /Eco911 и лигировали в оригинальную фагамиду pH5. Продукты лигирования трансформировали в электрокомпетентные клетки штамма SS320, приготовленные согласно протоколу [Methods Enzymol. 2000;328: 333-63]. Репертуар Fab-библиотеки на основе тяжелых и легких цепей человека составил  $8,6 \times 10^8$ . Препараты фага химерных Fab-библиотек были приготовлены согласно процедуре, описанной ранее [Mol Biol. 1991 Dec 5;222(3): 581-97].

Селекции полученных фаговых химерных Fab-библиотек проводили в условиях, аналогичных описанным выше (см. селекция фаговых Fab-библиотек).

После второго раунда селекции на IL-17A проведенный ИФА анализ препарата поликлонального фага показал значительное обогащение. Результирующий пул клонов, обогащенных Fab человека, специфичных против IL-17A, был реклонирован в экспрессионную плазмиду.

Пример 6А. Анализ специфического связывания Fab с IL-17A-Fc человека.

ИФА (ELISA) используют для измерения связывания исследуемых Fab-фрагментов с IL-17A человека. В качестве позитивного контроля использовали Fab с опубликованной последовательностью AIN457 (от Novartis). Для анализа специфического связывания лунки планшетов ELISA (от Nunc ImmunoMaxisorp) покрывали 50 мкл (0,5 мкг/мл в 1X покрывающем карбонатном буфере) IL-17A-Fc, герметично закрывали и инкубировали в течение ночи при 4°C. Все последующие этапы проводили по стандартному ИФА протоколу с использованием высокопроизводительной автоматизированной платформы на базе роботизированных систем GenetixQ-pix2xt (от Molecular Device) и Tecan Freedom EVO 200 (от Tecan). Для блокирования неспецифического связывания добавляют блокирующий буфер ВВ (200 мкл 0,5% нежирного молока в ФСБ). Планшеты инкубировали на шейкере в течение часа при комнатной

температуре. После отмывок ФСБ-Твином добавляли по 50 мкл на лунку тестируемого клеточного супернатанта, содержащего исследуемый Fab, смешанного с равным объемом ВВ. Планшеты снова инкубировали, встряхивая, один час при комнатной температуре, после чего каждую лунку планшетов пять раз промывали буфером ФСБ-Твин. После промывания добавляли (50 мкл/лунку) анти-человеческого Fab HRP-конъюгированного вторичного антитела (от Pierce-ThermoScientific) в соотношении 1:5000 в ФСБ-Твин. Планшеты встряхивали на ротационном шейкере (50 мин, комнатная температура) и промывали пять раз буфером ФСБ-Твин, как описано выше. Колориметрический сигнал развивали добавлением ТМВ (100 мкл/лунку) до насыщения (в среднем 3-5 мин), затем дальнейшее развитие останавливали добавлением стопового раствора (100 мкл/лунку, 10%-ная серная кислота). Цветовой сигнал измеряли при длине волны 450 нм, используя подходящий планшет-ридер Tecan-Sunrise (от Tecan). Степень связывания антитела была пропорциональна продуцированию цветового сигнала.

Для примера приведены результаты ИФА скрининга с одного планшета Fab-ламы после второго раунда селекции (фиг. 8). На приведенной гистограмме можно видеть ряд позитивных клонов, давших сигнал выше или ниже контрольного Fab (AIN457) (отмечен красным) или вообще не взаимодействующих с иммобилизованным антигеном (значения в интервале 0,1-0,2 отн. ед.).

Пример 6Б. Конкурентный ИФА анализ блокирования взаимодействия IL17A лиганда и IL17R рецептора.

Конкурентный ИФА (ELISA) был использован для проверки антагонистической способности отобранных ранее специфичных Fab против IL-17A-Fc человека. В качестве позитивного контроля антагониста использовали Fab с опубликованной последовательностью AIN457 (от Novartis). Рецептор IL-17RA-Fc (от R&D Systems) иммобилизовали в лунки планшетов ELISA (от Nunc Immuno Maxisorp) по 50 мкл с концентрацией 1 мкг/мл в 1X покрывающем карбонатном буфере и инкубировали в течение ночи при 4°C. Все последующие этапы проводили по стандартным ИФА протоколам с использованием высокопроизводительной автоматизированной платформы на базе роботизированных систем GenetixQ-pix2xt (от Molecular Device) и Tecan FreedomEVO 200 (от Tecan). Для блокирования неспецифического связывания добавляли блокирующий буфер ВВ (200 мкл 0,5% нежирного молока в ФСБ). Планшеты инкубировали на шейкере в течение часа при комнатной температуре.

Параллельно 50 мкл тестируемого клеточного супернатанта, содержащего исследуемый Fab, смешивали в несвязывающем 96-луночном планшете с 50 мкл IL-17A-His6-Flag с концентрацией 0,4 мкг/мл в 1% молоке на ФСБ-Твин. Инкубировали 1 ч при 37°C и шейкинге при 500 об/мин.

После отмывок от ВВ планшета, содержащего IL-17RA-Fc рецептор, туда переносили описанную выше реакционную смесь Fab и IL-17A-His6-Flag лиганда в расчете 90 мкл на лунку. Планшеты снова инкубировали, встряхивая, 45 мин при комнатной температуре, после чего каждую лунку планшетов пять раз промывали буфером ФСБ-Твин. Добавляли 50 мкл/лунку анти-FLAG мышинового M2 антитела (от Sigma) при концентрации 1 мкг/мл. Инкубировали 45 мин при комнатной температуре, после чего каждую лунку планшетов пять раз промывали буфером ФСБ-Твин. Добавляли 50 мкл/лунку антимышиного-IgG HRP-конъюгированного вторичного антитела (от Pierce-ThermoScientific) в разведении 1:5000 в ФСБ-Твин. Планшеты встряхивали на ротационном шейкере 45 мин при комнатной температуре и промывали пять раз буфером ФСБ-Твин, как описано выше. Колориметрический сигнал развивали добавлением ТМВ (100 мкл/лунку) до насыщения (в среднем 3-5 мин), затем дальнейшее развитие останавливали добавлением стопового раствора (100 мкл/лунку, 10%-ная серная кислота). Цветовой сигнал измеряли при длине волны 450 нм, используя подходящий планшет-ридер Tecan-Sunrise (от Tecan). Степень связывания антитела была пропорциональна продуцированию цветового сигнала.

Для примера приведены результаты ИФА скрининга с одного планшета Fab-ламы после второго раунда селекции (фиг. 9). Можно видеть ряд позитивных клонов, давших сигнал блокирования соизмеримый (значения в интервале 0,05-0,1 отн. ед.) с контрольным Fab (AIN457) (отмеченный красным) или не блокирующих взаимодействие IL-17A/IL-17R с сигналом на уровне контролей прямого взаимодействия лиганда и рецептора (отмечен темно-синим).

Пример 7. Сравнительный скрининг анти-IL-17A Fab кандидатов человека по  $K_{off}$ .

$K_{off}$  представляет собой скрининг анти-IL-17A Fab-кандидатов.  $K_{off}$  - скрининг производился с использованием прибора Pall Forte Bio Octet Red 96. Анти FАВСН1 биосенсоры в течение 30 мин регидратировались в рабочем буфере, содержащем 10 мМ ФСБ, рН 7.2-7.4, 0.1% Твин-20, 0,1% БСА. В исследуемые образцы супернатантов *E. coli* добавляли 10×-рабочий буфер до конечной концентрации 1×. Затем анти FАВСН1 биосенсоры погружались в супернатанты *E. coli*, содержащие Fab-фрагменты кандидатов антител, на 12 ч при 4°C. Сенсоры с иммобилизованными на поверхности Fab-фрагментами переносились в лунки с рабочим буфером, где прописывалась базовая линия (60 с). Далее сенсоры переносились в лунки с раствором аналита (IL-17A, 30 мкг/мл) для ассоциации комплекса антиген-антитело (300 с). Затем сенсоры возвращали в лунки, содержащие рабочий буфер, для последующей стадии диссоциации (300 с). После каждого эксперимента использованные сенсоры регенерировались путем трехкратного помещения их в буфер для регенерации (Gly-HCl, рН 1,7) после чего могли быть использованы в следующем эксперименте. Анализ полученных кривых проводился с помощью программного обеспечения Octet Data Analysis (версия 7.0) согласно стандартной процедуре с использованием модели взаимодейст-

вия 1:1.

Результаты  $k_{\text{off}}$ -скрининга анти-IL-17A Fab кандидатов человека представлены на фиг. 10.

Пример 8. Сканирующий мутагенез CDR переменных доменов и выбор более высокоаффинного кандидата.

Для введения мутаций в индивидуальные позиции CDR-участков кандидата была использована методика NNK кодоновой рандомизации [Appl Environ Microbiol. 2006 Feb;72(2):1 141-7; MAbs.2012 May-Jun;4(3):341-8] с помощью Q5® Site-Directed Mutagenesis Kit (от NEB) согласно протоколу, в качестве матрицы используя плазмиду A1-Fab-pLL. Продукты ПЦР после фракционировали на легкоплавкой агарозе и очищали на колонках. После реакции лигирования ДНК трансформировали в E.coli экспрессирующий штамм BL21gold (от Stratagene). Полученные индивидуальные клоны наращивали в условиях Fab-экспрессии в 96-луночных планшетах, как описано ранее. Супернатанты, содержащие мутантные Fab, анализировали в условиях ИФА, описанных ранее, с использованием высокопроизводительной автоматизированной платформы на базе роботизированных систем Genetix Q-pix2xt и Tecan Freedom EVO200. Концентрация иммобилизованного IL-17A составляла 0,2 мкг/мл. Окрашивание связанных Fab проводили с разведенным 1:5000 конъюгатом Goat anti-Human IgG (Fab')<sub>2</sub> (HRP) (от Pierce) и краской ТМБ+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> с последующим измерением оптической плотности при длине волны 450 нм.

Результаты сканирующего мутагенеза представлены в табл. 1. В таблице приведены замены в позициях CDR регионов, которые соответствуют не более чем на 30% уменьшению сигнала связывания мутантных Fab с IL-17A человека в сравнении с "дикой" последовательностью. Таким образом, эти индивидуальные мутанты или любые их комбинации являются объектом изобретения согласно данной заявке.

