



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.09.08

(21) Номер заявки
201391632

(22) Дата подачи заявки
2012.05.04

(51) Int. Cl. **C07K 16/24** (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

(54) АМИНОКИСЛОТНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ, НАПРАВЛЕННЫЕ ПРОТИВ IL-17A, IL-17F И/ИЛИ IL-17A/F, И СОДЕРЖАЩИЕ ИХ ПОЛИПЕПТИДЫ

(31) 61/482,802

(32) 2011.05.05

(33) US

(43) 2014.07.30

(86) PCT/EP2012/058313

(87) WO 2012/156219 2012.11.22

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
МЕРК ПАТЕНТ ГМБХ (DE)

(72) Изобретатель:
**Роммеларе Хейди, Колкман Йост
Александр, Сондерс Майкл Джон
Скотт, Юньон Анн (BE), Шватшко
Йоланд (CH), Праудфут Аманда Е.И.,
Викари Ален, Брюникель Дени,
Шевале Лоран, Лежер Оливье (FR)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A2-2009136286
WO-A2-2008047134
WO-A1-2006054059

WO-A2-2010025400

ARBABI GHARROUDI M. ET AL.:
"Selection and identification of single domain antibody fragments from camel heavy-chain antibodies", FEBS LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 414, no. 3, 15 September 1997 (1997-09-15), pages 521-526, XP004261105, ISSN: 0014-5793, DOI: 10.1016/S0014-5793(97)01062-4 the whole document

VINCKE CECILE ET AL.: "General strategy to humanize a camelid single-domain antibody and identification of a universal humanized nanobody scaffold", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, THE AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, INC, US, vol. 284, no. 5, 30 January 2009 (2009-01-30), pages 3273-3284, XP009124408, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M806889200 [retrieved on 2008-11-14] the whole document

HOLT L.J. ET AL.: "Domain antibodies: proteins for therapy", TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, ELSEVIER PUBLICATIONS, CAMBRIDGE, GB, vol. 21, no. 11, 1 November 2003 (2003-11-01), pages 484-490, XP004467495, ISSN: 0167-7799, DOI: 10.1016/J.TIBTECH.2003.08.007 the whole document

(57) Изобретение относится к полипептиду, который специфически связывается с человеческим IL-17A, человеческим IL-17F и/или человеческим IL-17A/F, к применению такого полипептида, к способу лечения заболевания и к фармацевтической композиции, содержащей его. Полипептид может быть использован для лечения заболевания, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, ревматоидного артрита, остеоартрита, юношеского хронического артрита, спондилоартропатий, системного склероза, идиопатических воспалительных миопатий, синдрома Шегрена, системного васкулита, саркоидоза, аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунной тромбоцитопении, тиреоидита, сахарного диабета, иммуноопосредованных заболеваний почек, демиелинизирующих заболеваний центральной и периферической нервной системы, таких как рассеянный склероз, идиопатическая демиелинизирующая полинейропатия или синдром Гийена-Барре и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезней желчи и желчных путей, таких как инфекционный аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительного заболевания кишечника, глютенчувствительной энтеропатии и болезни Уиппла, аутоиммунных или иммуноопосредованных заболеваний кожи, включающих буллезные заболевания кожи, полиморфную эритему и контактный дерматит, псориаза, аллергических заболеваний, таких как астма, аллергический ринит, атопический дерматит, гиперчувствительность к пище и крапивница, иммунологических заболеваний легких, таких как эозинофильная пневмония, идиопатический легочный фиброз и гиперчувствительный пневмонит, связанных с трансплантацией заболеваний, включающих отторжение трансплантата и реакцию "трансплантат против хозяина".

Настоящее изобретение относится к аминокислотным последовательностям, направленным против (как определено в настоящем документе) любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, а также к соединениям или конструкциям, и, в частности, к белкам и полипептидам, которые содержат или, по существу, состоят из одной или нескольких таких аминокислотных последовательностей (также обозначаемых в настоящем документе как "аминокислотные последовательности по изобретению", "соединения по изобретению" и "полипептиды по изобретению" соответственно).

Как далее описано в настоящем документе, предпочтительно аминокислотные последовательности по изобретению представляют собой одиночные вариабельные домены иммуноглобулинов (ISV). Одиночный вариабельный домен иммуноглобулина представляет собой аминокислотную последовательность, которая

содержит иммуноглобулиновую укладку или которая в подходящих условиях (таких как физиологические условия) способна формировать иммуноглобулиновую укладку (т.е. посредством фолдинга), т.е. так, чтобы сформировать вариабельный домен иммуноглобулина (например, такой как домен V_H , V_L или V_{HH});

и формирует (или в таких подходящих условиях способна формировать) вариабельный домен иммуноглобулина, обладающий функциональной активностью связывания антигена (в том смысле, что для формирования функционального антигенсвязывающего участка он не нуждается во взаимодействии с другим вариабельным доменом иммуноглобулина (таким как взаимодействие V_H - V_L)).

Аминокислотные последовательности по изобретению, представляющие собой ISV, в настоящем документе также обозначают как "ISV по изобретению". Некоторые предпочтительные примеры одиночных вариабельных доменов иммуноглобулинов, подходящих для использования по изобретению, станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе, и, например, включают V_{HH} и/или (другие) нанотела (предпочтительно), такие как гуманизированные V_{HH} или камелизированные V_H , такие как камелизированные V_H , dAb и (одно)доменные антитела человека.

Изобретение также относится к нуклеиновым кислотам, кодирующим такие аминокислотные последовательности и полипептиды (также обозначаемым в настоящем документе как "нуклеиновые кислоты по изобретению" или "нуклеотидные последовательности по изобретению"); к способам получения таких аминокислотных последовательностей и полипептидов; к клеткам-хозяевам, экспрессирующим или способным экспрессировать такие аминокислотные последовательности или полипептиды; к композициям и, в частности, к фармацевтическим композициям, которые содержат такие аминокислотные последовательности, полипептиды, нуклеиновые кислоты и/или клетки-хозяева; и к применениям таких аминокислотных последовательностей или полипептидов, нуклеиновых кислот, клеток-хозяев и/или композиций, в частности, в профилактических, терапевтических или диагностических целях, таких как профилактические, терапевтические или диагностические цели, указанные в настоящем документе.

Другие аспекты, варианты осуществления, преимущества и применения изобретения станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе. На всем протяжении этого описания приведены несколько документов. Каждый из документов, приведенных в настоящем документе (включая все патенты, патентные заявки, научные публикации, описания производителей, инструкции и т.д.) выше или ниже, таким образом, включены в качестве ссылки в полном объеме. Ничто в настоящем документе не следует истолковывать, как допущение, что изобретение не имеет права предшествовать такому описанию в силу предшествующего изобретения.

Интерлейкин-17A (IL-17A, также обозначаемый в литературе как IL-17) представляет собой происходящую из Т-клеток провоспалительную молекулу, которая стимулирует продукцию других воспалительных цитокинов и хемокинов, включая IL-6, IL-8, G-CSF и MCP-1, эпителиальными, эндотелиальными и фибробластными клетками [см., Yao, Z. et al., J. Immunol., 122 (12): 5483-5486 (1995); Yao, Z. et al., Immunity, 3 (6): 811-821 (1995); Fossiez, F., et al., J. Exp. Med., 183 (6): 2593-2603 (1996); Kennedy, J., et al., J. Interferon Cytokine Res., 16 (8): 611-7 (1996); Cai, X.Y., et al., Immunol. Lett., 62 (1): 51-8 (1998); Jovanovic, D.V., et al., J. Immunol., 160 (7): 3513-21 (1998); Laan, M., et al., J. Immunol., 162 (4): 2347-52 (1999); Linden, A., et al., Eur Respir J, 15 (5): 973-7 (2000); and Aggarwal, S. and Gurney, A.L., J. Leukoc Biol., 71 (1): 1-8 (2002)]. IL-17A также синергично действует с другими цитокинами, включая TNF- α и IL-1 β , дополнительно индуцируя экспрессию хемокинов (Chabaud, M., et al., J. Immunol. 161 (1): 409-14 (1998)). IL-17A демонстрирует плеiotропные виды биологической активности на различные типы клеток. IL-17A также обладает способностью индуцировать экспрессию ICAM-1 на поверхности клеток, пролиферацию Т-клеток и рост и дифференцировку CD34+ предшественников у человека в нейтрофилы. IL-17A также вовлечен в метаболизм кости, и предположено, что он играет важную роль в патологических состояниях, характеризующихся присутствием активированных Т-клеток и продукцией TNF- α , таких как ревматоидный артрит и разрыхление костных имплантатов (Van Bezooijen et al., J. Bone Miner. Res., 14: 1513-1521 [1999]). Выявлено, что активированные Т-клетки синовиальной ткани, получаемые у пациентов с ревматоидным артритом, по сравнению с Т-клетками синовиальной ткани, получаемыми у здоровых индивидов или пациентов с остеоартритом, секретируют увеличенные количества IL-17A (Chabaud et al., Arthritis Rheum., 42: 963-970 [1999]). Предположено, что этот провоспалительный цитокин активно уча-

ствует в воспалении синовиальной ткани при ревматоидном артрите. Кроме его провоспалительной роли, IL-17A, по-видимому, участвует в патологии ревматоидного артрита посредством другого механизма. Например, показано, что IL-17A индуцирует экспрессию мРНК фактора дифференцировки остеокластов (ODF) в остеобластах (Kotake et al., J. Clin. Invest., 103: 1345-1352 [1999]). ODF стимулирует дифференцировку клеток-предшественников в остеокласты, клетки, вовлеченные в резорбцию кости. Так как уровень IL-17A в синовиальной жидкости пациентов с ревматоидным артритом значительно возрастает, полагают, что индуцированное IL-17A формирование остеокластов играет критическую роль в резорбции кости при ревматоидном артрите. Также полагают, что IL-17A играет ключевую роль в некоторых других аутоиммунных нарушениях, таких как рассеянный склероз (Matusevicius et al., Mult. Scler., 5: 101-104 (1999); Kurasawa, K., et al., Arthritis Rheu 43 (11): 2455-63 (2000)) и псориаз (Teunissen, M.B., et al., J. Invest. Dermatol. 111 (4): 645-9 (1998); Albanesi, C., et al., J. Invest. Dermatol. 115 (1): 81-7 (2000); и Homey, B., et al., J. Immunol. 164 (12): 6621-32 (2000)).

Посредством межклеточной сигнализации дополнительно показано, что IL-17A стимулирует приток Ca^{2+} и снижение [цАМФ] в макрофагах человека (Jovanovic et al., J. Immunol., 160: 3513 [1998]). IL-17A индуцирует активацию NF- κ B в фибробластах, [Yao et al., Immunity, 3: 811 (1995), Jovanovic et al., выше], при этом в макрофагах он индуцирует активацию NF- κ B и митоген-активируемых протеинкиназ (Shalom-Barek et al., J. Biol. Chem., 273: 27467 [1998]). Кроме того, IL-17A также обладает сходством последовательностей с цитокиноподобным фактором 7 млекопитающих, вовлеченным в рост костей и суставов.

В настоящее время интерлейкин 17A считают прототипическим представителем возрастающего семейства цитокинов (см. обзор Gaffen, 2009, Nature Review Immunology 9:556-567).

Крупномасштабное секвенирование геномов человека и других позвоночных выявило присутствие дополнительных генов, кодирующих белки, явно родственные IL-17A, таким образом, определяя новое семейство цитокинов. У людей и мышей существует по меньшей мере 6 представителей семейства IL-17, включающих IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E и IL-17F, а также 6 связанных рецепторов IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC (также известного как IL-17RL), IL-17RD и IL-17RF (Gaffen, там же). Показано, что один такой представитель IL-17 (обозначаемый IL-17F) связывается с рецептором IL-17 (IL-17R) человека (Yao et al., Cytokine, 9 (11): 794-800 (1997)). Начальное определение характеристик позволяют предположить, что, подобно IL-17A, некоторые из этих вновь идентифицированных молекул обладают способностью модулировать иммунную функцию. Сильное воспалительное действие, которое идентифицировано для некоторых из этих факторов и выявляемые связи со значительными заболеваниями человека, позволяет предположить, что эти белки могут играть значительные роли в воспалительных процессах и могут открывать возможности для терапевтического вмешательства.