Таблица 1

Результаты сканирующего мутагенеза

Позиция мутации	Состав положительных ак мутантов	Позиция мутации	Состав положительных ак мутантов
<b>HCDR3</b>		<b>LCDR3</b>	
V99	R, N, A, I	A91	S
N100	E, L, M, S, T, V	S92	G, T
Y101	-	Y93	A, F, I
Y102	F, V	R94	K
G103	S	A95	S
M104	A, F, L, P, Y	G96	F
Y105	F, H, I, M, S, W	G97	H
Y106	A, I, N, R, S, V	T98	-
		Y99	I, L, W
<b>HCDR2</b>		<b>LCDR2</b>	
R50	G, I, L, M, S	R52	E, L, M
D52	D, E	V53	L, S
G53	M	N54	G
G54	L, R, V	T55	I, K, L, M, R, W
I55	L		
S57	L, R, T, W		
S58	T, Y		
T59	L, R, S, W		
Y60	T, L, K		
<b>HCDR1</b>		<b>LCDR1</b>	
N31	D, K, L, M, P, T	E27	N, R
Y32	F	D28	S, T
A33	G, M, N, S, T, V	V29	L, R
M34	I	G30	V
S35	G, N, T	F31	L, S, T, V, Y
		G32	L, V
		N33	P, R, S
		Y34	A, L, W

Таким образом, проведен скрининг аминокислотных позиций CDR регионов антител BCD085, толерантных к заменам на другие аминокислоты. В результате обнаружено, что данный набор аминокислотных замен значительно не меняют силы связывания антитела с IL-17A человека. Набор таких позиций может быть использован для оптимизации различных свойств кандидата.

Пример 9. Создание стабильной клеточной линии, продукция и очистка антитела.

Стабильная клеточная линия продуцент моноклонального антитела BCD085 была получена путем трансфекции родительской суспензионной клеточной линии CHO-S векторными конструкциями, содержащими легкие и тяжелые цепи антитела в оптимизированном соотношении. Клональные линии с высоким уровнем (более 100 мг/л) были получены с использованием роботизированной платформы ClonePix (Molecular Devices). Анализ продуктивности отобранных клонов проводился на базе автоматизированной системы Biomek FX robotics (Beckman Coulter) и аналитической системы Octet RED96 (Pall Life Sciences). Для культивирования продуцента использовали бессывороточные среды, не содержащие белков животного происхождения. Нарработку препарата BCD085 для предклинических исследований проводили в ферментере HyClone single-use bioreactor (Thermoscientific) рабочим объемом 200 л.

Фильтрацию культуральной жидкости проводили через глубинный фильтр "Zeta Plus Maximizer 4516701 60M02" с помощью перистальтического насоса. Первичную очистку антитела проводили на аффинном сорбенте с белком A MabSelect (от GE Healthcare Life Sciences). Осветленную глубинной фильтрацией культуральную жидкость наносили на сорбент, уравновешенный буфером, содержащим 50 mM HCl-Трис (pH 7.5) и 150 mM NaCl. После нанесения сорбент промывали буфером уравновешивания с последующей промывкой HCl-Трис с низкой кондуктивностью. Элюировали белок буфером Gly-HCl (pH 3.5). Полученный элюат выдерживали в кислом pH в течение 30 мин для вирусной инактивации, а затем нейтрализовали 1 M раствором Трис-осн. до значения pH 6.8. Белковый раствор после доведения pH фильтровали при помощи фильтрующих систем STERICUP с мембраной MilliporeExpressPlus® (от PVDF) с диаметром пор 0,22 мкм. Для финальной очистки от ДНК, белков продуцента, а также отщепленного лиганда аффинного сорбента, полученный раствор белка пропускали через подготовленный сорбент Q Sepharose FF (от GE HealthCare), pH 7.0, при низком значении кондуктивности (<2 мС/см<sup>2</sup>). Очищенный белок подвергали противовирусной фильтрации с использованием фильтра для вирусной фильтрации "UltiporeVF filter" (от PALL), концентрированию и диафильтрации против конечного буфера, содержащего His/HisHCl (pH 6.0-6.5), Твин-80 и трегалозу. Концентрация полученного белка составляла 50 мг/мл и более. Результат очистки полученного раствора белка оценили с помощью SDS-гель-электрофореза (фиг. 11).

Кроме того, оценивали агрегационный состав препарата ВЭЖХ гель-фильтрацией.

Хроматографию проводили на системе ВЭЖХ Agilent 1100 на колонке Tosoh TSK-Gel G3000SWXL 7.8 мм×30 см, кат. № 08541 с предколонкой Tosoh TSKgel Guard SWXL 6.0 мм×4.0 см, с диаметром частиц 7 мкм, кат. № 08543. Элюирование проводилось в изократическом режиме подвижной фазой: 50 mM NaФб, 0,3 M NaCl, pH 7.0, на скорости потока 0,5 мл/мин. Детектирование проводилось на длинах волн 214 и 280 нм. Образцы антител были разведены буфером ФСБ, pH 7.5, до концентрации ~1 мг/мл. Объем вводимой пробы - 10 мкл. Предварительно была хроматографирована калибровочная смесь Gel filtration standard (от Bio-Rad), кат. № 151-1901.

Результаты гель-фильтрационного анализа приведены на фиг. 13. Содержание агрегатов в субстанции BCD085 составило 0,312%.

Пример 10. Клеточный тест блокирования функции IL-17A индуцировать продукцию IL-6.

Способность IL-17 индуцировать производство IL-6 человеческими клетками линии HT1080 (ATCC:CCL-121) использовали для анализа нейтрализующей активности BCD085 в отношении человеческого рекомбинантного IL-17. Клетки выращивали в питательной среде ДМЕМ с добавлением 10%-ной инактивированной эмбриональной сыворотки, гентамицина и глутамина. По  $5 \times 10^4$  клеток на лунку высевали в 96-луночные плоскодонные планшеты для культуры клеток. Оставляли клетки прикрепиться в течение 5 ч. Смесь рекомбинантного 40 нг/мл IL-17 и 20 нг/мл ФНО- $\alpha$  инкубировали с разведениями антитела BCD085 в течение часа при 37°C. Затем смесь цитокина и антитела добавляли к клеткам и оставляли на ночь. Производство IL-6 в культуре клеток HT1080 было пропорционально добавленному количеству IL-17. Количество высвобожденного IL-6 в клеточных супернатантах определяли методом ELISA с помощью системы "DuoSet ELISA developmentssystemhuman IL6" (от RD System, Cat. № DY206). Результаты анализа антагонистических свойств кандидата BCD085 приведены на фиг. 13 в сравнении с AIN457 (анти-IL-17A антитело от Novartis). Средняя величина IC<sub>50</sub> для этого кандидата при серии опытов составляет  $40 \pm 15$  пМ.

Пример 11. Определение аффинности BCD085 к IL-17A из различных видов организмов.

Анализ аффинности связывания BCD085 к IL-17A человека, макаки и крысы производился на приборе OctetRed 96 (от ForteBio). BCD085 был неспецифически иммобилизован на поверхности аминореактивных сенсоров второго поколения (от AR2G) по стандартному протоколу согласно инструкции производителя, для подготовки и иммобилизации AR2G сенсоров. Анализ был произведен при 30°C с использованием ФСБ, содержащим 0,1% Твин-20 и 0,1% БСА в качестве рабочего буфера.

Титрование IL-17A человека, макаки и крысы производили с использованием рабочего буфера от концентрации 126 до 2 нМ с шагом 2.

Кривые связывания с вычетом референсного сигнала анализировали с помощью программного обеспечения Octet Data Analysis (версия 7.0) согласно стандартной процедуре с использованием модели взаимодействия 1:1. Результаты приведены на фиг. 14А и 14В.

BCD085 связывается с рекомбинантным препаратом IL-17A человека с пикомолярной аффинностью, что в тысячу раз сильнее по сравнению с аффинностью к IL-17A макаки, имеющей наномолярную величину. Кроме того, кандидат не взаимодействует с IL-17A крысы (кривые не приведены).

Пример 12. Определение агрегационной стабильности BCD085 в условиях термостресса.

Препарат антитела BCD085 с концентрацией 9 мг/мл в ФСБ буфере прогревался в течении 6 ч при температуре 50°C. Определение агрегации после термостресса проводили методом гель-фильтрационной высокоэффективной хроматографии. Хроматографию проводили на системе ВЭЖХ (Agilent) 1100 на колонке Tosoh TSK-Gel G3000SWXL, 7.8 мм×30 см, кат. № 08541 с предколонкой Tosoh TSKgel Guard SWXL, 6.0 мм×4.0 см, с диаметром частиц 7 мкм, кат. № 08543. Элюирование проводилось в изократиче-

ском режиме подвижной фазой: 50 мМ NaФб, 0,3 М NaCl, pH 7.0 на скорости потока 0,5 мл/мин. Детектирование проводилось на длинах волн 214 и 280 нм. Образцы антител были разведены буфером ФСБ, pH 7.5, до концентрации ~1 мг/мл. Объем вводимой пробы - 10 мкл. Предварительно была хроматографирована калибровочная смесь Gel filtration standard (от Bio-Rad), кат. № 151-1901.

Представленные на фиг. 13 результаты показывают, что антитело BCD085 стабильно в условиях термостресса, где образование агрегатов составило менее 5%.

Пример 13. Исследование фармакокинетики моноклонального антитела BCD085 против IL-17A при однократном подкожном введении обезьянам.

Моноклональное антитело BCD085 против IL-17A вводили однократно подкожно обезьянам макакам резус (*Macaca mulatta*) в дозе 40 мг/кг. Через определенные промежутки времени после введения (через 0,5, 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 168, 264, 336, 432, 504, 672, 840 и 1008 ч) у животных отбирали кровь и получали сыворотку стандартным методом. Уровень антитела BCD085 в сыворотке крови оценивался с помощью метода твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА), на иммобилизованном IL-17A человека (от R&D Systems), где связанное антитело детектировалось с использованием поликлональных антител козы против Fc-фрагмента IgG антител человека (от Pierce-ThermoScientific).