Ген, кодирующий IL-17F человека, расположен рядом с геном, кодирующим IL-17A (Hymowitz, S.G., et al., Embo J., 20 (19): 5332-41 (2001)). IL-17A и IL-17F содержат приблизительно 50% идентичных аминокислот, тогда как другие представители семейства IL-17 содержат более ограниченные 15-27% идентичные аминокислоты, что позволяет предположить, что IL-17A и IL-17F формируют явную подгруппу в семействе IL-17 (Starnes et al., J. Immunol., 167 (8): 4137-40 (2001); Aggarwal and Gurney J. Leukoc. Biol., 71 (1): 1-8 (2002)). По-видимому IL-17F обладает сходным с IL-17A биологическим действием и способен стимулировать продукцию IL-6, IL-8 и G-CSF в широком спектре клеток. Подобно IL-17A он способен индуцировать разрушение матрикса хряща и ингибировать синтез нового матрикса хряща (см. US-2002-0177188-A1, опубликованную 28 ноября 2002 г.). Таким образом, подобно IL-17A, IL-17F потенциально может вносить вклад в патологию воспалительных нарушений.

Недавно выявлено, что IL-17A и IL-17F индуцируются в Т-клетках под действием интерлейкина 23 (IL-23) (Aggarwal et al., J. Biol. Chem., 278 (3): 1910-4 (2003)). Выявление того, что IL-17A и IL-17F обладают сходной локализацией на хромосоме и значительным сходством последовательностей, а также выявление того, что IL-17A и IL-17F в ответ на специфические стимулы, по-видимому, индуцированы в одной и той популяции клеток, привело к идентификации нового цитокина человека, который состоит из ковалентного (посредством 2 дисульфидных связей) гетеродимера IL-17A и IL-17F (в настоящем документе обозначаемого IL-17A/F), также см. WO 05/010044, Wright et al., J. Biol. Chem., 282: 13447 (2007); Kawaguchi et al., J. Allergy Clin. Immunol., 114: 1265 (2004); и Kolls, J.K. et al., Immunity, 21: 467 (2004).

Аминокислотные последовательности, полипептиды и композиции по настоящему изобретению, как правило, можно использовать для модуляции и, в частности, ингибирования и/или предотвращения связывания любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с комплексами IL-17RA и/или IL-17RC, и, таким образом, для модуляции и, в частности, ингибирования или предотвращения передачи сигнала, который опосредован связыванием любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с комплексами IL-17RA и/или IL-17RC, для модуляции биологических путей, в которые вовлечено связывание любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с комплексами IL-17RA и/или IL-17RC, и/или для модуляции биологических механизмов, ответа и эффектов, связанных с такой передачей сигнала или с этими путями. Хотя стехиометрия рецепторного комплекса IL-17 точно не определена, полагают, что IL-17A, IL-17F и IL-17A/F передают сигнал через димеры и/или тримеры IL-17RA и/или IL-17RC (Gaffen, там же.).

По существу, аминокислотные последовательности, полипептиды и композиции по настоящему изобретению можно использовать для профилактики и лечения (как определено в настоящем документе) иммунологических заболеваний и нарушений (в настоящем документе, обозначаемых как "иммунологические заболевания и нарушения по изобретению"). Как правило, "иммунологические заболевания и нарушения по изобретению" можно определять как заболевания и нарушения, которые можно предотвращать и/или лечить, соответственно, посредством надлежащего введения нуждающемуся в этом индивидууму (т.е. с заболеванием, или нарушением, или по меньшей мере с одним из его симптомов, и/или с риском возникновения или развития заболевания или нарушения) полипептида или композиции по изобретению (и, в частности, их фармацевтически активного количества) и/или известного активного средства, активного против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или биологического пути или механизма в которые вовлечены любые из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (и, в частности, их фармацевтически активные количества). Примеры таких иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе и, например, включают следующие заболевания и нарушения: системную красную волчанку, ревматоидный артрит, остеоартрит, юношеский хронический артрит, спондилоартропатии, системный склероз, идиопатические воспалительные миопатии, синдром Шегрена, системный васкулит, саркоидоз, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунную тромбоцитопению, тиреоидит, сахарный диабет, иммуноопосредованное заболевание почек, демиелинизирующие заболевания центральной и периферической нервной системы, такие как рассеянный склероз, идиопатическая демиелинизирующая полинейропатия или синдром Гийена-Барре и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезни желчи и желчных путей, такие как инфекционный аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительное заболевание кишечника, глютенчувствительную энтеропатию и болезнь Уиппла, аутоиммунные или иммуноопосредованные заболевания кожи, включая буллезные заболевания кожи, полиморфную эритему и контактный дерматит, псориаз, аллергические заболевания, такие как астма, аллергический ринит, атопический дерматит, гиперчувствительность к пище и крапивница, иммунологические заболевания легких, такие как эозинофильная пневмония, идиопатический легочный фиброз и гиперчувствительный пневмонит, связанные с трансплантацией заболевания, включая отторжение трансплантата и реакция "трансплантат против хозяина".

Конкретно, аминокислотные последовательности, полипептиды и композиции по настоящему изобретению можно использовать для профилактики и лечения иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению, которые характеризуются избыточной и/или нежелательной передачей сигнала, опосредуемой любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или по пути(ям), в который вовлечен любой из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Примеры таких иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению также станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе.

Таким образом, без дополнительных ограничений, аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению можно использовать, например, для профилактики и/или лечения всех заболеваний и нарушений, которые в настоящее время предотвращают или лечат активными средствами, способными модулировать опосредованную любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, передачу сигнала, таких как заболевания и нарушения, приводимые на известном уровне техники, приведенном выше. Также предусмотрено, что полипептиды по изобретению можно использовать для профилактики и/или лечения всех заболеваний и нарушений, для которых в настоящее время разрабатывают, предлагают или будут предлагать или разрабатывать в будущем лечение такими активными средствами. Кроме того, как далее описано в настоящем документе, предусмотрено, что вследствие их полезных свойств полипептиды по настоящему изобретению можно использовать для профилактики и лечения других заболеваний и нарушений, чем заболевания и нарушения, для которых эти известные активные средства используют или будут предложены или разработаны; и/или что полипептиды по настоящему изобретению могут обеспечивать новые способы и схемы лечения для лечения заболеваний и нарушений, описываемых в настоящем документе.

Другие приложения и применения аминокислотных последовательностей и полипептидов по изобретению станут понятны специалисту из дальнейшего описания в настоящем документе.

В основном целью изобретения является предоставление фармакологически активных средств, а также содержащих их композиций, которые можно использовать для диагностики, профилактики и/или лечения иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению и других заболеваний и нарушений, указываемых в настоящем документе; и предоставление способов диагностики, профилактики и/или лечения таких заболеваний и нарушений, которые включают введение и/или применение таких средств и композиций.

Конкретно, целью изобретения является предоставление таких фармакологически активных средств, композиций и/или способов, которые обладают определенными преимуществами по сравнению со средствами, композициями и/или способами, которые применяют и/или которые известны в данной области. Эти преимущества станут понятны из дальнейшего приводимого ниже описания.

Более конкретно, целью изобретения является предоставление терапевтических белков, которые можно использовать в качестве фармакологически активных средств, а также содержащих их композиций для диагностики, профилактики и/или лечения иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению и других заболеваний и нарушений, указываемых в настоящем документе; и предоставление способов диагностики, профилактики и/или лечения таких заболеваний и нарушений, которые включают введение и/или применение таких терапевтических белков и композиций.

Таким образом, конкретной целью настоящего изобретения является получение аминокислотных последовательностей, направленных против (как определено в настоящем документе) любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, в частности против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, теплокровного животного, более конкретно против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, млекопитающего, и особенно против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания; и получение белков и полипептидов, содержащих или, по существу, состоящих по меньшей мере из одной такой аминокислотной последовательности.

В частности, конкретной целью настоящего изобретения является получение таких аминокислотных последовательностей и таких белков и/или полипептидов, которые подходят для профилактического, терапевтического и/или диагностического применения у теплокровного животного и, в частности, у млекопитающего, а более конкретно у человека.

Более конкретно целью настоящего изобретения является получение таких аминокислотных последовательностей и таких белков и/или полипептидов, которые можно использовать для профилактики, лечения, облегчения и/или диагностики одного или нескольких заболеваний, нарушений или состояний, связанных с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или опосредуемых любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (таких как заболевания, нарушения и состояния, указываемые в настоящем документе) у теплокровного животного, в частности у млекопитающего, а более конкретно у человека.

Также конкретной целью изобретения является получение таких аминокислотных последовательностей и таких белков и/или полипептидов, которые можно использовать при получении фармацевтических или ветеринарных композиций для профилактики и/или лечения одного или нескольких заболеваний, нарушений или состояний, связанных с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или опосредуемых ими (таких как заболевания, нарушения и состояния, указываемые в настоящем документе) у теплокровного животного, в частности у млекопитающего, а более конкретно у человека.

Этих целей в изобретении в основном достигают посредством использования аминокислотных последовательностей, белков, полипептидов и композиций, описываемых в настоящем документе. Как указано, аминокислотные последовательности, используемые в изобретении, предпочтительно представляют собой одиночные вариabельные домены иммуноглобулинов или ISV, как описано в настоящем документе, а белки и полипептиды, используемые в изобретении, предпочтительно представляют собой белки и полипептиды, которые содержат один или несколько таких одиночных вариabельных доменов иммуноглобулинов.

В основном изобретение относится к аминокислотным последовательностям (и предпочтительно ISV), которые направлены против (как определено в настоящем документе) и/или могут специфически связывать (как определено в настоящем документе) любой из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; а также к соединениям и конструкциям и, в частности, белкам и полипептидам, которые содержат по меньшей мере одну такую аминокислотную последовательность.

Более конкретно изобретение относится к аминокислотным последовательностям (и предпочтительно ISV), которые могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительно-го или кажущегося), значения K_A (действительного или кажущегося), константы скорости прямой реакции k_{on} и/или константы скорости обратной реакции k_{off} или, альтернативно, в виде значения IC_{50} , как далее описано в настоящем документе), как определено в настоящем документе; а также к соединениям и конструкциям и, в частности, к белкам и полипептидам, которые содержат по меньшей мере одну такую аминокислотную последовательность.

Конкретно, аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению предпочтительно являются такими, что они

связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, такой как от 10^{-5} до 10^{-15} моль/л и предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее, такой как от 10^{-7} до 10^{-15} моль/л и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л или от 10^{-8} до 10^{-15} моль/л (т.е. с константой ассоциации (K_A) от 10^5 до 10^{12} л/моль или более, такой как от 10^5 до 10^{15} л/моль и предпочтительно от 10^7 до 10^{12} л/моль или более, такой как от 10^7 до 10^{15} л/моль и более предпочтительно от 10^8 до 10^{12} л/моль или от 10^8 до 10^{15} л/моль);

и/или такими что, они

связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой скорости прямой реакции k_{on} от 10^2 до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более

предпочтительно от 10^4 до $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, такой как от 10^5 до $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$;

и/или такими что, они

связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой скорости обратной реакции k_{off} от 1 s^{-1} ($t_{1/2}=0,69 \text{ с}$) до 10^{-6} s^{-1} (что обеспечивает почти необратимый комплекс с $t_{1/2}$ длительностью нескольких суток), предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6} s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6} s^{-1} , такой как от 10^{-4} до 10^{-6} s^{-1} .

Предпочтительно одновалентная аминокислотная последовательность по изобретению (или полипептид, содержащий только одну аминокислотную последовательность по изобретению), предпочтительно является такой, что она связывается с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 или 1 нМ, такой как менее 500 пМ.

Некоторые предпочтительные значения IC_{50} для связывания аминокислотных последовательностей или полипептидов по изобретению с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, станут понятны из дальнейшего описания и примеров в настоящем документе.

Следует отметить, что как используют в настоящем документе "может специфически связываться с" и "специфически связывается с" используют в качестве синонимов, и они относятся к способности к специфическому связыванию с соответственной указанной молекулой.

Для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, аминокислотная последовательность по изобретению, как правило, содержит в своей аминокислотной последовательности один или несколько аминокислотных остатков или один или несколько фрагментов из аминокислотных остатков (т.е. где каждый "фрагмент" содержит два или более аминокислотных остатка, которые примыкают друг к другу или находятся в непосредственной близости друг к другу, т.е. в первичной или третичной структуре аминокислотной последовательности), посредством которых аминокислотная последовательность по изобретению может связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, где эти аминокислотные остатки или фрагменты из аминокислотных остатков, таким образом, формируют "участок" связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (также обозначаемый в настоящем документе как "антигенсвязывающий участок").

Аминокислотные последовательности, предоставленные в изобретении, предпочтительно находятся, по существу, в выделенной форме (как определено в настоящем документе) или формируют часть белка или полипептида по изобретению (как определено в настоящем документе), которые могут содержать или, по существу, состоят из одной или нескольких аминокислотных последовательностей по изобретению и которые необязательно могут дополнительно содержать одну или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей (которые все необязательно связаны одним или несколькими подходящими линкерами). Например, и без ограничения, одну или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению можно использовать в качестве связывающей единицы в таких белке или полипептиде, которые могут необязательно содержать одну или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей, которые могут служить в качестве связывающей единицы (т.е. против одной или нескольких других мишеней, отличающихся от любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания), так, чтобы получить одновалентный, поливалентный или полиспецифический полипептид по изобретению, соответственно, все как описано в настоящем документе. Такие белок или полипептид также могут находиться, по существу, в выделенной форме (как определено в настоящем документе).

Аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению, предпочтительно, по существу, состоят из одной аминокислотной цепи, которая не связана ни с одной другой аминокислотной последовательностью или цепью посредством дисульфидных мостиков (но которая может содержать или не содержать один или несколько внутримолекулярных дисульфидных мостиков. Например, известно, что нанотела, как описано в настоящем документе, иногда могут содержать дисульфидный мостик между CDR3 и CDR1 или FR2). Однако следует отметить, что одна или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению могут быть связаны друг с другом и/или с другими аминокислотными последовательностями (например, посредством дисульфидных мостиков) с получением пептидных конструкций, которые также могут подходить по изобретению (например, фрагментов Fab', фрагментов F(ab')_2 , конструкций ScFv, "диател" и других полиспецифических конструкций. Например, приведена ссылка на обзор Holliger and Hudson, Nat. Biotechnol. 2005 Sep; 23(9):1126-36).

Как правило, когда аминокислотная последовательность по изобретению (или содержащие ее соединение, конструкция или полипептид) предназначена для введения индивидууму (например, с терапевтическими и/или диагностическими целями, как описано в настоящем документе), предпочтительно она представляет собой или аминокислотную последовательность, которая не встречается у указанного индивидуума в природе; или, когда она встречается у указанного индивидуума в природе, она находится, по существу, в выделенной форме (как определено в настоящем документе).

Также специалисту понятно, что для фармацевтического применения аминокислотные последовательности по изобретению (а также содержащие их соединения, конструкции и полипептиды) предпочтительно направлены против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания;

тогда как для ветеринарных целей аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению предпочтительно направлены против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, любых видов, подлежащих лечению, или, по меньшей мере, перекрестно реагируют с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, любых видов, подлежащих лечению.

Кроме того, аминокислотная последовательность по изобретению необязательно и в дополнение по меньшей мере к одному участку связывания для связывания любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, может содержать один или несколько дополнительных участков связывания для связывания других антигенов, белков или мишеней.

В настоящем описании и формуле изобретения приведенные ниже термины определяют так, как определено ниже.

А) Последовательности, подобные 04G01. "Последовательность, подобная 04G01", "ISV, подобный 04G01" или "структурный элемент, подобный 04G01" определены как ISV (как описано в настоящем документе), который содержит

а) CDR1, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности IHVMG или (ii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности IHVMG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

б) CDR2, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности LIFSGGSADYADSVKG или (ii) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности LIFSGGSADYADSVKG; или (iii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности LIFSGGSADYADSVKG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

с) CDR3, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности EIGYYSGGTYYSSEAH или (ii) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности EIGYYSGGTYYSSEAH; или (iii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности EIGYYSGGTYYSSEAH аминокислоты (как определено в настоящем документе);

в котором каркасные последовательности, присутствующие в таком ISV, являются такими, как далее описано в настоящем документе, и в котором CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, таких, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, такого, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

Предпочтительно в такой последовательности, подобной 04G01, CDR1 и CDR2 являются такими, как определено в а) и б) соответственно; или CDR1 и CDR3 являются такими, как определено в а) и с) соответственно; или CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в б) и с) соответственно. Более предпочтительно в такой последовательности, подобной 04G01, все CDR1, CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в а), б) и с) соответственно. Кроме того, в такой последовательности, подобной 04G01, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ, или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

Например, в такой последовательности, подобной 04G01, CDR1 может содержать или, по существу,

состоит из аминокислотной последовательности IHVMG (с CDR2 и CDR3, являющимися такими, как определено в b) и c) соответственно); и/или CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности LIFSGGSADYADSVKG (с CDR1 и CDR3, являющимися такими, как определено в a) и c) соответственно); и/или CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности EIGYYSGGTYYSSEAH (с CDR1 и CDR2, являющимися такими, как определено в a) и b) соответственно). В частности, когда последовательность, подобная 04G01, соответствует этому аспекту, CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности IHVMG, а CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности LIFSGGSADYADSVKG (с CDR3, являющимися такими, как определено в c) выше); и/или CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности IHVMG, а CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности EIGYYSGGTYYSSEAH (с CDR2, являющимися такими, как определено в b) выше); и/или CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности LIFSGGSADYADSVKG, а CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности EIGYYSGGTYYSSEAH (с CDR1, являющимися такими, как определено в a) выше). Кроме того, в таких последовательностях, подобных 04G01, CDR1, CDR2 и CDR3, предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphasteen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

В особенно предпочтительном аспекте "последовательность, подобная 04G01", "ISV, подобный 04G01" или "структурный элемент, подобный 04G01" представляют собой ISV, который содержит:

d) CDR1, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность IHVMG или (ii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности IHVMG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

e) CDR2, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность LIFSGGSADYADSVKG или (ii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности LIFSGGSADYADSVKG; или (iii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности LIFSGGSADYADSVKG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

f) CDR3, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность EIGYYSGGTYYSSEAH или (ii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности EIGYYSGGTYYSSEAH; или (iii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности EIGYYSGGTYYSSEAH аминокислоты (как определено в настоящем документе);

в котором каркасные последовательности, присутствующие в таком ISV, являются такими, как далее описано в настоящем документе, и в котором CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphasteen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ, или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

Предпочтительно в последовательности, подобной 04G01, по этому особенно предпочтительному аспекту CDR1 и CDR2 являются такими, как определено в d) и e) соответственно; или CDR1 и CDR3 являются такими, как определено в d) и f) соответственно; или CDR2 и CDR3 являются такими, как опре-

делено в е) и f) соответственно. Более предпочтительно в такой последовательности, подобной 04G01, все CDR1, CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в d), е) и f) соответственно. Кроме того, в такой последовательности, подобной 04G01, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

Например, в последовательности, подобной 04G01, по этому особенно предпочтительному аспекту CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность IHVMG (с CDR2 и CDR3, являющимися такими, как определено в е) и f) соответственно); и/или CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность LIFSGGSADYADSVKG (с CDR1 и CDR3, являющимися такими, как определено в d) и f) соответственно); и/или CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность EIGY-YSGGTYYSSEAH (с CDR1 и CDR2, являющимися такими, как определено в d) и е) соответственно). В частности, когда последовательность, подобная 04G01, соответствует этому аспекту, CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность IHVMG, а CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность LIFSGGSADYADSVKG (с CDR3, являющимися такими, как определено в f) выше); и/или CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность IHVMG, а CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность EIGYYSGGTYYSSEAH (с CDR2, являющимися такими, как определено в е) выше); и/или CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность LIFSGGSADYADSVKG, а CDR3 представляет собой EIGYYSGGTYYSSEAH (с CDR1, являющимися такими, как определено в d) выше). Кроме того, в таких последовательностях, подобных 04G01, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

В особенно предпочтительной последовательности, подобной 04G01, CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность IHVMG, CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность LIFSGGSADYADSVKG, а CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность EIGYYSGGTYYSSEAH.

Во всей последовательности, подобной 04G01, описанной в этом разделе A), каркасные последовательности могут быть такими, как далее описано в настоящем документе. Предпочтительно каркасные последовательности являются такими, что каркасные последовательности по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90%, например по меньшей мере на 95% идентичны по последовательности с каркасными последовательностями 04G01 (что можно определять, например, определяя общую степень идентичности последовательностей данной последовательности с последовательностью 04G01, не учитывая в расчете CDR). Кроме того, комбинация CDR и каркасов, присутствующих в данной последовательности, предпочтительно является такой, что получаемый в результате ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7

или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

В одном конкретном аспекте последовательность, подобная 04G01, представляет собой ISV, который по меньшей мере на 70%, например по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентичен по последовательности с SEQ ID NO: 635. Например, в последовательности, подобной 04G01, по этому аспекту CDR могут соответствовать особенно предпочтительному аспекту, описанному выше, и в частности, (но без ограничения) могут представлять собой IHVMG (CDR1); LIFSGGSADYADSVKG (CDR2) и EIGYYSGGTYYSEAH (CDR3). Кроме того, предпочтительно комбинация CDR и каркасов, присутствующая в таком ISV, подобном 04G01, предпочтительно является такой, что получаемый в результате ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 04G01, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

В одном из конкретных аспектов любую последовательность, подобную 04G01, можно гуманизировать и/или у нее можно оптимизировать последовательность, как далее описано в настоящем документе.

В) Последовательности, подобные 16A04. "Последовательность, подобная 16A04", "ISV, подобный 16A04" или "структурный элемент, подобный 16A04" определяют как ISV (как описано в настоящем документе), который содержит:

а) CDR1, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности SVVG или (ii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 2 или (предпочтительно) 1 отличные от аминокислотной последовательности SVVG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

б) CDR2, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности AISGSGDSIYYAVSEKD или (ii) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности AISGSGDSIYYAVSEKD; или (iii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности AISGSGDSIYYAVSEKD аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

с) CDR3, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности DQEFGLRFRSEY или (ii) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности DQEFGLRFRSEY; или (iii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности DQEFGLRFRSEY аминокислоты (как определено в настоящем документе);

в котором каркасные последовательности, присутствующие в таком ISV, являются такими, как далее описано в настоящем документе, и в котором CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, таким как описан в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 300 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 180, 175, 160 или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 65, 60 или 55 нМ или даже еще предпочтительнее менее 50 нМ.

Предпочтительно в такой последовательности, подобной 16A04, CDR1 и CDR2 являются такими, как определено в а) и б) соответственно; или CDR1 и CDR3 являются такими, как определено в а) и с) соответственно; или CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в б) и с) соответственно. Более

предпочтительно в такой последовательности, подобной 16A04, все CDR1, CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в а), b) и с) соответственно. Кроме того, в такой последовательности, подобной 16A04, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, таким как описан в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 300 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 180, 175, 160 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 65, 60 или 55 нМ или даже еще предпочтительнее менее 50 нМ.

Например, в такой последовательности, подобной 16A04, CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности SVVG (с CDR2 и CDR3, являющимися такими, как определено в b) и с) соответственно); и/или CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности AISGSGDSIYYAVSEKD (с CDR1 и CDR3, являющимися такими, как определено в а) и с) соответственно); и/или CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности DQEFGYLRFGRSEY (с CDR1 и CDR2, являющимися такими, как определено в а) и b) соответственно). В частности, когда последовательность, подобная 16A04, соответствует этому аспекту, CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности SVVG, а CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности AISGSGDSIYYAVSEKD (с CDR3, являющимися такими, как определено в с) выше); и/или CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности SVVG, а CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности DQEFGYLRFGRSEY (с CDR2, являющимися такими, как определено в b) выше); и/или CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности AISGSGDSIYYAVSEKD, а CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности DQEFGYLRFGRSEY (с CDR1, являющимися такими, как определено в а) выше). Кроме того, в таких последовательностях, подобных 16A04, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, таким как описан в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 300 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 180, 175, 160 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 65, 60 или 55 нМ или даже еще предпочтительнее менее 50 нМ.

В особенно предпочтительном аспекте "последовательность, подобная 16A04", "ISV, подобный 16A04" или "структурный элемент, подобный 16A04" представляют собой ISV, который содержит:

d) CDR1, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность SVVG или (ii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 2 или (предпочтительно) 1 отличные от аминокислотной последовательности SVVG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

e) CDR2, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность AISGSGDSIYYAVSEKD или (ii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности AISGSGDSIYYAVSEKD; или (iii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности AISGSGDSIYYAVSEKD аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

f) CDR3, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность DQEFGYLRFGRSEY или (ii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности DQEFGYLRFGRSEY; или (iii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности DQEFGYLRFGRSEY аминокислоты (как определено в настоящем документе);

в котором каркасные последовательности, присутствующие в таком ISV, являются такими, как далее описано в настоящем документе, и в котором CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, таким как описан в примере 9. Предпочтительно, ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 300 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 180, 175, 160 или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 65, 60 или 55 нМ или даже еще предпочтительнее менее 50 нМ.