Результаты определения концентрации моноклонального антитела против IL-17A в сыворотках после однократного подкожного введения обезьянам представлены на фиг. 16. Из результатов следует, что BCD085 обладает значительным пролонгированным эффектом или длительным временем циркуляции в крови. При однократном подкожном введении препарата максимальное содержание моноклонального антитела против IL-17A в крови животных наблюдалось через 72-168 ч, и этот уровень сохранялся в течение 400 ч и только затем происходило очень медленное снижение, так, что даже после 1000 ч концентрация BCD085 была значительно выше контрольного уровня. Расчетные фармакокинетические параметры для BCD085 при однократном подкожном введении обезьянам приведены в табл. 2. Из представленных результатов видно, что величина клиренса (Cl) заявляемого моноклонального антитела против IL-17A составляла  $0.25 \pm 0.08$  мл/ч/кг, что обеспечивало его длительную циркуляцию в крови (более 42 дней). Время пребывания в организме и период полувыведения моноклонального антитела против IL-17A составляли в среднем  $946 \pm 374$  ч и  $632 \pm 253$  ч соответственно.

Таблица 2

Основные фармакокинетические параметры для заявляемого моноклонального антител против IL-17 при однократном подкожном введении обезьянам в дозе 40 мг/кг

Сmax (мкг/мл)	Tmax (час)	AUC <sub>(0-1008)</sub> (чхмкг)/мл	Cl (мл/час/кг)	MRT (час)	T1/2 (час)	Ke1 (час <sup>-1</sup> )
353±164 (344-840)	144±48 (72-168)	146 221±19 439 (117 938- 162 285)	0.25±0.08 (0,14- 0,34)	946±374 (528- 1274)	632±253 (344- 840)	0,00126±0,00056 (0.0008-0,002)

Пример 14. Получение фармацевтической композиции, содержащей антитела согласно изобретению.

Концентрация антитела к IL-17 (BCD085)	10-50 мг/мл
Буфер цитратный 10мМ	до pH 6,0-7,0
Хлорид натрия	50-150 мМ
Сахароза, трегалоза	0,3-0,5%
Вода для инъекций	до 1 мл.

Пример 15. Набор, содержащий фармацевтическую композицию с антителами.

Для выпуска наборов с лекарственной формой, содержащей композицию с антителами против IL-17, фармацевтическую композицию, полученную согласно примеру 14, запаивают в ампулы или шприцы объемом 1 мл в стерильных условиях, маркируют и упаковывают в контейнеры из пластикового или картонного материала.

Также в контейнер с ампулой вкладывают инструкцию по применению.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное моноклональное антитело, специфически связывающееся с IL-17A человека, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее:

а) переменный домен тяжелой цепи ( $V_H$ ), который содержит 3 гипервариабельных участка HCDR1, HCDR2 и HCDR3, где

HCDR1 включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1:

F-T-F-S-X31-X32-X33-X34-X35 (согласно номенклатуре Kabat), где

X31 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей N, D, K, L, P или T;

X32 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей Y и F;

X33 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей A, G, N, S, T или V;

X34 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей M и I;  
 X35 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей S, G, N или T;  
 HCDR2 включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2:

X50-I-X52-X52a-X52b-X53-G-X55-X56-X57-X58, где

X50 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей R, G, I, L, M и S;

X52 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей D и E;

X52a представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей G и M;

X52b представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей G, L, R и V;

X53 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей I и L;

X55 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей S, T, L, R и W;

X56 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей S, T, S и Y;

X57 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей S, T, L, R и W;

X58 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей Y, T, L и K;

HCDR3 включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3:

C-A-X94-X95-Y-X97-X98-X99-X100-X100a, где

X94 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей R, V, A и I;

X95 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей N, E, L, S, T и V;

X97 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей Y, F и V;

X98 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей G и S;

X99 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей M, A, F, L, P и Y;

X100 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей Y, F, H, I, S и W;

X100a представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей Y, A, I, N, R, S и V;

б) вариабельный домен легкой цепи ( $V_L$ ), который содержит 3 гипервариабельных участка LCDR1, LCDR2 и LCDR3, где

LCDR1 включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4:

T-G-T-S-X28-X29-X30-X31-X32-X33-X34-X35, где

X28 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей E, N и R;

X29 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей D, S и T;

X30 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей V, L и R;

X31 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей G и V;

X32 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей F, Y, L, S, T и V;

X33 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей G, L и V;

X34 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей N, S, P и R;

X35 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей Y, W, A и L;

LCDR2 включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5:

X50-X51-X52-X53-R-P-S, где

X50 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей R, E и L;

X51 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей V, S и L;

X52 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей N и G;

X53 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей T, I, K, L, R и W;

LCDR3 включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6:

C-X89-X90-X91-X92-X93-X94-X95-X95a-X95b, где

X89 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей S и A;

X90 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей S, G и T;

X91 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей Y, F, A и I;

X92 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей K и R;

X93 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей A и S;

X94 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей G и F;

X95 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей G и H;

X95a представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей T;

X95b представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, включающей Y, I, L и W.

2. Выделенное моноклональное антитело или его фрагмент по п.1, содержащее вариабельные домены тяжелой цепи  $V_H$  и легкой цепи  $V_L$ , которые содержат

HCDR1, включающий последовательность F-T-F-S-N-Y-A-M-S (SEQ ID NO: 7);

HCDR2, включающий последовательность R-I-E-G-G-I-S-S-T-Y (SEQ ID NO: 8);

HCDR3, включающий последовательность C-A-V-N-Y-Y-G-M-Y-Y (SEQ ID NO: 9);

а вариабельная область легкой цепи  $V_L$  содержит

LCDR1, включающий последовательность T-G-T-S-E-D-V-G-F-G-N-Y (SEQ ID NO: 10);

LCDR2, включающий последовательность R-V-N-T-R-P-S (SEQ ID NO: 11);

LCDR3, включающий последовательность C-S-S-Y-K-A-G-G-T-Y (SEQ ID NO: 12).

3. Выделенное моноклональное антитело или его фрагмент по п.2, содержащее:

а) вариабельный домен тяжелой цепи ( $V_H$ ), который включает аминокислотную последовательность

SEQ ID NO: 13, и

б) варибельный домен легкой цепи ( $V_L$ ), который включает аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14.

4. Выделенное моноклональное антитело, специфически связывающееся с IL-17A человека, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее варибельные домены тяжелой цепи ( $V_H$ ) и легкой цепи ( $V_L$ ), где указанные варибельные домены включают аминокислотные последовательности, по меньшей мере на 90% идентичные последовательностям, охарактеризованным в п.3.

5. Выделенное моноклональное антитело, специфически связывающееся с IL-17A человека, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее варибельные домены тяжелой цепи ( $V_H$ ) и легкой цепи ( $V_L$ ), где указанные варибельные домены включают аминокислотные последовательности, по меньшей мере на 95% идентичные последовательностям, охарактеризованным в п.3.

6. Выделенное моноклональное антитело, специфически связывающееся с IL-17A человека, или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее варибельные домены тяжелой цепи ( $V_H$ ) и легкой цепи ( $V_L$ ), где указанные варибельные домены включают аминокислотные последовательности, по меньшей мере на 99% идентичные последовательностям, охарактеризованным в п.3.

7. Фрагмент антитела, включающий варибельные домены, охарактеризованные в пп.1-6, где указанный фрагмент выбран из группы, включающей  $F(ab')_2$ ,  $F(ab)_2$ ,  $Fab'$ ,  $Fab$ .

8. Фрагмент антитела, включающий варибельные домены, охарактеризованные в пп.1-6, где указанный фрагмент выбран из группы, включающей  $Fv$  и  $scFv$ .

9. Выделенное моноклональное антитело или фрагмент антитела по любому из пп.1-6, где указанное антитело представляет собой гуманизированное антитело или антитело человека.

10. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что представляет собой IgG1, или IgG2, или IgG3, или IgG4, или IgA или IgD, или IgY.

11. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, имеющее аффинность связывания с IL-17A человека с  $K_D$  не более  $10^{-10}$  М.

12. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что кинетическая константа ассоциации  $k_{on}(1/Ms)$  для IL-17A человека составляет не менее  $10^5$  1/Мс.

13. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что кинетическая константа диссоциации  $dis(1/s)$  для IL-17A человека составляет не более  $10^{-5}$  1/с.

14. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, способное ингибировать активность IL-17A человека не менее чем на 50%.

15. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что его получают в клетках млекопитающих, дрожжевых или бактериальных клетках.

16. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что дополнительно содержит аминокислотные замены M252Y/S254T/T256E в Fc-участке.

17. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что дополнительно содержит аминокислотную замену N434W в Fc-участке.

18. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что дополнительно содержит аминокислотную замену N434A в Fc-участке.

19. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что дополнительно содержит аминокислотную замену N434F в Fc-участке.

20. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что дополнительно содержит аминокислотные замены H433K/N434F/Y436H в Fc-участке.

21. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что дополнительно содержит аминокислотные замены H433K/N434F/Y436H+M252Y/S254T/T256E в Fc-участке.

22. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что дополнительно содержит аминокислотные замены T307A/E380A/N434A в Fc-участке.

23. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что дополнительно содержит аминокислотные замены T250Q/M428L в Fc-участке.

24. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что характеризуется аминокислотной последовательностью полноразмерной тяжелой цепи SEQ ID NO:15.

25. Выделенное моноклональное антитело по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что характеризуется аминокислотной последовательностью полноразмерной легкой цепи SEQ ID NO:16.

26.  $Fab$  фрагмент антитела по любому из пп.1-6, получаемый в клетках млекопитающих, дрожжевых или бактериальных клетках.

27.  $Fab'$  фрагмент антитела по любому из пп.1-6, получаемый в клетках млекопитающих, дрожжевых или бактериальных клетках.