Предпочтительно в последовательности, подобной 16A04, по этому особенно предпочтительному аспект, CDR1 и CDR2 являются такими, как определено в d) и e) соответственно; или CDR1 и CDR3 являются такими, как определено в d) и f) соответственно; или CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в e) и f) соответственно. Более предпочтительно в такой последовательности, подобной 16A04, все CDR1, CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в d), e) и f) соответственно. Кроме того, в такой последовательности, подобной 16A04, CDR1, CDR2 и CDR3, предпочтительно, являются такими, что ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, таким как описан в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 300 нМ, более предпочтительно, менее 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 180, 175, 160 или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно, менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 65, 60 или 55 нМ, или даже еще предпочтительнее менее 50 нМ.

Например, в последовательности, подобной 16A04, по этому особенно предпочтительному аспекту: CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность SVVG (с CDR2 и CDR3, являющимися такими, как определено в e) и f) соответственно);

и/или CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность AISGSGDSIYYAVSEKD (с CDR1 и CDR3, являющимися такими, как определено в d) и f) соответственно);

и/или CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность DQEFGYLRFRSEY (с CDR1 и CDR2, являющимися такими, как определено в d) и e) соответственно). В частности, когда последовательность, подобная 16A04, соответствует этому аспекту, CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность SVVG, а CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность AISGSGDSIYYAVSEKD (с CDR3, являющимися такими, как определено в f) выше); и/или CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность SVVG, а CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность DQEFGYLRFRSEY (с CDR2, являющимися такими, как определено в e) выше); и/или CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность AISGSGDSIYYAVSEKD, а CDR3 представляет собой DQEFGYLRFRSEY (с CDR1, являющимися такими, как определено в d) выше). Кроме того, в таких последовательностях, подобных 16A04, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, таким как описан в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 300 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 180, 175, 160 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 65, 60 или 55 нМ, или даже еще предпочтительнее менее 50 нМ.

В особенно предпочтительной последовательности, подобной 16A04, CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность SVVG, CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность AISGSGDSIYYAVSEKD, а CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность

DQEFGYLRFRGRSEY.

Во всей последовательности, подобной 16A04, описанной в этом разделе B), каркасные последовательности могут быть такими, как далее описано в настоящем документе. Предпочтительно каркасные последовательности являются такими, что каркасные последовательности по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90%, например по меньшей мере на 95% идентичны по последовательности с каркасными последовательностями 16A04 (что можно определять, например, определяя общую степень идентичности последовательностей данной последовательности с последовательностью 16A04, не учитывая в расчете CDR). Кроме того, комбинация CDR и каркасов, присутствующих в данной последовательности, предпочтительно является такой, что получаемый в результате ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, таким как описан в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 300 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 180, 175, 160 или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 65, 60 или 55 нМ или даже еще предпочтительнее менее 50 нМ.

В одном конкретном аспекте последовательность, подобная 16A04, представляет собой ISV, который по меньшей мере на 70%, например по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентичен по последовательности с SEQ ID NO: 648. Например, в последовательности, подобной 16A04, по этому аспекту CDR могут соответствовать особенно предпочтительному аспекту, описанному выше, и, в частности (но без ограничения), могут представлять собой SVVG (CDR1); AISGSGDSIYYAVSEKD (CDR2) и DQEFGYLRFRGRSEY (CDR3). Кроме того, предпочтительно комбинация CDR и каркасов, присутствующая в таком ISV, подобном 16A04, предпочтительно является такой, что получаемый в результате ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, таким как описан в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 300 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 180, 175, 160 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 16A04, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 65, 60 или 55 нМ или даже еще предпочтительнее менее 50 нМ.

В одном из конкретных аспектов любая последовательность, подобная 16A04, может представлять собой гуманизированную последовательность, как далее описано в настоящем документе.

С) Последовательности, подобные 13B03. "Последовательность, подобная 13B03", "ISV", подобный 13B03" или "структурный элемент, подобный 13B03" определяют как ISV (как описано в настоящем документе), который содержит:

а) CDR1, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности INWFG или (ii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности INWFG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

б) CDR2, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности GIRWSDAYTEYANSVKG или (ii) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности GIRWSDAYTEYANSVKG; или (iii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности GIRWSDAYTEYANSVKG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

с) CDR3, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности DLSTVRY или (ii) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности DLSTVRY; или (iii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности DLSTVRY аминокислоты (как определено в настоящем документе);

в котором каркасные последовательности, присутствующие в таком ISV, являются такими, как далее описано в настоящем документе, и в котором CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 350 нМ, более предпочтительно менее 300 нМ, 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 175, 160 или 155 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 30 нМ.

Предпочтительно в такой последовательности, подобной 13B03, CDR1 и CDR2 являются такими, как определено в а) и б) соответственно; или CDR1 и CDR3 являются такими, как определено в а) и с) соответственно; или CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в б) и с) соответственно. Более предпочтительно в такой последовательности, подобной 13B03, все CDR1, CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в а), б) и с) соответственно. Кроме того, в такой последовательности, подобной 13B03, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 350 нМ, более предпочтительно менее 300 нМ, 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 175, 160 или 155 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 30 нМ.

Например, в такой последовательности, подобной 13B03, CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности INWFG (с CDR2 и CDR3, являющимися такими, как определено в б) и с) соответственно); и/или CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности GIRWSDAYTEYANSVKG (с CDR1 и CDR3, являющимися такими, как определено в а) и с) соответственно); и/или CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности DLSTVRY (с CDR1 и CDR2, являющимися такими, как определено в а) и б) соответственно). В частности, когда последовательность, подобная 13B03, соответствует этому аспекту, CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности INWFG, а CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности GIRWSDAYTEYANSVKG (с CDR3, являющимися такими, как определено в с) выше); и/или CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности INWFG, а CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности DLSTVRY (с CDR2, являющимися такими, как определено в б) выше); и/или CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности GIRWSDAYTEYANSVKG, а CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности DLSTVRY (с CDR1, являющимися такими, как определено в а) выше). Кроме того, в таких последовательностях, подобных 13B03, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-

1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 350 нМ, более предпочтительно менее 300 нМ, 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 175, 160 или 155 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 30 нМ.

В особенно предпочтительном аспекте "последовательность, подобная 13B03", "ISV, подобный 13B03" или "структурный элемент, подобный 13B03" представляют собой ISV, который содержит:

d) CDR1, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность INWFG или (ii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности INWFG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

e) CDR2, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность GIRWSDAYTEY-ANSVKG или (ii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности GIRWSDAYTEYANSVKG; или (iii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности GIRWSDAYTEYANSVKG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

f) CDR3, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность DLSTVRY или (ii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности DLSTVRY; или (iii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности DLSTVRY аминокислоты (как определено в настоящем документе);

в котором каркасные последовательности, присутствующие в таком ISV, являются такими, как далее описано в настоящем документе, и в котором CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 350 нМ, более предпочтительно менее 300 нМ, 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 175, 160 или 155 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 30 нМ.

Предпочтительно в последовательности, подобной 13B03, по этому особенно предпочтительному аспекту, CDR1 и CDR2 являются такими, как определено в d) и e) соответственно; или CDR1 и CDR3 являются такими, как определено в d) и f) соответственно; или CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в e) и f) соответственно. Более предпочтительно в такой последовательности, подобной 13B03, все CDR1, CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в d), e) и f) соответственно. Кроме того, в такой последовательности, подобной 13B03, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 350 нМ, более предпочтительно менее 300 нМ, 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 175, 160 или 155 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 13B03,

обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 30 нМ.

Например, в последовательности, подобной 13B03, по этому особенно предпочтительному аспекту CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность INWFG (с CDR2 и CDR3, являющимися такими, как определено в e) и f) соответственно); и/или CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность GIRWSDAYTEYANSVKG (с CDR1 и CDR3, являющимися такими, как определено в d) и f) соответственно); и/или CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность DLSTVRY (с CDR1 и CDR2, являющимися такими, как определено в d) и e) соответственно). В частности, когда последовательность, подобная 13B03, соответствует этому аспекту: CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность INWFG, а CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность GIRWSDAYTEYANSVKG (с CDR3, являющимися такими, как определено в f) выше); и/или CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность INWFG, а CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность DLSTVRY (с CDR2, являющимися такими, как определено в e) выше); и/или CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность GIRWSDAYTEYANSVKG, а CDR3 представляет собой DLSTVRY (с CDR1, являющимися такими, как определено в d) выше). Кроме того, в таких последовательностях, подобных 13B03, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно, менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 350 нМ, более предпочтительно менее 300 нМ, 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 175, 160 или 155 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 30 нМ.

В особенно предпочтительной последовательности, подобной 13B03, CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность INWFG, CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность GIRWSDAYTEYANSVKG, а CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность DLSTVRY.

Во всей последовательности, подобной 13B03, описанной в этом разделе C), каркасные последовательности могут являться такими, как далее описано в настоящем документе. Предпочтительно каркасные последовательности являются такими, что каркасные последовательности по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90%, например по меньшей мере на 95% идентичны по последовательности с каркасными последовательностями 13B03 (что можно определять, например, определяя общую степень идентичности последовательностей данной последовательности с последовательностью 13B03, не учитывая в расчете CDR). Кроме того, комбинация CDR и каркасов, присутствующих в данной последовательности, предпочтительно является такой, что получаемый в результате ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 350 нМ, более предпочтительно менее 300 нМ, 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 175, 160 или 155 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 30 нМ.

В одном конкретном аспекте последовательность, подобная 13B03, представляют собой ISV, который по меньшей мере на 70%, например по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентичен по последовательности с SEQ ID NO: 662. Например, в последовательности, подобной 13B03, по этому аспекту CDR могут соответствовать особенно предпочтительному аспекту, описанному выше, и, в частности, (но без ограничения), могут представлять собой INWFG (CDR1); GIRWSDAYTEYANSVKG (CDR2) и DLSTVRY (CDR3). Кроме того, предпочтительно комбинация CDR и каркасов, присутствующая в таком ISV, подобном 13B03, предпочтительно является такой, что получаемый в результате ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 350 нМ, более предпочтительно менее 300 нМ, 250 нМ или даже менее, такой как менее 200 нМ или 175, 160 или 155 нМ или даже еще предпочтительнее менее 150 нМ, и/или ISV, подобный 13B03, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 30 нМ.

В одном из конкретных аспектов любую последовательность, подобную 13B03, можно гуманизировать и/или у нее можно оптимизировать последовательность, как далее описано в настоящем документе.

В этом контексте один дополнительный вариант осуществления изобретения также относится к полипептиду, содержащему:

(i) CDR2 с аминокислотной последовательностью GIRWSDAYTEYANSVKG; и/или

(ii) CDR3 с аминокислотной последовательностью DLSTVRY;

где последовательности CDR2 и CDR3 (i) и (ii) в общей сложности могут содержать до четырех делеций, вставок и/или замен одиночных аминокислот; и

где полипептид специфически связывается с IL-17A и/или IL-17F, и где предпочтительно полипептид специфически связывается с IL-17A с K_d менее 50 пМ и с IL-17F с K_d менее 5 нМ.

Предпочтительно полипептид по этому варианту осуществления специфически связывается по меньшей мере с одним эпитопом IL-17A, выбранным из аминокислот L74, Y85 и N88 IL-17A. Предпочтительно полипептид по этому варианту осуществления специфически связывается по меньшей мере с тремя эпитопами IL-17A, например, по меньшей мере, с аминокислотами L74, Y85 и N88 IL-17A (SEQ ID NO: 839).

Также предпочтителен полипептид, содержащий:

(iii) CDR2 с аминокислотной последовательностью GIRWSDAYTEYANSVKG; и/или

(iv) CDR3 с аминокислотной последовательностью DLSTVRY;

где последовательности CDR2 и CDR3 (i) и (ii) в общей сложности могут содержать до четырех делеций, вставок и/или замен одиночных аминокислот; и

где полипептид специфически связывается с IL-17A и/или IL-17F (каждый предпочтительно с K_d менее 5 нМ), но не с любым из IL-17B, IL-17C, IL-17D и IL-17E. Предпочтительно этот полипептид специфически связывается, по меньшей мере, с аминокислотами L74, Y85 и N88 IL-17A (SEQ ID NO: 839). Конечно также все указанные выше полипептиды, содержащие последовательности CDR2 и/или CDR3, можно использовать, и они эффективны для лечения заболеваний, как описано в настоящем документе.

D) Последовательности, подобные 13E02. "Последовательность, подобная 13E02", "ISV, подобный 13E02" или "структурный элемент, подобный 13E02" определяют как ISV (как описано в настоящем документе), который содержит:

a) CDR1, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности AMG или (ii) аминокислотной последовательности, которая содержит 1 отличную от аминокислотной последовательности AMG аминокислоту (как определено в настоящем документе); и/или

b) CDR2, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности AISGSGDDTYADSVKG; или (ii) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности AISGSGDDTYADSVKG; или (iii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности AISGSGDDTYADSVKG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

c) CDR3, которая содержит или, по существу, состоит из (i) аминокислотной последовательности RRGLYYVWDSNDYEN; или (ii) аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на

80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности RRGLYYVWDSNDYEN; или (iii) аминокислотной последовательности, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности RRGLYYVWDSNDYEN аминокислоты (как определено в настоящем документе);

в котором каркасные последовательности, присутствующие в таком ISV, являются такими, как далее описано в настоящем документе, и в котором CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 350 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ, 200 нМ или даже менее, такой как менее 175 нМ, 150, 140 или 125 нМ или даже еще предпочтительнее менее 110 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50, 40 или 30 нМ или даже еще предпочтительнее менее 25 нМ.

Предпочтительно в такой последовательности, подобной 13E02, CDR1 и CDR2 являются такими, как определено в а) и b) соответственно; или CDR1 и CDR3 являются такими, как определено в а) и с) соответственно; или CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в b) и с) соответственно. Более предпочтительно в такой последовательности, подобной 13E02, все CDR1, CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в а), b) и с) соответственно.

Кроме того, в такой последовательности, подобной 13E02, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 350 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ, 200 нМ или даже менее, такой как менее 175 нМ или 150, 140 или 125 нМ или даже еще предпочтительнее менее 110 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50, 40 или 30 нМ или даже еще предпочтительнее менее 25 нМ.

Например, в такой последовательности, подобной 13E02, CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности AMG (с CDR2 и CDR3, являющимися такими, как определено в b) и с) соответственно); и/или CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности AISGSGDDTYADSVKG (с CDR1 и CDR3, являющимися такими, как определено в а) и с) соответственно); и/или CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности RRGLYYVWDSNDYEN (с CDR1 и CDR2, являющимися такими, как определено в а) и b) соответственно). В частности, когда последовательность, подобная 13E02, соответствует этому аспекту, CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности AMG, а CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности AISGSGDDTYADSVKG (с CDR3, являющимися такими, как определено в с) выше); и/или CDR1 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности AMG, а CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности RRGLYYVWDSNDYEN (с CDR2, являющимися такими, как определено в b) выше); и/или CDR2 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности AISGSGDDTYADSVKG, а CDR3 может содержать или, по существу, состоит из аминокислотной последовательности RRGLYYVWDSNDYEN (с CDR1, являющимися такими, как определено в а) выше). Кроме того, в таких последовательностях, подобных 13E02, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным спе-

специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 350 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ, 200 нМ или даже менее, такой как менее 175 нМ или 150, 140 или 125 нМ или даже еще предпочтительнее менее 110 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50, 40 или 30 нМ или даже еще предпочтительнее менее 25 нМ.

В особенно предпочтительном аспекте "последовательность, подобная 13E02", "ISV, подобный 13E02" или "структурный элемент, подобный 13E02" представляют собой ISV, который содержит:

d) CDR1, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность AMG или (ii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности AMG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

e) CDR2, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность AISGSGDDTY-YADSVKG; или (ii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности AISGSGDDTY-YADSVKG; или (iii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности AISGSGDDTY-YADSVKG аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

f) CDR3, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность RRGLY-YVWDSNDYEN; или (ii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентична аминокислотной последовательности RRGLY-YVWDSNDYEN; или (iii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 отличные от аминокислотной последовательности RRGLY-YVWDSNDYEN аминокислоты (как определено в настоящем документе);

в котором каркасные последовательности, присутствующие в таком ISV, являются такими, как далее описано в настоящем документе, и в котором CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 350 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ, 200 нМ или даже менее, такой как менее 175 нМ или 150, 140 или 125 нМ или даже еще предпочтительнее менее 110 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50, 40 или 30 нМ или даже еще предпочтительнее менее 25 нМ.

Предпочтительно в последовательности, подобной 13E02, по этому особенно предпочтительному аспекту CDR1 и CDR2 являются такими, как определено в d) и e) соответственно; или CDR1 и CDR3 являются такими, как определено в d) и f) соответственно; или CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в e) и f) соответственно. Более предпочтительно в такой последовательности, подобной 13E02, все CDR1, CDR2 и CDR3 являются такими, как определено в d), e) и f) соответственно. Кроме того, в такой последовательности, подобной 13E02, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более

предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 350 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ, 200 нМ или даже менее, такой как менее 175 нМ или 150, 140 или 125 нМ или даже еще предпочтительнее менее 110 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50, 40 или 30 нМ или даже еще предпочтительнее менее 25 нМ.

Например, в последовательности, подобной 13E02, по этому особенно предпочтительному аспекту CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность AMG (с CDR2 и CDR3, являющимися такими, как определено в e) и f) соответственно); и/или CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность AISGSGDDTTYADSVKG (с CDR1 и CDR3, являющимися такими, как определено в d) и f) соответственно); и/или CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность RRGLYYVWDSNDYEN (с CDR1 и CDR2, являющимися такими, как определено в d) и e) соответственно). В частности, когда последовательность, подобная 13E02, соответствует этому аспекту, CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность AMG, а CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность AISGSGDDTTYADSVKG (с CDR3, являющимися такими, как определено в f) выше); и/или CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность AMG, а CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность RRGLYYVWDSNDYEN (с CDR2, являющимися такими, как определено в e) выше); и/или CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность AISGSGDDTTYADSVKG, а CDR3 представляет собой RRGLYYVWDSNDYEN (с CDR1, являющимися такими, как определено в d) выше). Кроме того, в таких последовательностях, подобных 13E02, CDR1, CDR2 и CDR3 предпочтительно являются такими, что ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 350 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ, 200 нМ или даже менее, такой как менее 175 нМ или 150, 140 или 125 нМ или даже еще предпочтительнее менее 110 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50, 40 или 30 нМ или даже еще предпочтительнее менее 25 нМ.

В особенно предпочтительной последовательности, подобной 13E02, CDR1 представляет собой аминокислотную последовательность AMG, CDR2 представляет собой аминокислотную последовательность AISGSGDDTTYADSVKG, а CDR3 представляет собой аминокислотную последовательность RRGLYYVWDSNDYEN.

Во всей последовательности, подобной 13E02, описанной в этом разделе D), каркасные последовательности могут быть такими, как далее описано в настоящем документе. Предпочтительно каркасные последовательности являются такими, что каркасные последовательности по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90%, например по меньшей мере на 95% идентичны по последовательности с каркасными последовательностями 13E02 (что можно определять, например, определяя общую степень идентичности последовательностей данной последовательности с последовательностью 13E02, не учитывая в расчете CDR). Кроме того, комбинация CDR и каркасов, присутствующих в данной последовательности, предпочтительно является такой, что получаемый в результате ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 350 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ, 200 нМ или даже менее, такой как

менее 175 нМ или 150, 140 или 125 нМ или даже еще предпочтительнее менее 110 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50, 40 или 30 нМ или даже еще предпочтительнее менее 25 нМ.

В одном конкретном аспекте последовательность, подобная 13E02, представляют собой ISV, который по меньшей мере на 70%, например по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, например по меньшей мере на 90% или более чем на 95% идентичен по последовательности с SEQ ID NO: 664. Например, в последовательности, подобной 13E02, по этому аспекту CDR могут соответствовать особенно предпочтительному аспекту, описанному выше, и, в частности, (но без ограничения), могут представлять собой AMG (CDR1); AISGSGDDTTYADSVKG (CDR2) и RRGLYYVWDSNDYEN (CDR3). Кроме того, предпочтительно комбинация CDR и каркасов, присутствующая в таком ISV, подобном 13E02, предпочтительно является такой, что получаемый в результате ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9. Предпочтительно ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 350 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ, 200 нМ или даже менее, такой как менее 175 нМ или 150, 140 или 125 нМ или даже еще предпочтительнее менее 110 нМ, и/или ISV, подобный 13E02, обладает блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50, 40 или 30 нМ или даже еще предпочтительнее менее 25 нМ.

В одном из конкретных аспектов любую последовательность, подобную 13E02, можно гуманизировать и/или у нее можно оптимизировать последовательность так, как далее описано в настоящем документе.

В этом контексте один дополнительный вариант осуществления изобретения также относится к полипептиду, содержащему:

- (i) CDR2 с аминокислотной последовательностью AISGSGDDTTYADSVKG; и/или
- (ii) CDR3 с аминокислотной последовательностью RRGLYYVWDANDYEN;

где последовательности CDR2 и CDR3 (i) и (ii) в общей сложности могут содержать до четырех де-лейций, вставок и/или замен одиночных аминокислот; и

где полипептид специфически связывается с IL-17A и/или IL-17F и где предпочтительно полипептид специфически связывается с IL-17A с K_d менее 50 пМ и с IL-17F с K_d менее 5 нМ.

Предпочтительно полипептид по этому варианту осуществления специфически связывается по меньшей мере с одним эпитопом IL-17A, выбранным из аминокислот L74, Y85 и N88 IL-17A. Предпочтительно полипептид по этому варианту осуществления специфически связывается по меньшей мере с тремя эпитопами IL-17A, например по меньшей мере с аминокислотами L74, Y85 и N88 IL-17A (SEQ ID NO: 839).

Также предпочтителен полипептид, содержащий:

- (iii) CDR2 с аминокислотной последовательностью AISGSGDDTTYADSVKG; и/или
- (iv) CDR3 с аминокислотной последовательностью RRGLYYVWDANDYEN;

где последовательности CDR2 и CDR3 (i) и (ii) в общей сложности могут содержать до четырех де-лейций, вставок и/или замен одиночных аминокислот и

где полипептид специфически связывается с IL-17A и/или IL-17F (каждый предпочтительно с K_d менее 5 нМ), но не с любым из IL-17B, IL-17C, IL-17D и IL-17E. Предпочтительно этот полипептид специфически связывается, по меньшей мере, с аминокислотами L74, Y85 и N88 IL-17A (SEQ ID NO: 839).

Конечно также все указанные выше полипептиды, содержащие последовательности CDR2 и/или CDR3 можно использовать, и они эффективны для лечения заболеваний, как описано в настоящем документе.

Как указано, полипептид по изобретению предпочтительно специфически связывается по меньшей мере с тремя эпитопами IL-17A и/или IL-17F, например

- (i) по меньшей мере, с аминокислотами L74, Y85 и N88 IL-17A (SEQ ID NO: 839);
- (ii) по меньшей мере, с аминокислотами H54, L74 и Y85 IL-17A (SEQ ID NO: 839) и/или
- (iii) по меньшей мере, с аминокислотами R47, R73, I86 и N89 IL-17F (SEQ ID NO: 840).

Как далее описано в настоящем документе, но без ограничения каким-либо объяснением, механизмом действия или гипотезой в настоящем изобретении идентифицированы четыре различных класса

аминокислотных последовательностей по изобретению на основе их способности ингибировать взаимодействие IL-17A, IL-17F или IL-17IF с каким-либо или обоими из рецепторов IL-17RA или IL-17RC комплекса (в частности, в анализе Alphascreeen, описанном в примере 5 ниже). Эти четыре класса аминокислотных последовательностей по изобретению представляют собой (определены в настоящем документе, как описано ниже):

"Аминокислотная последовательность класса 1": аминокислотная последовательность по изобретению (и, в частности, ISV, как описано в настоящем документе), которая способна ингибировать взаимодействие IL-17A с (по меньшей мере с одним из, а наиболее предпочтительно с обоими) рецепторами IL-17RA или IL-17RC рецепторного комплекса, но, по существу, не способна ингибировать взаимодействие IL-17A/F с IL-17RA или IL-17RC. Некоторые конкретные, но неограничивающие примеры аминокислотных последовательностей класса 1 приведены в дальнейшем описании в настоящем документе (например, см. табл. 5-8).

"Аминокислотная последовательность класса 2": аминокислотная последовательность по изобретению (и, в частности, ISV, как описано в настоящем документе), которая способна ингибировать взаимодействие IL-17A и IL-17A/F с (по меньшей мере с одним из, а наиболее предпочтительно с обоими) рецепторами IL-17RA или IL-17RC рецепторного комплекса. Некоторые конкретные, но неограничивающие примеры аминокислотных последовательностей класса 2 приведены в дальнейшем описании в настоящем документе (например, см. табл. 5-8). Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры аминокислотных последовательностей класса 2 по изобретению представляют собой "последовательности, подобные 04G01" (как определено в настоящем документе), где особенно предпочтительными являются гуманизированные варианты и/или варианты с оптимизированной последовательностью 04G01 (например, см. табл. 23 и 24).