28.  $Fv$  фрагмент антитела по любому из пп.1-6, получаемый в клетках млекопитающих, дрожжевых или бактериальных клетках.

29.  $F(ab')_2$  фрагмент антитела по любому из пп.1-6, получаемый в клетках млекопитающих, дрожжевых или бактериальных клетках.

30.  $F(ab)_2$  фрагмент антитела по любому из пп.1-6, получаемый в клетках млекопитающих, дрожже-

вых или бактериальных клетках.

31. scFv фрагмент антитела по любому из пп.1-6, получаемый в клетках млекопитающих, дрожжевых или бактериальных клетках.

32. Нуклеиновая кислота, кодирующая антитело по любому из пп.1-6 и 9-25 или его фрагмент по любому из пп.26-31.

33. Нуклеиновая кислота по п.32, представляющая собой ДНК.

34. Экспрессионный вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по пп.32 и 33.

35. Клеточная линия, содержащая вектор по п.34 и способная продуцировать антитело по любому из пп.1-6 и 9-25 или его фрагмент по любому из пп.26-31.

36. Способ получения моноклонального антитела по любому из пп.1-6 и 9-25 или его фрагмента по любому из пп.26-31, заключающийся в культивировании клетки-хозяина по п.35 в культуральной среде в условиях, обеспечивающих получение указанного антитела или его фрагмента, с последующим выделением и очисткой полученного антитела или его фрагмента.

37. Фармацевтическая композиция для лечения опосредуемого IL-17A заболевания или нарушения, содержащая антитело по любому из пп.1-6 и 9-25 или его фрагмент по любому из пп.26-31, в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми эксципиентами, разбавителями или носителями.

38. Фармацевтическая композиция по п.37, содержащая дополнительные действующие вещества, выбранные из блокаторов ФНО- $\alpha$  или других антител к IL-17A.

39. Фармацевтическая композиция по п.37, где опосредуемое IL-17A заболевание или нарушение выбрано из ревматоидного артрита, остеоартрита, ювенильного хронического артрита, септического артрита, артрита Лайма, псориазического артрита, реактивного артрита, спондилоартропатии, системной красной волчанки, болезни Крона, язвенного колита, воспалительного заболевания кишечника, инсулин-зависимого сахарного диабета, тиреоидита, астмы, аллергических заболеваний, псориаза, дерматита, склеродермии, реакции "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата органа, острого или хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, саркоидоза, атеросклероза, диссеминированного внутрисосудистого свертывания, болезни Кавасаки, болезни Грэйвса, нефротического синдрома, синдрома хронической усталости, гранулематоза Вегенера, пурпуры Шенлейна-Геноха, микроскопического васкулита почек, хронического активного гепатита, увеита, септического шока, синдрома токсического шока, септического синдрома, кахексии, инфекционных заболеваний, паразитарных заболеваний, синдрома приобретенного иммунодефицита, острого поперечного миелита, хореи Гентингтона, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, инсульта, первичного билиарного цирроза, гемолитической анемии, злокачественных опухолей, сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, болезни Аддисона, спорадического полигландулярного дефицита типа I и полигландулярного дефицита типа II, синдрома Шмидта, взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома, алопеции, очаговой алопеции, серонегативной артропатии, артропатии, болезни Рейтера, псориазической артропатии, связанной с язвенным колитом артропатии, энтеропатического синовита, связанной с хламидиями, иерсиниями и сальмонеллами артропатии, спондилоартропатии, атероматозного заболевания/артериосклероза, атопической аллергии, аутоиммунного буллезного заболевания, пемфигуса обыкновенного, листовидного пемфигуса, пемфигоида, болезни линейных IgA, аутоиммунной гемолитической анемии, Кумбс-положительной гемолитической анемии, приобретенной пернициозной анемии, ювенильной пернициозной анемии, миалгического энцефалита/синдрома хронической усталости, хронического кожно-слизистого кандидоза, гигантоклеточного артериита, первичного склерозирующего гепатита, криптогенного аутоиммунного гепатита, синдрома приобретенного иммунодефицита, связанных с приобретенным иммунодефицитом заболеваний, гепатита В, гепатита С, варибельного неклассифицируемого иммунодефицита (варибельной неклассифицируемой гипогаммаглобулинемии), кардиомиопатии с дилатацией, женского бесплодия, недостаточности яичников, преждевременного угасания функции яичников, фиброзного заболевания легких, криптогенного фиброзного альвеолита, поствоспалительного интерстициального заболевания легких, интерстициального пневмонита, связанного с болезнью соединительной ткани интерстициального заболевания легких, связанного со смешанной болезнью соединительной ткани заболевания легких, связанного с системной склеродермией заболевания легких, связанного с ревматоидным артритом интерстициального заболевания легких, связанного с системной красной волчанкой заболевания легких, связанного с дерматомиозитом/полимиозитом заболевания легких, связанного с болезнью Шегрена заболевания легких, связанного с анкилозирующим спондилитом заболевания легких, васкулитного диффузного заболевания легких, связанного с гемосидерозом заболевания легких, индуцированного лекарственным средством интерстициального заболевания легких, фиброза, связанного с радиацией фиброза, облитерирующего бронхиолита, хронической эозинофильной пневмонии, заболевания легких с инфильтрацией лимфоцитов, постинфекционного интерстициального заболевания легких, подагрического артрита, аутоиммунного гепатита, аутоиммунного гепатита I типа (классического аутоиммунного или люпоидного гепатита), аутоиммунного гепатита II типа (гепатита, связанного с антителом против LKM), опосредуемой аутоиммунным заболеванием гипогликемии, устойчивости к инсулину типа В с акантокератодермией, гипопаратиреоза, острого иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, остеоартроза,

первичного склерозирующего холангита, псориаза I типа, псориаза II типа, идиопатической лейкопении, аутоиммунной нейтропении, NOS-болезни почек, гломерулонефрита, микроскопического васкулита почек, болезни Лайма, дискоидной красной волчанки, идиопатического или NOS-мужского бесплодия, аутоиммунитета к сперматозоидам, рассеянного склероза (все подтипы), симпатической офтальмии, легочной гипертензии, вторичной для болезни соединительной ткани, синдрома Гудпасчера, легочного проявления узелкового полиартериита, острой ревматической атаки, ревматоидного спондилита, болезни Стилла, системной склеродермии, синдрома Шенгрена, болезни/артериита Такаясу, аутоиммунной тромбоцитопении, идиопатической тромбоцитопении, аутоиммунного заболевания щитовидной железы, гипертиреоза, зобного аутоиммунного гипотиреоза (болезнь Хашимото), атрофического аутоиммунного гипотиреоза, первичной микседемы, факогенного увеита, первичного васкулита, витилиго, острого заболевания печени, хронического заболевания печени, алкогольного цирроза, индуцированного алкоголем повреждения печени, холестаза, идиосинкразического заболевания печени, индуцированного лекарственным средством гепатита, неалкогольного стеатогепатита, аллергии и астмы, стрептококковой инфекции группы В (GBS), психических расстройств (включая депрессию и шизофрению), опосредуемых типом Th2 и типом Th1 заболеваний, острой и хронической боли (различные формы боли), злокачественных опухолей, таких как рак легкого, молочной железы, желудка, мочевого пузыря, толстого кишечника, поджелудочной железы, яичника, предстательной железы и прямой кишки, гемопозитических злокачественных опухолей (лейкоз и лимфома), абеталипопротеинемии, акроцианоза, острых и хронических паразитарных и инфекционных процессов, острого лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого миелоидного лейкоза, острой или хронической бактериальной инфекции, острого панкреатита, острой почечной недостаточности, аденокарцином, эктопической систолы предсердий, СПИД-дементного комплекса, индуцированного алкоголем гепатита, аллергического конъюнктивита, аллергического контактного дерматита, аллергического ринита, отторжения аллотрансплантата, дефицита альфа-1-антитрипсина, бокового амиотрофического склероза, анемии, стенокардии, дегенерации клеток передних рогов спинного мозга, терапии против CD3, антифосфолипидного синдрома, реакций гиперчувствительности против рецепторов, аортальных и периферических аневризм, расслоения аорты, артериальной гипертензии, артериосклероза, артериовенозного свища, атаксии, фибрилляции предсердий (постоянной или пароксизмальной), трепетания предсердий, атриовентрикулярной блокады, В-клеточной лимфомы, отторжения трансплантата кости, отторжения трансплантата костного мозга (ВМТ), блокады пучка Гиса, лимфомы Беркитта, ожогов, аритмий сердца, синдрома оглушения сердца, опухолей сердца, кардиомиопатии, воспалительных ответов на искусственное кровообращение, отторжения трансплантата хряща, дегенерации коры головного мозга, нарушений мозжечка, хаотической или многоочаговой тахикардии предсердий, связанных с химиотерапией нарушений, хронического миелоцитарного лейкоза (СМЛ), хронического алкоголизма, хронических воспалительных патологий, хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ), хронической интоксикации салицилатами, карциномы ободочной и прямой кишки, застойной сердечной недостаточности, конъюнктивита, контактного дерматита, легочного сердца, болезни коронарных артерий, болезни Крейтцфельда-Якоба, культурально-негативного сепсиса, кистозного фиброза, связанных с цитокиновой терапией нарушений, деменции боксеров, демиелинизирующих заболеваний, геморрагической лихорадки денге, дерматита, дерматологических состояний, диабета, сахарного диабета, диабетического атеросклеротического заболевания, диффузного заболевания с тельцами Леви, застойной кардиомиопатии с дилатацией, нарушений базальных ганглиев, синдрома Дауна в среднем возрасте, двигательных нарушений, индуцированных лекарственным средством, которое блокирует дофаминовые рецепторы ЦНС, чувствительности к лекарственным средствам, экземы, энцефаломиелита, эндокардита, эндокринопатии, эпиглоттита, инфекции вирусом Эпштейна-Барр, эритромиелалгии, экстрапирамидальных и мозжечковых нарушений, семейного гематофагоцитарного лимфогистиоцитоза, отторжения имплантата эмбрионального тимуса, наследственной атаксии Фридрейха, функциональных нарушений периферических артерий, грибкового сепсиса, газовой гангрены, язвы желудка, гломерулонефрита, отторжения трансплантата любого органа или ткани, грамотрицательного сепсиса, грамположительного сепсиса, гранулем вследствие внутриклеточных организмов, волосатоклеточного лейкоза, болезни Галлервордена-Шпатца, тиреоидита Хашимото, сенной лихорадки, отторжения трансплантата сердца, гемахроматоза, гемодиализа, гемолитического уремического синдрома/тромболитической тромбоцитопенической пурпурой, кровопотери, гепатита (А), аритмий пучка Гиса, ВИЧ-инфекции/ВИЧ-невропатии, болезни Ходжкина, гиперкинетических двигательных нарушений, реакций гиперчувствительности, связанного с гиперчувствительностью пневмонита, гипертензии, гипокинетических двигательных нарушений, обследования гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, идиопатической болезни Аддисона, идиопатического фиброза легких, опосредуемой антителами цитотоксичности, астении, младенческой спинальной мышечной атрофии, воспаления аорты, вируса гриппа А, облучения ионизирующей радиацией, иридоциклита/увеита/оптического неврита, повреждения при ишемии-реперфузии, ишемического инсульта, ювенильного ревматоидного артрита, ювенильной спинальной мышечной атрофии, саркомы Капоши, отторжения трансплантата почки, легионеллеза, лейшманиоза, лепры, повреждений кортикоспинальной системы, жирового отека, отторжения трансплантата печени, лимфатического отека, малярии, злокачественной лимфомы, злокачест-