"Аминокислотная последовательность класса 3": аминокислотная последовательность по изобретению (и, в частности, ISV, как описано в настоящем документе), которая способна ингибировать взаимодействие IL-17F с (по меньшей мере с одним из, а наиболее предпочтительно с обоими) рецепторами IL-17RA или IL-17RC рецепторного комплекса. Аминокислотные последовательности класса 3 по изобретению также могут быть способными (по меньшей мере частично) ингибировать взаимодействие IL-17A/F с (по меньшей мере с одним из, а наиболее предпочтительно с обоими) рецепторами IL-17RA или IL-17RC рецепторного комплекса. Некоторые конкретные, но неограничивающие примеры аминокислотных последовательностей класса 3 приведены в дальнейшем описании в настоящем документе (например, см. табл. 5-8). Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры аминокислотных последовательностей класса 3 по изобретению представляют собой "последовательности, подобные 16A04" (как определено в настоящем документе), где особенно предпочтительными являются гуманизированные варианты и/или варианты с оптимизированной последовательностью 16A04 (например, такие как IL17MS3063, см. табл. 30). В некоторых предпочтительных, но неограничивающих примерах аминокислотные последовательности класса 3 направлены против и/или связываются с R47, R73, I86 и/или N89 hIL-17F, включая их сочетания (например, см. табл. 11).

"Аминокислотная последовательность класса 4" (также обозначаемая в настоящем документе как "перекрестно реагирующая аминокислотная последовательность", а также обозначаемая при помощи "X"): аминокислотная последовательность по изобретению (и, в частности, ISV, как описано в настоящем документе), которая способна ингибировать взаимодействие IL-17A и IL-17F, таким образом, включая IL-17A/F, с (по меньшей мере с одним из, а наиболее предпочтительно с обоими) рецепторами IL-17RA или IL-17RC рецепторного комплекса. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры аминокислотных последовательностей класса 4 по изобретению представляют собой "последовательности, подобные 13B03" (как определено в настоящем документе) и "последовательности, подобные 13E02" (также как определено в настоящем документе), где особенно предпочтительными являются гуманизированные варианты и/или варианты с оптимизированной последовательностью 13B03 (например, таким как IL17MS3068, например, см. табл. 26) и 13E02 (например, таким как IL17MS3069 и IL17MS3070, см. табл. 28) соответственно. В некоторых предпочтительных, но неограничивающих примерах, аминокислотные последовательности класса 4 направлены против и/или связываются с L74, Y85 и/или N88 hIL-17A (например, см. табл. 11).

Обзор специфичности блокирования анти-IL-17 классов нанотел

Класс нанотел	Пример	Блокирующая активность ¹⁾		
		IL-17A	IL-17F	IL-17A/F
Класс 1		Да	По существу нет	Нет
Класс 2	04G01	Да	Нет	Да
Класс 3	16A04	Нет	Да	Частично да
Класс 4	13E02, 13B03	Да	Да	Да

1) Блокирующая активность, определяемая посредством индуцированной IL-17A, IL-17F и IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080, как описано выше.

Каждый из этих классов аминокислотных последовательностей по изобретению (и, в частности, ISV, принадлежащие к каждому из этих классов) составляют дополнительные аспекты изобретения. Как правило, но хотя изобретение не ограничено этим (использование в качестве структурных элементов), использование аминокислотных последовательностей класса 2 является более предпочтительным, чем использование аминокислотных последовательностей класса 1, а (использование в качестве структурных элементов) аминокислотных последовательностей класса 3 и/или класса 4 в свою очередь более предпочтительно, чем использование аминокислотных последовательностей класса 2.

Предпочтительные, но неограничивающие примеры ISV по изобретению, принадлежащих к каждому из этих классов приведены в примерах в настоящем документе.

Как далее описано в настоящем документе, одним из преимуществ изобретения также является то, что аминокислотные последовательности по изобретению (и, в частности, ISV по изобретению) можно использовать в качестве структурных элементов для получения соединений, конструкций, белков и полипептидов по изобретению. Таким образом, например, и без ограничения, изобретение также дает возможным комбинировать аминокислотные последовательности по изобретению (и, в частности, ISV по изобретению), которые принадлежат к различным классам, в одном соединении, конструкции, белке или полипептиде по изобретению. В частности, показано, что комбинирование ISV класса 3 с ISV класса 4 в одном соединении, конструкции, белке или полипептиде по изобретению обладает уникальными характеристиками связывания (см. пример 29).

Как далее описано в настоящем документе, такие соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению, например, и без ограничения могут содержать или, по существу, состоят из

аминокислотной последовательности по изобретению (и, в частности, ISV по изобретению) и одной или нескольких (например, одной или двух) других групп, остатков, молекул или связывающих единиц (как далее описано в настоящем документе, например группы, остатка, молекулы или связывающей единицы, которые увеличивают время полужизни аминокислотной последовательности по изобретению), которые связаны друг с другом или непосредственно, или предпочтительно посредством одного или нескольких подходящих линкеров (как далее описано в настоящем документе);

двух или более (например, двух или трех) аминокислотных последовательностей по изобретению (которые могут быть одинаковыми или различными) и, в частности, двух или более (например, двух или трех) ISV по изобретению (которые также могут быть одинаковыми или различными), и, необязательно, одной или нескольких (например, одной или двух) других групп, остатков, молекул или связывающих единиц (как далее описано в настоящем документе, например группы, остатка, молекулы или связывающей единицы, которые увеличивают время полужизни аминокислотной последовательности(ей) по изобретению), которые связаны друг с другом или непосредственно, или предпочтительно посредством одного или нескольких подходящих линкеров (как далее описано в настоящем документе).

Также, как далее описано в настоящем документе, когда соединение, конструкция, белок или полипептид по изобретению содержат одну или несколько (например, одну или две) других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, они предпочтительно (но без ограничения) представляют собой (i) один или несколько других одиночных вариабельных доменов иммуноглобулинов (например, направленных к мишени, отличной от IL-17A, IL-17F или IL-17A/F, т.е. так, чтобы получить полиспецифический белок или полипептид по изобретению) и/или (ii) группу, остаток, молекулу или связывающую единицу, которые увеличивают время полужизни аминокислотной последовательности(ей) по изобретению, например, которые могут представлять собой группу, остаток, молекулу или связывающую единицу, которые направлены к сывороточному белку, такому как сывороточный альбумин (человека) (например, ISV, который направлен к сывороточному белку и, в частности, к сывороточному альбумину, или пептид, который направлен к сывороточному белку и, в частности, к сывороточному альбумину, как далее описано в настоящем документе).

Таким образом, например, и без ограничения, такие соединения, конструкции, белки или полипеп-

по изобретению, как описано в настоящем документе (и, в частности, как описано в предшествующих разделах), которые содержат аминокислотную последовательность класса 3, где указанная аминокислотная последовательность класса 3 представляет собой последовательность, подобную 16A04 (как определено в настоящем документе), а более предпочтительно гуманизированный и/или содержащий оптимизированную последовательность вариант 16A04.

Когда одно из соединений, конструкций, белков или полипептидов по изобретению (например, одно из соединений, конструкций, белков или полипептидов по изобретению по одному из предшествующих разделов) содержит последовательность класса 4, она предпочтительно представляет собой последовательность, подобную 13B03 (как определено в настоящем документе), и более предпочтительно гуманизированный и/или содержащий оптимизированную последовательность вариант 13B03, или последовательность, подобную 13E02 (как определено в настоящем документе), а более предпочтительно гуманизированный и/или содержащий оптимизированную последовательность вариант 13E02. Таким образом, дополнительным аспектом изобретения является соединение, конструкция, белок или полипептид по изобретению, как описано в настоящем документе (и, в частности, как описано в предшествующих разделах), которые содержат аминокислотную последовательность класса 4, где указанная аминокислотная последовательность класса 4 представляет собой последовательность, подобную 13B03 (как определено в настоящем документе), а более предпочтительно, гуманизированный и/или содержащий оптимизированную последовательность вариант 13B03, и/или последовательность, подобную 13E02 (как определено в настоящем документе), а более предпочтительно гуманизированный и/или содержащий оптимизированную последовательность вариант 13E02.

Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры некоторых из этих соединений, конструкций, белков или полипептидов по изобретению описаны в примерах ниже. На основе описания в настоящем документе специалист также может получить другие такие соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению, например, посредством подходящего комбинирования одной или нескольких подходящих аминокислотных последовательностей по изобретению (например, таких как описаны в примерах ниже) с группой, остатком, молекулой или связывающей единицей, которые увеличивают время полужизни указанной аминокислотной последовательности (например, ISV или небольшим пептидом, который направлен к сывороточному альбумину (человека), как далее описано в настоящем документе).

Особенно предпочтительными являются соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению, которые могут содержать или, по существу, состоять из аминокислотной последовательности по изобретению (и, в частности, ISV по изобретению), принадлежащей к классу 3 (как определено в настоящем документе), аминокислотной последовательности по изобретению (и, в частности, ISV по изобретению), принадлежащей к классу 4 (как определено в настоящем документе), и группы, остатка, молекулы или связывающей единицы, которые увеличивают время полужизни указанной аминокислотной последовательности (а предпочтительно ISV, который направлен к сывороточному белку и, в частности, к сывороточному альбумину, или пептида, который направлен к сывороточному белку и, в частности, к сывороточному альбумину), необязательно подходящим образом связанных одним или несколькими подходящими линкерами. Как далее описано в настоящем документе, такие соединения, конструкция, белок или полипептид по изобретению предпочтительно содержат "последовательность, подобную 13B03" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно гуманизированный и/или содержащий оптимизированную последовательность вариант 13B03) или "последовательность, подобную 13E02" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно гуманизированный и/или содержащий оптимизированную последовательность вариант 13E02) в качестве последовательности класса 4 и "последовательность, подобную 16A04" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно гуманизированный и/или содержащий оптимизированную последовательность вариант 16A04) в качестве последовательности класса 3. Некоторые конкретные предпочтительные, но неограничивающие примеры этих соединений, конструкций, белков или полипептидов по изобретению представляют собой IL17MS3084, IL17MS3085, IL17MS3086 и IL17MS3087 (см. пример 26 и табл. 33). Другие примеры таких/подобных соединений, конструкций, белков или полипептидов по изобретению станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе двух аминокислотных последовательностей по изобретению (и, в частности, двух ISV по изобретению), принадлежащих к классу 4 (как определено в настоящем документе), и группы, остатка, молекулы или связывающей единицы, которые увеличивают время полужизни указанной аминокислотной последовательности (а предпочтительно ISV, который направлен к сывороточному белку и, в частности, к сывороточному альбумину, или пептида, который направлен к сывороточному белку и, в частности, к сывороточному альбумину), необязательно подходящим образом связанных одним или несколькими подходящими линкерами. Как далее описано в настоящем документе, такие соединения, конструкция, белок или полипептид по изобретению предпочтительно содержат две "последовательности, подобные 13B03" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно гуманизованные и/или содержащие оптимизированную последовательность варианта 13B03), которые могут быть одинаковыми или различными, или две "последовательности, подобные 13E02" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно гуманизованный и/или

содержащий оптимизированную последовательность вариант 13E02), которые также могут быть одинаковыми или различными, где особенно предпочтительными являются соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению, которые содержат или, по существу, состоят из двух "последовательностей, подобных 13B03". Конкретным предпочтительным, но неограничивающим примером такого полипептида по изобретению является IL17MS3079 (см. пример 26 и табл. 33). Другие примеры таких/подобных соединений, конструкций, белков или полипептидов по изобретению станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе.

Некоторые конкретные предпочтительные, но неограничивающие соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению могут содержать или, по существу, состоят из

двух "последовательностей, подобных 13B03" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно двух гуманизированных и/или содержащих оптимизированную последовательность варианта 13B03), которые могут быть одинаковыми или различными (а предпочтительно являются одинаковыми), и одного ISV к сывороточному альбумину человека или пептида, направленного к сывороточному альбумину человека, необязательно подходящим образом связанных одним или несколькими подходящими линкерами (как описано в настоящем документе);

"последовательности, подобной 13B03" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно гуманизированного и/или содержащего оптимизированную последовательность варианта 13B03), "последовательности, подобной 16A04" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно гуманизированного и/или содержащего оптимизированную последовательность варианта 16A04) и одного ISV к сывороточному альбумину человека или пептида, направленного к сывороточному альбумину человека, необязательно подходящим образом связанных одним или несколькими подходящими линкерами (как описано в настоящем документе);

"последовательности, подобной 13E02" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно гуманизированного и/или содержащего оптимизированную последовательность варианта 13E02), "последовательности, подобной 16A04" (как определено в настоящем документе, а более предпочтительно гуманизированного и/или содержащего оптимизированную последовательность варианта 16A04) и одного ISV к сывороточному альбумину человека или пептида, направленного к сывороточному альбумину человека, необязательно подходящим образом связанных одним или несколькими подходящими линкерами (как описано в настоящем документе).