венного гистиоцитоза, злокачественной меланомы, менингита, менингококкемии, метаболических/идиопатических заболеваний, мигрени, митохондриального полисистемного нарушения, смешанной болезни соединительной ткани, моноклональной гаммапатии, множественной миеломы, полисистемной дегенерации (Менцеля, Дежерина-Тома, Шая-Дрейджера и Мачадо-Джозефа), миастении, внутриклеточных *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis*, миелодиспластического синдрома, инфаркта миокарда, ишемических нарушений миокарда, карциномы носоглотки, хронического заболевания легких новорожденных, нефрита, нефроза, нейродегенеративных заболеваний, нейрогенных мышечных атрофий I, нейтропенической лихорадки, неходжкинских лимфом, окклюзии брюшного отдела аорты и ее ветвей, окклюзионных нарушений артерий, терапии ОКТЗ®, орхита/эпидидимита, орхита/возвратных процедур после вазэктомии, органомегалии, остеопороза, отторжения трансплантата поджелудочной железы, карциномы поджелудочной железы, паранеопластического синдрома/гиперкальцемии при злокачественной опухоли, отторжения трансплантата паращитовидной железы, воспалительного заболевания органов таза, круглогодичного ринита, заболевания перикарда, периферического артериосклеротического заболевания, периферических сосудистых нарушений, перитонита, пернициозной анемии, пневмонии *Pneumocystis carinii*, пневмонии, синдрома РОЕМС (полиневропатия, органомегалия, эндокринопатия, моноклональная гаммапатия и синдром кожных изменений), постперфузионного синдрома, синдрома после искусственного кровообращения, посткардиотомного синдрома после инфаркта миокарда, преэклампсии, прогрессирующего супрануклеарного паралича, первичной гипертензии легких, лучевой терапии, феномена и болезни Рейно, болезни Рейно, болезни Рефсума, регулярной тахикардии с узким комплексом QRS, вазоренальной гипертензии, реперфузионного повреждения, рестриктивной кардиомиопатии, сарком, склеродермии, сенильной хореи, сенильной деменции с тельцами Леви, серонегативных артропатий, шока, серповидноклеточной анемии, отторжения аллотрансплантата кожи, синдрома кожных изменений, отторжения трансплантата тонкого кишечника, солидных опухолей, специфических аритмий, спинальной атаксии, спинозжечковых дегенераций, стрептококкового миозита, структурных повреждений мозжечка, подострого склерозирующего панэнцефалита, обмороков, сифилиса сердечно-сосудистой системы, системной анафилаксии, синдрома системного воспалительного ответа, ювенильного ревматоидного артрита с системным началом, Т-клеточного или FAB ALL, телеангиэктазии, облитерирующего тромбангита, тромбоцитопении, токсичности, трансплантации, травмы/кровопотери, реакций гиперчувствительности типа III, гиперчувствительности типа IV, нестабильной стенокардии, уремии, уросепсиса, крапивницы, заболеваний клапанов сердца, варикоза вен, васкулита, заболеваний вен, венозного тромбоза, фибрилляции желудочков, вирусных и грибковых инфекций, энцефалита с высоким риском смертельного исхода/асептического менингита, гемофагоцитарного синдрома с высоким риском смертельного исхода, синдрома Вернике-Корсакова, болезни Вилсона, отторжения ксенотрансплантата любого органа или ткани, острого коронарного синдрома, острого идиопатического полиневрита, острой воспалительной демиелинизирующей полирадикулоневропатии, острой ишемии, болезни Стилла взрослых, очаговой алопеции, анафилаксии, синдрома антифосфолипидных антител, апластической анемии, артериосклероза, атопической экземы, атопического дерматита, аутоиммунного дерматита, аутоиммунного нарушения, связанного со стрептококковой инфекцией, аутоиммунной энтеропатии, аутоиммунной потери слуха, аутоиммунного лимфопрлиферативного синдрома, аутоиммунного миокардита, аутоиммунного преждевременного угасания функции яичников, блефарита, бронхоэктазов, буллезного пемфигоида, сердечно-сосудистого заболевания, катастрофического антифосфолипидного синдрома, глютеиновой болезни, шейного спондилеза, хронической ишемии, рубцового пемфигоида, клинически изолированного синдрома (cis) с риском рассеянного склероза, конъюнктивита, психиатрического нарушения с началом в детском возрасте, хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ), дакриоцистита, дерматомиозита, диабетической ретинопатии, сахарного диабета, грыжи межпозвоночного диска, пролапса межпозвоночного диска, индуцированной лекарственным средством иммунной гемолитической анемии, эндокардита, эндометриоза, эндофтальмита, эписклерита, полиформной эритемы, тяжелой полиформной эритемы, гестационного пемфигоида, синдрома Гийена-Барре, сенной лихорадки, синдрома Хьюза, идиопатической болезни Паркинсона, идиопатической интерстициальной пневмонии, опосредуемой IgE аллергии, иммунной гемолитической анемии, миозита с тельцами включения, инфекционного воспалительного заболевания глаз, воспалительного демиелинизирующего заболевания, воспалительного заболевания сердца, воспалительного заболевания почек, идиопатического пневмосклероза/идиопатического легочного фиброза, ирита, кератита, сухого кератоконъюнктивита, болезни Куссмауля или болезни Куссмауля-Мейера, паралича Ландри, гистиоцитоза клеток Лангерганса, синдрома мраморной кожи, дегенерации желтого пятна, микроскопического полиангиита, болезни Бехтерева, нарушений двигательных нейронов, пемфигоида слизистых оболочек, полиорганной недостаточности, миастении, миелодиспластического синдрома, миокардита, нарушений корешков нервов, невропатии, не-А не-В гепатита, оптического неврита, остеолитизиса, рака яичника, олигоартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, окклюзионного заболевания периферических артерий, заболевания периферических сосудов, заболевания периферических артерий (PAD), флебита, узелкового полиартериита (или нодозного полиартериита), полихондрита, ревматической полимиалгии, полиоза, полиартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, синдрома полиэндокринной недостаточности, полимиозита, ревматической по-

лимиалгии (PMR), синдрома после искусственного кровообращения, первичного паркинсонизма, рака предстательной железы и прямой кишки и гемопоэтических злокачественных опухолей (лейкоз и лимфома), простатита, истинной эритроцитарной аплазии, первичной недостаточности надпочечников, рецидивирующего оптического нейромиелиита, рестеноза, ревматической болезни сердца, SAPHO (синовит, акне, пустулез, гиперостоз и остеоит), склеродермии, вторичного амилоидоза, шокового легкого, склерита, ишиаса, вторичной недостаточности надпочечников, связанного с кремнийорганическими соединениями заболевания соединительных тканей, дерматоза Снеддона-Уилкинсона, анкилозирующего спондилита, синдрома Стивенса-Джонсона, синдрома системного воспалительного ответа, височного артериита, токсоплазменного ретинита, токсического эпидермального некролиза, поперечного миелита, TRAPS (связанный с рецептором фактора некроза опухоли периодический синдром), аллергической реакции I типа, диабета типа II, крапивницы, обычной интерстициальной пневмонии (UIP), васкулита, венечного конъюнктивита, вирусного ретинита, синдрома Фогта-Коянаги-Харада (синдром VKN), влажной дегенерации желтого пятна, заживления ран и связанной с иерсиниями и сальмонеллами артропатии.

40. Способ лечения опосредованного IL-17A заболевания или нарушения, включающий введение выделенного антитела по любому из пп.1-6 и 9-25 или его фрагмента по любому из пп.26-31 в терапевтически эффективном количестве.

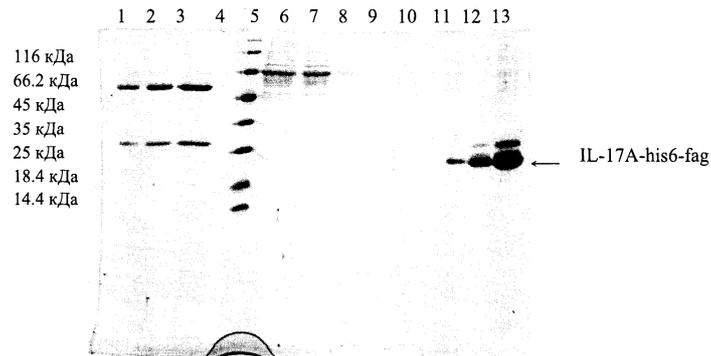
41. Способ по п.40, отличающийся тем, что указанное опосредованное IL-17 заболевание или нарушение выбирают из выбранного из ревматоидного артрита, остеоартрита, ювенильного хронического артрита, септического артрита, артрита Лайма, псориазического артрита, реактивного артрита, спондилоартропатии, системной красной волчанки, болезни Крона, язвенного колита, воспалительного заболевания кишечника, инсулинзависимого сахарного диабета, тиреоидита, астмы, аллергических заболеваний, псориаза, дерматита, склеродермии, реакции "трансплантат против хозяина", отторжения трансплантата органа, острого или хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, саркоидоза, атеросклероза, диссеминированного внутрисосудистого свертывания, болезни Кавасаки, болезни Грэйвса, нефротического синдрома, синдрома хронической усталости, гранулематоза Вегенера, пурпуры Шенлейна-Геноха, микроскопического васкулита почек, хронического активного гепатита, увеита, септического шока, синдрома токсического шока, септического синдрома, кахексии, инфекционных заболеваний, паразитарных заболеваний, синдрома приобретенного иммунодефицита, острого поперечного миелита, хореи Гентингтона, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, инсульта, первичного билиарного цирроза, гемолитической анемии, злокачественных опухолей, сердечной недостаточности, инфаркта миокарда, болезни Аддисона, спорадического полигландулярного дефицита типа I и полигландулярного дефицита типа II, синдрома Шмидта, взрослого (острого) респираторного дистресс-синдрома, алопеции, очаговой алопеции, серонегативной артропатии, артропатии, болезни Рейтера, псориазической артропатии, связанной с язвенным колитом артропатии, энтеропатического синовита, связанной с хламидиями, иерсиниями и сальмонеллами артропатии, спондилоартропатии, атероматозного заболевания/артериосклероза, атопической аллергии, аутоиммунного буллезного заболевания, пемфигуса обыкновенного, листовидного пемфигуса, пемфигоида, болезни линейных IgA, аутоиммунной гемолитической анемии, Кумбс-положительной гемолитической анемии, приобретенной пернициозной анемии, ювенильной пернициозной анемии, миалгического энцефалита/синдрома хронической усталости, хронического кожно-слизистого кандидоза, гигантоклеточного артериита, первичного склерозирующего гепатита, криптогенного аутоиммунного гепатита, синдрома приобретенного иммунодефицита, связанных с приобретенным иммунодефицитом заболеваний, гепатита В, гепатита С, переменного неклассифицируемого иммунодефицита (переменной неклассифицируемой гипогаммаглобулинемии), кардиомиопатии с дилатацией, женского бесплодия, недостаточности яичников, преждевременного угасания функции яичников, фиброзного заболевания легких, криптогенного фиброзного альвеолита, поствоспалительного интерстициального заболевания легких, интерстициального пневмонита, связанного с болезнью соединительной ткани интерстициального заболевания легких, связанного со смешанной болезнью соединительной ткани заболевания легких, связанного с системной склеродермией заболевания легких, связанного с ревматоидным артритом интерстициального заболевания легких, связанного с системной красной волчанкой заболевания легких, связанного с дерматомиозитом/полимиозитом заболевания легких, связанного с болезнью Шегрена заболевания легких, связанного с анкилозирующим спондилитом заболевания легких, васкулитного диффузного заболевания легких, связанного с гемосидерозом заболевания легких, индуцированного лекарственным средством интерстициального заболевания легких, фиброза, связанного с радиацией фиброза, облитерирующего бронхиолита, хронической эозинофильной пневмонии, заболевания легких с инфильтрацией лимфоцитов, постинфекционного интерстициального заболевания легких, подагрического артрита, аутоиммунного гепатита, аутоиммунного гепатита I типа (классического аутоиммунного или люпоидного гепатита), аутоиммунного гепатита II типа (гепатита, связанного с антителом против LKM), опосредуемой аутоиммунным заболеванием гипогликемии, устойчивости к инсулину типа В с акантокератодермией, гипопаратиреоза, острого иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органа, остеопороза, первичного склерозирующего холангита, псориаза I типа, псориаза II типа, идиопатической лейкопении, аутоиммунной нейтропении, NOS-болезни почек, гломерулонефрита, микроскопиче-

ского васкулита почек, болезни Лайма, дискоидной красной волчанки, идиопатического или NOS-мужского бесплодия, аутоиммунитета к сперматозоидам, рассеянного склероза (все подтипы), симпатической офтальмии, легочной гипертензии, вторичной для болезни соединительной ткани, синдрома Гудпасчера, легочного проявления узелкового полиартериита, острой ревматической атаки, ревматоидного спондилита, болезни Стилла, системной склеродермии, синдрома Шенгрена, болезни/артериита Такаюсу, аутоиммунной тромбоцитопении, идиопатической тромбоцитопении, аутоиммунного заболевания щитовидной железы, гипертиреозидизма, зобного аутоиммунного гипотиреоза (болезнь Хашимото), атрофического аутоиммунного гипотиреоза, первичной микседемы, факогенного увеита, первичного васкулита, витилиго, острого заболевания печени, хронического заболевания печени, алкогольного цирроза, индуцированного алкоголем повреждения печени, холестаза, идиосинкразического заболевания печени, индуцированного лекарственным средством гепатита, неалкогольного стеатогепатита, аллергии и астмы, стрептококковой инфекции группы В (GBS), психических расстройств (включая депрессию и шизофрению), опосредуемых типом Th2 и типом Th1 заболеваний, острой и хронической боли (различные формы боли) и злокачественных опухолей, таких как рак легкого, молочной железы, желудка, мочевого пузыря, толстого кишечника, поджелудочной железы, яичника, предстательной железы и прямой кишки и гемопозитические злокачественные опухоли (лейкоз и лимфома), абеталипопротеинемии, акроцианоза, острых и хронических паразитарных и инфекционных процессов, острого лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого миелоидного лейкоза, острой или хронической бактериальной инфекции, острого панкреатита, острой почечной недостаточности, аденокарцином, эктопической систолы предсердий, СПИД-дементного комплекса, индуцированного алкоголем гепатита, аллергического конъюнктивита, аллергического контактного дерматита, аллергического ринита, отторжения аллотрансплантата, дефицита альфа-1-антитрипсина, бокового амиотрофического склероза, анемии, стенокардии, дегенерации клеток передних рогов спинного мозга, терапии против CD3, антифосфолипидного синдрома, реакций гиперчувствительности против рецепторов, аортальных и периферических аневризм, расслоения аорты, артериальной гипертензии, артериосклероза, артериовенозного свища, атаксии, фибрилляции предсердий (постоянной или пароксизмальной), трепетания предсердий, атриовентрикулярной блокады, В-клеточной лимфомы, отторжения трансплантата кости, отторжения трансплантата костного мозга (ВМТ), блокады пучка Гиса, лимфомы Беркитта, ожогов, аритмий сердца, синдрома оглушения сердца, опухолей сердца, кардиомиопатии, воспалительных ответов на искусственное кровообращение, отторжения трансплантата хряща, дегенерации коры головного мозга, нарушений мозжечка, хаотической или многоочаговой тахикардии предсердий, связанных с химиотерапией нарушений, хронического миелоцитарного лейкоза (ХМЛ), хронического алкоголизма, хронических воспалительных патологий, хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ), хронической интоксикации салицилатами, карциномы ободочной и прямой кишки, застойной сердечной недостаточности, конъюнктивита, контактного дерматита, легочного сердца, болезни коронарных артерий, болезни Крейтцфельда-Якоба, культурально-негативного сепсиса, кистозного фиброза, связанных с цитокиновой терапией нарушений, деменции боксеров, демиелинизирующих заболеваний, геморрагической лихорадки денге, дерматита, дерматологических состояний, диабета, сахарного диабета, диабетического атеросклеротического заболевания, диффузного заболевания с тельцами Леви, застойной кардиомиопатии с дилатацией, нарушений базальных ганглиев, синдрома Дауна в среднем возрасте, двигательных нарушений, индуцированных лекарственным средством, которое блокирует дофаминовые рецепторы ЦНС, чувствительности к лекарственным средствам, экземы, энцефаломиелита, эндокардита, эндокринопатии, эпиглоттита, инфекции вирусом Эпштейна-Барр, эритроцитопении, экстрапирамидальных и мозжечковых нарушений, семейного гематофагоцитарного лимфогистиоцитоза, отторжения имплантата эмбрионального тимуса, наследственной атаксии Фридрейха, функциональных нарушений периферических артерий, грибкового сепсиса, газовой гангрены, язвы желудка, гломерулонефрита, отторжения трансплантата любого органа или ткани, грамотрицательного сепсиса, грамположительного сепсиса, гранулем вследствие внутриклеточных организмов, волосатоклеточного лейкоза, болезни Галлервордена-Шпатца, тиреоидита Хашимото, сенной лихорадки, отторжения трансплантата сердца, гемахроматоза, гемодиализа, гемолитического уремического синдрома/тромболитической тромбоцитопенической пурпуры, кровопотери, гепатита (А), аритмий пучка Гиса, ВИЧ-инфекции/ВИЧ-невропатии, болезни Ходжкина, гиперкинетических двигательных нарушений, реакций гиперчувствительности, связанного с гиперчувствительностью пневмонита, гипертензии, гипокинетических двигательных нарушений, обследования гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, идиопатической болезни Аддисона, идиопатического фиброза легких, опосредуемой антителами цитотоксичности, астении, младенческой спинальной мышечной атрофии, воспаления аорты, вируса гриппа а, облучения ионизирующей радиацией, иридоциклита/увеита/оптического неврита, повреждения при ишемии-реперфузии, ишемического инсульта, ювенильного ревматоидного артрита, ювенильной спинальной мышечной атрофии, саркомы Капоши, отторжения трансплантата почки, легионеллеза, лейшманиоза, лепры, поврежденной кортикальной системы, жирового отека, отторжения трансплантата печени, лимфатического отека, малярии, злокачественной лимфомы, злокачественного гистиоцитоза, злокачественной меланомы, менингита, менингококкемии, метаболических/идиопатических заболеваний, мигрени, митохондриального полисистемного нарушения, смешан-