Кроме того, некоторые конкретные, но неограничивающие примеры таких соединений, конструкций, белков или полипептидов по изобретению приведены в настоящем документе (например, см. табл. 34) или станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе.

Предпочтительно соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению обладают блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 9.

В частности, соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению содержат аминокислотную последовательность по изобретению (и, в частности, ISV по изобретению), принадлежащую к классу 1 (как определено в настоящем документе), где указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды, предпочтительно, обладают блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ, 18, 16, 15, 14, 13, 12 или 11 нМ или даже еще предпочтительнее менее 10 нМ.

В частности, соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению содержат аминокислотную последовательность по изобретению (и, в частности, ISV по изобретению), принадлежащую к классу 2 (как определено в настоящем документе), где указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды предпочтительно обладают блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды обладают блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

В частности, соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению содержат аминокислотную последовательность по изобретению (и, в частности, ISV по изобретению), принадлежащую к классу 3 (как определено в настоящем документе), где указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды предпочтительно обладают блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще

предпочтительнее менее 5 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды обладают блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 250 нМ, более предпочтительно менее 200 нМ, 150 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50 или 40 нМ или даже еще предпочтительнее менее 35 нМ.

В частности, соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению содержат аминокислотную последовательность по изобретению (и, в частности, ISV по изобретению), принадлежащую к классу 4 (как определено в настоящем документе), где указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды предпочтительно обладают блокирующей активностью 0,3 мкг/мл индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды обладают блокирующей активностью 4,5 мкг/мл индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 350 нМ, более предпочтительно менее 250 нМ, 200 нМ или даже менее, такой как менее 175 нМ или 150, 140 или 125 нМ или даже еще предпочтительнее менее 110 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды обладают блокирующей активностью 1,5 мкг/мл индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 200 нМ, более предпочтительно менее 150 нМ, 125 нМ или даже менее, такой как менее 100 нМ или 80, 75, 70, 60, 50, 40 или 30 нМ или даже еще предпочтительнее менее 25 нМ.

Специалисту в данной области понятно, что блокирующую активность соединений, конструкций, белков или полипептидов по изобретению, содержащих более одной аминокислотной последовательности класса (структурного элемента) 1, 2, 3 или 4, можно определять любым из анализов, как описано выше, где указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды по изобретению предпочтительно обладают блокирующей активностью, сходной с блокирующей активностью каждого из их составляющих, т.е. блокирующей активностью, сходной с блокирующей активностью каждой аминокислотной последовательности (структурного элемента) класса 1, 2, 3 или 4, содержащейся в указанных соединениях, конструкциях, белках или полипептидах по изобретению. Некоторые конкретные, но неограничивающие примеры указанных выше предпочтительных соединений, конструкций, белков или полипептидов по изобретению представляют собой

соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80% идентична (как определено в настоящем документе) последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693;

соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 85% идентична (как определено в настоящем документе) последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693;

соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693;

соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 95% идентична (как определено в настоящем документе) последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693;

соединения, конструкции, белки или полипептиды, которые состоят из двух последовательностей, подобных 13B03, которые могут быть одинаковыми или различными, где каждую последовательность, подобную 13B03, независимо выбирают из IL17MS3067 или IL17MS3068, и дополнительно состоят из одного ISV против сывороточного альбумина человека или пептида, направленного к сывороточному альбумину человека (такого как Alb-8/Alb-11); которые все необязательно подходящим образом связанных одним или несколькими подходящими линкерами (как описано в настоящем документе). Конкретный предпочтительный, но неограничивающий пример такого полипептида представляет собой IL17MS3079;

соединения, конструкции, белки или полипептиды, которые состоят из последовательности, подоб-

ной 13B03, которую независимо выбирают из IL17MS3067 или IL17MS3068, последовательности, подобной 16A04, которую независимо выбирают из IL17MS3063 (или IL17MS3063 без замены E1D), и одного ISV к сывороточному альбумину человека или пептида, направленного к сывороточному альбумину человека (такого как Alb-8/Alb-11), необязательно подходящим образом связанных одним или несколькими подходящими линкерами (как описано в настоящем документе). Конкретные предпочтительные, но неограничивающие примеры таких полипептидов представляют собой IL17MS3084 и IL17MS3085.

Соединения, конструкции, белки или полипептиды, которые состоят из последовательности, подобной 13E02, которую независимо выбирают из IL17MS3069 или IL17MS3070, последовательности, подобной 16A04, которую независимо выбирают из IL17MS3063 (или IL17MS3063 без замены E1D), и одного ISV к сывороточному альбумину человека или пептида, направленного к сывороточному альбумину человека (такого как Alb-8/Alb-11), необязательно подходящим образом связанных одним или несколькими подходящими линкерами (как описано в настоящем документе). Конкретные предпочтительные, но неограничивающие примеры таких полипептидов представляют собой IL17MS3086, IL17MS3087 и IL17MS3091.

Соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3079. Предпочтительно соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например, по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3079, обладают блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeп (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 26. Предпочтительно указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3079, обладают блокирующей активностью 1 нМ индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, такой как 4 нМ, 3, 2 или даже менее 1 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3079, обладают блокирующей активностью 15 нМ индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 100 нМ, более предпочтительно менее 75 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 40 нМ или 30, 25, 20, 15 нМ или даже еще предпочтительнее менее 10 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3079, обладают блокирующей активностью 5 нМ индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, такой как 4 нМ, или 3 или даже менее 2 нМ;

соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3084. Предпочтительно соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3084, обладают блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreeп (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 26. Предпочтительно указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3084, обладают блокирующей активностью 1 нМ индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, такой как 4 нМ, 3, 2 нМ или даже менее 1 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3084, обладают блокирующей активностью 15 нМ индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50}

соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3086. Предпочтительно соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3086, обладают блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе), технологии анализа кинетического исключения "KinExA" (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 26. Предпочтительно указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3086, обладают блокирующей активностью 1 нМ индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, такой как 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или даже менее 1 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3086, обладают блокирующей активностью 15 нМ индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC₅₀ менее 100 нМ, более предпочтительно менее 75 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 40 нМ или 30, 25, 20, 15 нМ или даже еще предпочтительнее менее 10 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3086, обладают блокирующей активностью 5 нМ индуциро-

ванной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, такой как 4 нМ или даже менее 3 нМ.

Также предпочтительно, активность связывания определяют посредством технологии на основе анализа KinExA, например, так, как описано в примере 29. Предпочтительно указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3086 (т.е. исключая метку IL17MS3091), обладают равновесной константой диссоциации (K_d) в растворе с hIL-17A менее 50 пМ, более предпочтительно менее 40 пМ, 30 пМ или даже менее, такой как менее 20 пМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 пМ или даже еще предпочтительнее менее 5 пМ, такой как 4, 3, 2 или даже менее 1 пМ, такой как менее 0,5 пМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3086 (т.е. исключая метку IL17MS3091) обладают равновесной константой диссоциации (K_d) в растворе с hIL-17F менее 100 пМ, более предпочтительно менее 80 пМ, 60 пМ или даже менее, такой как менее 50 пМ, 40, 30, 20 или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 пМ, или даже еще предпочтительнее менее 5 пМ, такой как 4 пМ, или 3 пМ или даже менее 2 пМ, такой как менее 1,5 пМ.

Соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3087. Предпочтительно соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3087, обладают блокирующей активностью, которую можно определять любым подходящим анализом, известным специалисту в данной области, например, таким как посредством анализов Alphascreen (например, так, как описано в настоящем документе) или посредством анализов на основе клеток (например, так, как описано в настоящем документе). Предпочтительно блокирующую активность определяют посредством анализа на основе клеток HT-1080, например, так, как описано в примере 26. Предпочтительно указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3087, обладают блокирующей активностью 1 нМ индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, такой как 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ или даже менее 1 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3087, обладают блокирующей активностью 15 нМ индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 100 нМ, более предпочтительно менее 75 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 40 нМ или 30, 25, 20, 15 нМ или даже еще предпочтительнее менее 10 нМ, и/или указанные соединения, конструкции, белки или полипептиды с последовательностью, которая по меньшей мере на 80%, например по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична (как определено в настоящем документе) IL17MS3087, обладают блокирующей активностью 5 нМ индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 с IC_{50} менее 150 нМ, более предпочтительно менее 100 нМ, 50 нМ или даже менее, такой как менее 20 нМ или 15, 10, 9, 8, 7 или 6 нМ или даже еще предпочтительнее менее 5 нМ, такой как 4 нМ, или 3 нМ, или даже менее 2 нМ.

Эффективность аминокислотных последовательностей и полипептидов по изобретению и содержащих их композиций можно тестировать с использованием любого подходящего анализа *in vitro*, анализа на основе клеток, анализа *in vivo* и/или моделей на животных, известных самостоятельно, или любого их сочетания в зависимости от конкретного рассматриваемого заболевания или нарушения. Подходящие анализы и модели на животных известны специалисту и включают, например, Alphascreen, KinExA и ингибирование индуцированной IL-17A; -F; -A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 (см. экспериментальную часть), а также анализы и модели на животных, используемые в экспериментальной части ниже, и на известном уровне техники, приведенном в настоящем документе.

Также в соответствии с изобретением аминокислотные последовательности и полипептиды, направленные против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, первого вида теплокровных животных могут или не могут демонстрировать перекрестную реактивность с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, одного или нескольких других видов теплокровных животных. Например, аминокислотные последовательности и полипептиды, направленные против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания, могут или не могут демонстрировать перекрестную реактивность с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, одного или нескольких других видов приматов (таких как, без ограничения, обезьян рода *Macaca* (таких как, в частности, яванский макак (*Macaca fascicularis*) и/или макак-резус (*Macaca mulatta*) и бабуин (*Papio*

ursinus)) и/или с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, одного или нескольких видов животных, которых часто используют в моделях заболеваний на животных (например, мыши, крысы, кролика, свиньи или собаки) и, в частности, в моделях на животных заболеваний и нарушений, связанных с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (таких как виды и модели на животных, указываемые в настоящем документе). В связи с этим специалисту понятно, что такая перекрестная реактивность, когда присутствует, может иметь преимущества с точки зрения разработки лекарственного средства, так как это позволяет тестировать аминокислотные последовательности и полипептиды против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания, в таких моделях заболеваний.

В более общем смысле аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению, которые перекрестно реагируют с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, нескольких видов млекопитающих, как правило, являются предпочтительными для применения в ветеринарных приложениях, так как это позволяет использовать одну и ту же аминокислотную последовательность или полипептид для нескольких видов. Таким образом, в объеме изобретения также включено, что аминокислотные последовательности и полипептиды, направленные против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, одного вида животных (такие как аминокислотные последовательности и полипептиды против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания) можно использовать для лечения других видов животных, при условии, что использование аминокислотных последовательностей и/или полипептидов обеспечивает желаемое действие у получающих лечение видов.

Настоящее изобретение в его наиболее широком смысле также конкретно не ограничено или не задано конкретной антигенной детерминантой, эпитопом, частью, доменом, субъединицей или конформацией (когда применимо) любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, против которых направлены аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению. Например, аминокислотные последовательности и полипептиды могут или не могут быть направлены против "участка взаимодействия" (как определено в настоящем документе). Однако, как правило, принимают и предпочтительно, чтобы аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению были предпочтительно направлены против участка взаимодействия (как определено в настоящем документе) и, в частности, против эпитопа или подобных эпитопов любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, которые позволяют блокировать биологический ответ посредством одно- или двухспецифической связывающей единицы (также см. различные классы определенных связывающих молекул по изобретению в экспериментальной части (например, табл. 1). Таким образом, в одном из предпочтительных, но неограничивающих аспектов аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению направлены против эпитопа, который обеспечивает связывание и/или блокирование биологического ответа на IL-17A, IL-17F и IL-17A/F, и являются такими, как далее определено в настоящем документе. В предпочтительном аспекте полипептид по изобретению может содержать две или более аминокислотных последовательности по изобретению (и предпочтительно ISV), где по меньшей мере одна аминокислотная последовательность по изобретению (предпочтительно ISV) направлена против или связывается с аминокислотой(ами) L74, Y85 и/или N88 hIL-17A (SEQ ID NO: 839), и/или где по меньшей мере одна аминокислотная последовательность по изобретению (предпочтительно ISV) направлена против или связывается с аминокислотой(ами) R47, R73, I86 и/или N89 hIL-17F (SEQ ID NO: 840), включая их сочетания.

Таким образом, настоящее изобретение относится к аминокислотной последовательности по изобретению, где аминокислотная последовательность направлена против и/или может специфически связываться с IL-17A и IL-17A/F человека (класс 2), где аминокислотная последовательность связывается с мутантом IL-17A по L74A, Y85A и/или H54A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17A дикого типа аффинностью.