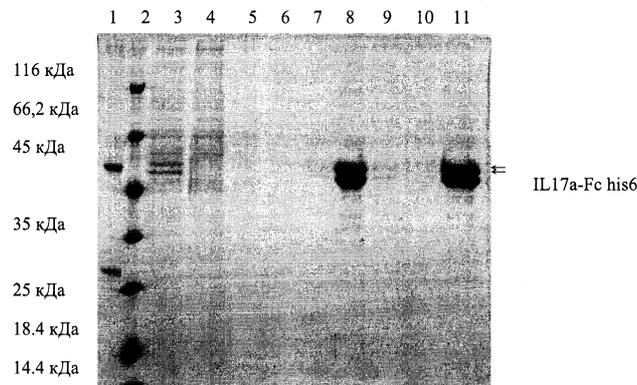
ной болезни соединительной ткани, моноклональной гаммапатии, множественной миеломы, полисистемной дегенерации (Менцеля, Дежерина-Тома, Шая-Дрейджера и Мачадо-Джозефа), миастении, внутриклеточных *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis*, миелодиспластического синдрома, инфаркта миокарда, ишемических нарушений миокарда, карциномы носоглотки, хронического заболевания легких новорожденных, нефрита, нефроза, нейродегенеративных заболеваний, нейрогенных мышечных атрофий I, нейтропенической лихорадки, неходжкинских лимфом, окклюзии брюшного отдела аорты и ее ветвей, окклюзионных нарушений артерий, терапии ОКТЗ®, орхита/эпидидимита, орхита/возвратных процедур после вазэктомии, органомегалии, остеопороза, отторжения трансплантата поджелудочной железы, карциномы поджелудочной железы, паранеопластического синдрома/гиперкальцемии при злокачественной опухоли, отторжения трансплантата паращитовидной железы, воспалительного заболевания органов таза, круглогодичного ринита, заболевания перикарда, периферического артериосклеротического заболевания, периферических сосудистых нарушений, перитонита, пернициозной анемии, пневмонии *Pneumocystis carinii*, пневмонии, синдрома POEMS (полиневропатия, органомегалия, эндокринопатия, моноклональная гаммапатия и синдром кожных изменений), постперфузионного синдрома, синдрома после искусственного кровообращения, посткардиотомного синдрома после инфаркта миокарда, преэклампсии, прогрессирующего супрануклеарного паралича, первичной гипертензии легких, лучевой терапии, феномена и болезни Рейно, болезни Рейно, болезни Рефсума, регулярной тахикардии с узким комплексом QRS, вазоренальной гипертензии, реперфузионного повреждения, рестриктивной кардиомиопатии, сарком, склеродермии, сенильной хорей, сенильной деменции с тельцами Леви, серонегативных артропатий, шока, серповидноклеточной анемии, отторжения аллотрансплантата кожи, синдрома кожных изменений, отторжения трансплантата тонкого кишечника, солидных опухолей, специфических аритмий, спинальной атаксии, спинозжечковых дегенераций, стрептококкового миозита, структурных повреждений мозжечка, подострого склерозирующего панэнцефалита, обмороков, сифилиса сердечно-сосудистой системы, системной анафилаксии, синдрома системного воспалительного ответа, ювенильного ревматоидного артрита с системным началом, Т-клеточного или FAB ALL, телеангиэктазии, облитерирующего тромбангита, тромбоцитопении, токсичности, трансплантации, травмы/кровопотери, реакций гиперчувствительности типа III, гиперчувствительности типа IV, нестабильной стенокардии, уремии, уросепсиса, крапивницы, заболеваний клапанов сердца, варикоза вен, васкулита, заболеваний вен, венозного тромбоза, фибрилляции желудочков, вирусных и грибковых инфекций, энцефалита с высоким риском смертельного исхода/асептического менингита, гемофагоцитарного синдрома с высоким риском смертельного исхода, синдрома Вернике-Корсакова, болезни Вилсона, отторжения ксенотрансплантата любого органа или ткани, острого коронарного синдрома, острого идиопатического полиневрита, острой воспалительной демиелинизирующей полирадикулоневропатии, острой ишемии, болезни Стилла взрослых, очаговой алопеции, анафилаксии, синдрома антифосфолипидных антител, апластической анемии, артериосклероза, атопической экземы, атопического дерматита, аутоиммунного дерматита, аутоиммунного нарушения, связанного со стрептококковой инфекцией, аутоиммунной энтеропатии, аутоиммунной потери слуха, аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома, аутоиммунного миокардита, аутоиммунного преждевременного угасания функции яичников, блефарита, бронхоэктазов, буллезного пемфигоида, сердечно-сосудистого заболевания, катастрофического антифосфолипидного синдрома, глютеновой болезни, шейного спондилеза, хронической ишемии, рубцового пемфигоида, клинически изолированного синдрома (cis) с риском рассеянного склероза, конъюнктивита, психиатрического нарушения с началом в детском возрасте, хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ), дакриоцистита, дерматомиозита, диабетической ретинопатии, сахарного диабета, грыжи межпозвоночного диска, пролапса межпозвоночного диска, индуцированной лекарственным средством иммунной гемолитической анемии, эндокардита, эндометриоза, эндофтальмита, эписклерита, полиформной эритемы, тяжелой полиформной эритемы, гестационного пемфигоида, синдрома Гийена-Барре, сенной лихорадки, синдрома Хьюза, идиопатической болезни Паркинсона, идиопатической интерстициальной пневмонии, опосредуемой IgE аллергии, иммунной гемолитической анемии, миозита с тельцами включения, инфекционного воспалительного заболевания глаз, воспалительного демиелинизирующего заболевания, воспалительного заболевания сердца, воспалительного заболевания почек, идиопатического пневмосклероза/ идиопатического легочного фиброза, ирита, кератита, сухого кератоконъюнктивита, болезни Куссмауля или болезни Куссмауля-Мейера, паралича Ландри, гистиоцитоза клеток Лангерганса, синдрома мраморной кожи, дегенерации желтого пятна, микроскопического полиангиита, болезни Бехтерева, нарушений двигательных нейронов, пемфигоида слизистых оболочек, полиорганной недостаточности, миастении, миелодиспластического синдрома, миокардита, нарушений корешков нервов, невропатии, не-А не-В гепатита, оптического неврита, остеолитизиса, рака яичника, олигоартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, окклюзионного заболевания периферических артерий, заболевания периферических сосудов, заболевания периферических артерий (ЗПА), флебита, узелкового полиартериита (или нодозного полиартериита), полихондрита, ревматической полимиалгии, полиоза, полиартикулярного ювенильного ревматоидного артрита, синдрома полиэндокринной недостаточности, полимиозита, ревматической полимиалгии (РПМ), синдрома после искусственного кровообращения, первичного паркинсонизма, рака предстательной железы и прямой кишки и гемопоэтических злокачественных опухолей (лейкоз и лимфому), проста-

тата, истинной эритроцитарной аплазии, первичной недостаточности надпочечников, рецидивирующего оптического нейромиелиита, рестеноза, ревматической болезни сердца, SAPHO (синовит, акне, пустулез, гиперостоз и остеит), склеродермии, вторичного амилоидоза, шокового легкого, склерита, ишиаса, вторичной недостаточности надпочечников, связанного с кремнийорганическими соединениями заболевания соединительных тканей, дерматоза Снеддона-Уилкинсона, анкилозирующего спондилита, синдрома Стивенса-Джонсона (SJS), синдрома системного воспалительного ответа, височного артериита, токсического ретинита, токсического эпидермального некролиза, поперечного миелита, TRAPS (связанный с рецептором фактора некроза опухоли периодический синдром), аллергической реакции I типа, диабета типа II, крапивницы, обычной интерстициальной пневмонии, васкулита, весеннего конъюнктивита, вирусного ретинита, синдрома Фогта-Коянаги-Харада (синдром VKH), влажной дегенерации желтого пятна, заживления ран и связанной с иерсиниями и сальмонеллами артропатии.

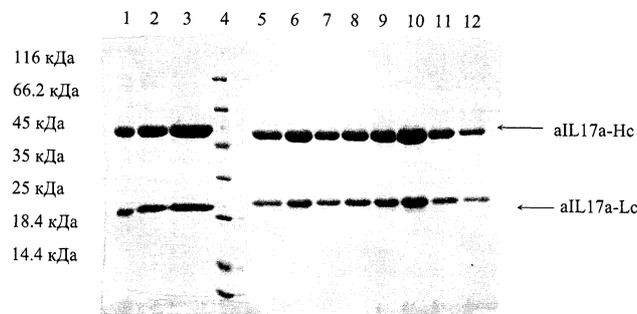
42. Способ по п.40, дополнительно включающий введение блокаторов ФНО- $\alpha$  или других антител к ИЛ-17А.



Фиг. 1

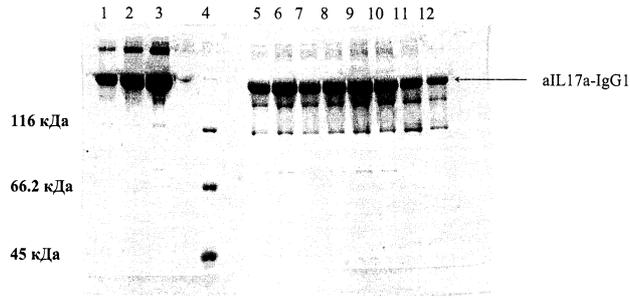


Фиг. 2

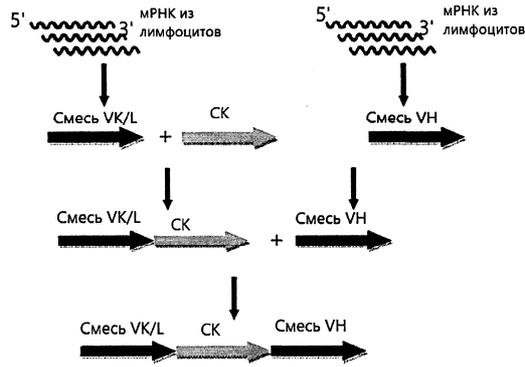


Фиг. 3А

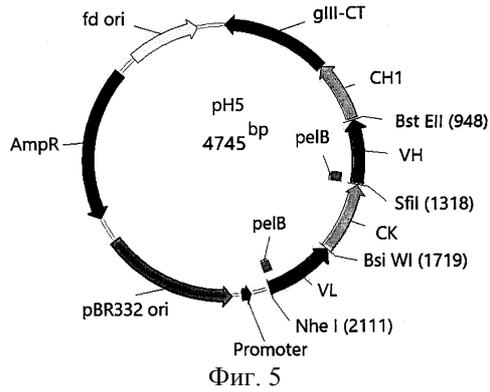
034854



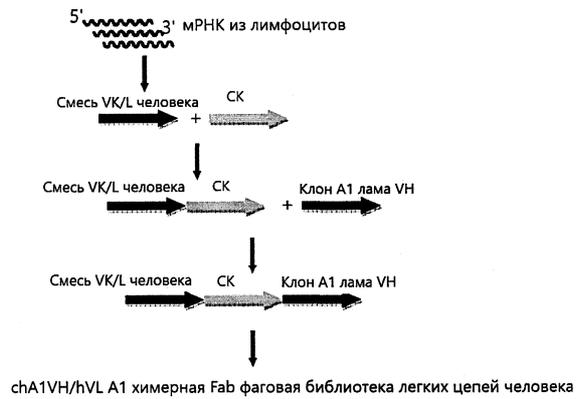
Фиг. 3В



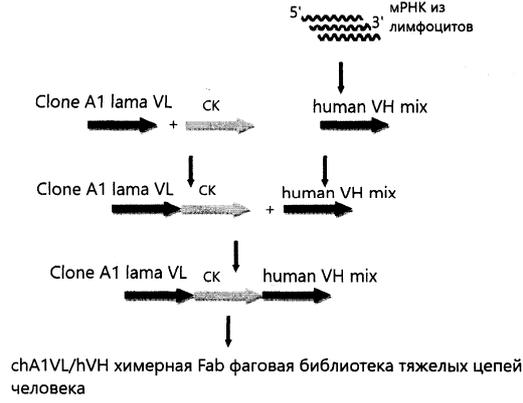
Фиг. 4



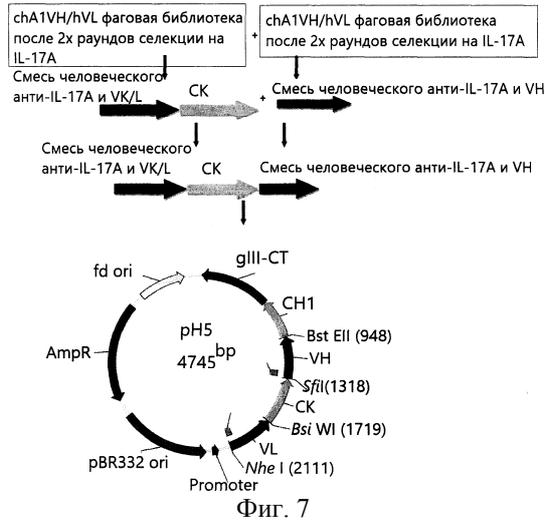
Фиг. 5



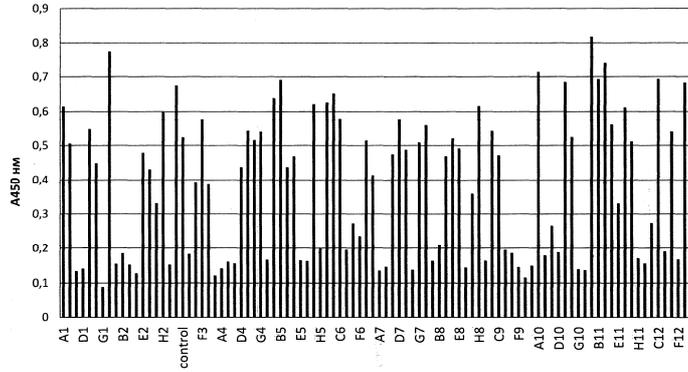
Фиг. 6А



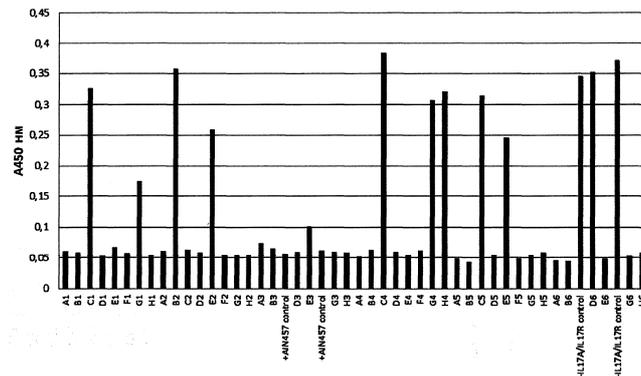
Фиг. 6В



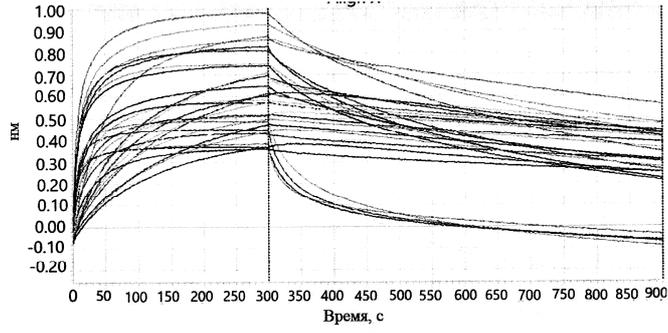
Фиг. 7



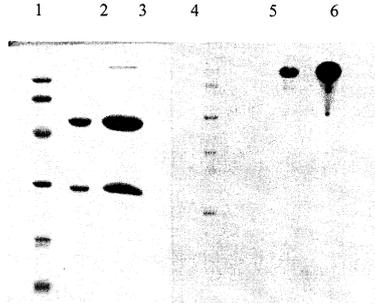
Фиг. 8



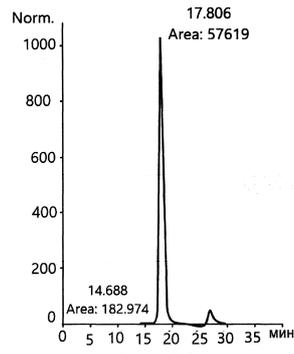
Фиг. 9



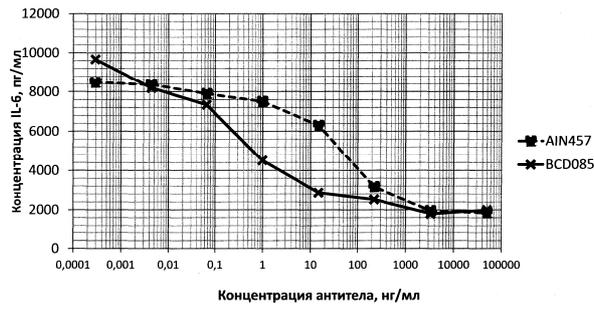
Фиг. 10



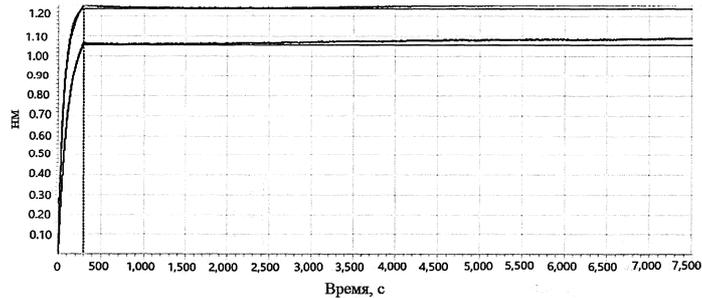
Фиг. 11



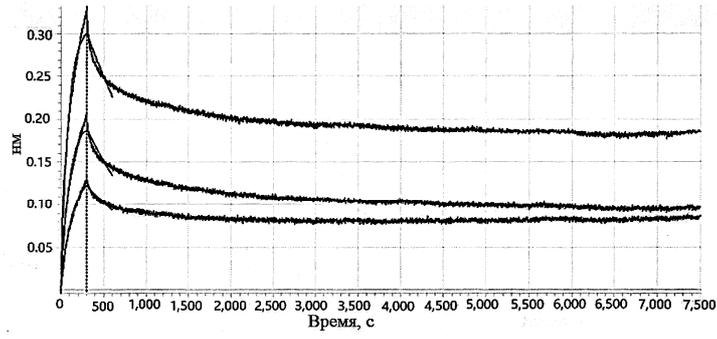
Фиг. 12



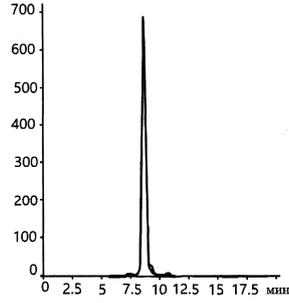
Фиг. 13



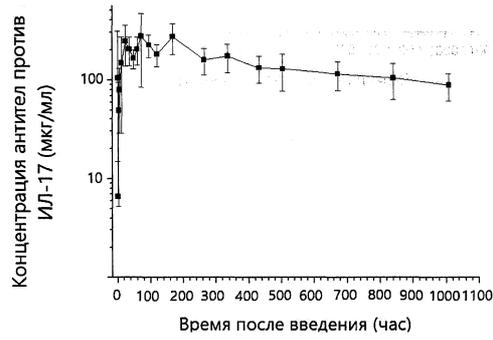
Фиг. 14А



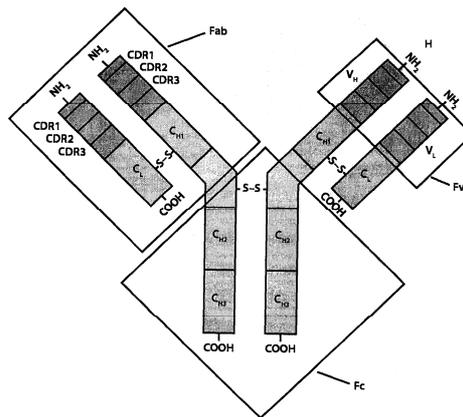
Фиг. 14В



Фиг. 15



Фиг. 16



Фиг. 17