Таким образом, настоящее изобретение относится к аминокислотной последовательности по изобретению, где указанная аминокислотная последовательность направлена против и/или может специфически связываться с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека (класс 4), где аминокислотная последовательность связывается с мутантом IL-17A по L74A, Y85A и/или N88A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17A дикого типа аффинностью.

Таким образом, настоящее изобретение относится к аминокислотной последовательности по изобретению, где указанная аминокислотная последовательность направлена против и/или может специфически связываться с IL-17F человека, и где аминокислотная последовательность связывается с мутантом IL-17F по R47A или R73A или I86A или N89A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17F дикого типа аффинностью.

В отношении этого, как используют в настоящем документе, "значительно сниженная аффинность" означает аффинность, которая ниже стандартной аффинности. Предпочтительно "значительно сниженная аффинность" означает, что аффинность ниже по меньшей мере в 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 2, 3, 5, 10, 20, 30, 40, 50 раз или по меньшей мере в 100 раз по сравнению со стандартной аффинностью, как указано.

Как далее описано в настоящем документе, полипептид по изобретению может содержать две или более аминокислотных последовательностей по изобретению (и предпочтительно ISV), направленных

против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Как правило, такие полипептиды связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с увеличенной по сравнению с одной аминокислотной последовательностью по изобретению авидностью (например, как определяют посредством технологии KinExA, как описано в примере 22). Например, такой полипептид может содержать две аминокислотные последовательности по изобретению, направленные против одинаковых антигенной детерминанты, эпитопа, части, домена, субъединицы или конформации (когда применимо) любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (которые могут быть или не быть участком взаимодействия); или содержать по меньшей мере одну "первую" аминокислотную последовательность по изобретению, которая направлена против первых тех же антигенной детерминанты, эпитопа, части, домена, субъединицы или конформации (когда применимо) любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (которые могут быть или не быть участком взаимодействия); и по меньшей мере одну "вторую" аминокислотную последовательность по изобретению, которая направлена против вторых антигенной детерминанты, эпитопа, части, домена, субъединицы или конформации (когда применимо), отличающихся от первых (и которые снова могут быть или не быть участком взаимодействия). Предпочтительно в таких "двухпаратопных" полипептидах по изобретению по меньшей мере одна аминокислотная последовательность по изобретению направлена против участка взаимодействия (как определено в настоящем документе), хотя изобретение в своем самом широком смысле не ограничено этим.

Также, когда мишенью является часть связывающейся пары (т.е. как описанной в настоящем документе связывающейся пары рецептор-лиганд), аминокислотные последовательности и полипептиды могут быть такими, что они конкурируют за связывание с мишенью с основным партнером по связыванию (например, лигандом, рецептором или другим партнером по связыванию соответственно), и/или такими, что они (полностью или частично) нейтрализуют связывание партнера по связыванию с мишенью.

Также, когда применимо, в объеме изобретения находится то, что аминокислотная последовательность по изобретению может связываться с двумя или более антигенными детерминантами, эпитопами, частями, доменами, субъединицами или конформациями любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. В таком случае, антигенные детерминанты, эпитопы, части, домены или субъединицы любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с которыми связываются аминокислотные последовательности и/или полипептиды по изобретению, по существу, могут быть одинаковыми (например, если любой из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, содержит повторяющиеся структурные мотивы или находится в мультимерной форме) или могут быть различными (и в последнем случае аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению могут связываться с такими различными антигенными детерминантами, эпитопами, частями, доменами, субъединицами любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с авидностью и/или специфичностью, которые могут быть одинаковыми или различными).

Также полагают, что аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению в основном связываются со всеми природными или синтетическими аналогами, вариантами, мутантами, аллелями, частями и фрагментами любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; или по меньшей мере с теми аналогами, вариантами, мутантами, аллелями, частями и фрагментами любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, которые содержат одну или несколько антигенных детерминант или эпитопов, которые, по существу, являются такими же, как антигенная детерминанта(ы) или эпитоп(ы) любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (например, любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F дикого типа, включая их сочетания), с которыми связываются аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению. Кроме того, в таком случае, аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению могут связываться с такими аналогами, вариантами, мутантами, аллелями, частями и фрагментами с авидностью и/или специфичностью, которые являются такими же или которые отличаются (т.е. являются выше или ниже) от авидности и специфичности, с которыми аминокислотные последовательности по изобретению связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F (дикого типа), включая их сочетания. Также в объем изобретения включено, что аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению связываются с одними аналогами, вариантами, мутантами, аллелями, частями и фрагментами любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, но не с другими.

Также, как понятно специалисту, белки или полипептиды, содержащие две или более аминокислотных последовательности (и предпочтительно ISV), направленные против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания с более высокой авидностью, чем соответствующая мономерная аминокислотная последовательность(и). Например, и без ограничения, белки или полипептиды, которые содержат две или более аминокислотных последовательностей, направленных против различных эпитопов любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, могут (и, как правило, будут) связываться с более высокой авидностью, чем каждый из различных мономеров, и белки или полипептиды, которые содержат две или более аминокислотных последовательностей, направленных против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, могут (и, как правило, будут) связываться с более высокой авидностью с

мультимером любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Как понятно специалисту, как правило, аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению связываются, по меньшей мере, с теми формами любых из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (включая мономерные, мультимерные и ассоциированные формы), которые являются наиболее подходящими с биологической и/или терапевтической точки зрения.

Также в объеме изобретения находится использование частей, фрагментов, аналогов, мутантов, вариантов, аллелей и/или производных аминокислотных последовательностей и полипептидов по изобретению и/или использование белков или полипептидов, содержащих или, по существу, состоящих из одного или нескольких таких частей, фрагментов, аналогов, мутантов, вариантов, аллелей и/или производных, при условии, что они подходят для применения, предусматриваемого в настоящем документе. Такие части, фрагменты, аналоги, мутанты, варианты, аллели и/или производные, как правило, содержат (по меньшей мере часть) функциональный антигенсвязывающий участок для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; а более предпочтительно способны к специфическому связыванию с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и даже более предпочтительно, способны к связыванию с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительного или кажущегося), значения K_A (действительного или кажущегося), константы скорости прямой реакции k_{on} и/или константы скорости обратной реакции k_{off} или, альтернативно, в виде значения IC_{50} , как далее описано в настоящем документе), которая является такой, как определено в настоящем документе. Некоторые неограничивающие примеры таких частей, фрагментов, аналогов, мутантов, вариантов, аллелей, производных, белков и/или полипептидов станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе. Дополнительные фрагменты или полипептиды по изобретению также можно получать посредством подходящего комбинирования (т.е. посредством связывания или генетического слияния) одной или нескольких (меньших) частей или фрагментов, как описано в настоящем документе. Когда аминокислотная последовательность по изобретению представляет собой ISV, такие часть, фрагмент, аналог, мутант, вариант, аллель и/или производное могут представлять собой часть, фрагмент, аналог, мутант, вариант, аллель и/или производное такого ISV.

В одном конкретном, но неограничивающем аспекте изобретения, который будет далее описан в настоящем документе, такие аналоги, мутанты, варианты, аллели, производные обладают увеличенным временем полужизни в сыворотке (как далее описано в настоящем документе) по сравнению с аминокислотной последовательностью, из которой они получены. Например, аминокислотную последовательность по изобретению можно связывать (химически или иным образом) с одной или несколькими группами или молекулами, которые увеличивают время полужизни (такими как PEG), так, чтобы получить производное аминокислотной последовательности по изобретению с увеличенным временем полужизни.

В одном конкретном, но неограничивающем аспекте аминокислотная последовательность по изобретению может представлять собой аминокислотную последовательность, которая содержит иммуноглобулиновую укладку или может представлять собой аминокислотную последовательность, которая в подходящих условиях (таких как физиологические условия) способна формировать иммуноглобулиновую укладку (т.е. посредством фолдинга). Ссылка в числе прочего делается на Halaby et al., J. Protein Eng. (1999) 12, 563-71. Предпочтительно при правильном фолдинге, при котором формируется иммуноглобулиновая укладка, такая аминокислотная последовательность способна к специфическому связыванию (как определено в настоящем документе) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; а более предпочтительно способна к связыванию с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительного или кажущегося), значения K_A (действительного или кажущегося), константы скорости прямой реакции k_{on} и/или константы скорости обратной реакции k_{off} или, альтернативно, в виде значения IC_{50} , как далее описано в настоящем документе), как определено в настоящем документе. Также части, фрагменты, аналоги, мутанты, варианты, аллели и/или производные таких аминокислотных последовательностей предпочтительно являются такими, что они содержат иммуноглобулиновую укладку или в подходящих условиях способны к формированию иммуноглобулиновой укладки.

В частности, но без ограничения, аминокислотные последовательности по изобретению могут представлять собой аминокислотные последовательности, которые, по существу, состоят из 4 каркасных областей (FR1-FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (CDR1-CDR3 соответственно); или любой подходящий фрагмент такой аминокислотной последовательности (который, как правило, содержит, по меньшей мере, некоторые аминокислотные остатки, которые формируют по меньшей мере одну из CDR, как далее описано в настоящем документе).

Аминокислотные последовательности по изобретению, в частности, могут представлять собой последовательность иммуноглобулина или ее подходящий фрагмент, а более конкретно могут представлять собой последовательность переменного домена иммуноглобулина или ее подходящий фрагмент, такую как последовательность переменного домена легкой цепи (например, последовательность V_L) или ее подходящий фрагмент; или последовательность переменного домена тяжелой цепи (например, последовательность V_H) или ее подходящий фрагмент. Когда аминокислотная последовательность по изобре-

тению представляет собой последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, она может представлять собой последовательность вариабельного домена тяжелой цепи, получаемую из обычного четырехцепочечного антитела (такую как, без ограничения, последовательность V_H , которую получают из антитела человека), или представлять собой так называемую последовательность V_{HH} (как определено в настоящем документе), которую получают из так называемого "антитела из тяжелых цепей" (как определено в настоящем документе).

Однако следует отметить, что изобретение не ограничено источником происхождения аминокислотной последовательности (или ISV) по изобретению (или нуклеотидной последовательности по изобретению, используемой для ее экспрессии), или способом, которым синтезируют или получают (или синтезировали или получили) аминокислотную последовательность или нуклеотидную последовательность по изобретению. Таким образом, аминокислотные последовательности по изобретению могут представлять собой природные аминокислотные последовательности (из любого подходящего вида) или синтетические или полусинтетические аминокислотные последовательности. В конкретном, но неограничивающем аспекте изобретения аминокислотная последовательность представляет собой природную последовательность иммуноглобулина (из любого подходящего вида) или синтетическую или полусинтетическую последовательность иммуноглобулина, включая в качестве неограничивающих примеров "гуманизированные" (как определено в настоящем документе) последовательности иммуноглобулинов (такие как частично или полностью гуманизированные последовательности иммуноглобулинов мыши или кролика, и, в частности, частично или полностью гуманизированные последовательности V_{HH} или нанотела), "камелизированные" (как определено в настоящем документе) последовательности иммуноглобулинов, а также последовательности иммуноглобулинов, которые получены такими способами, как созревание аффинности (например, начиная от синтетических, случайных или природных последовательностей иммуноглобулинов), прививания CDR, винирования, комбинирования фрагментов, получаемых из различных последовательностей иммуноглобулинов, сборки ПЦР с использованием перекрывающихся праймеров и подобных способов конструирования последовательностей иммуноглобулинов, хорошо известных специалисту; или любую подходящую комбинацию любых из указанных выше. Ссылку делают, например, на стандартные руководства, а также на дальнейшее описание и известный уровень техники, указываемый в настоящем документе.

Подобным образом, нуклеотидные последовательности по изобретению могут представлять собой природные нуклеотидные последовательности или синтетические или полусинтетические последовательности и могут представлять собой, например, последовательности, которые выделяют посредством ПЦР из подходящей природной матрицы (например, ДНК или РНК, выделяемых из клетки), нуклеотидные последовательности, которые выделяют из библиотеки (и, в частности, экспрессионной библиотеки), нуклеотидные последовательности, которые получают посредством внесения мутаций в природную нуклеотидную последовательность (любым известным подходящим способом, таким как несоответствие ПЦР), нуклеотидные последовательности, которые получают посредством ПЦР с использованием перекрывающихся праймеров, или нуклеотидные последовательности, которые получают известными способами синтеза ДНК.

Как указано, аминокислотные последовательности по изобретению предпочтительно представляют собой одиночные вариабельные домены иммуноглобулинов (ISV), под которыми подразумевают вариабельный домен иммуноглобулина, который содержит функциональный антигенсвязывающий участок (в том смысле, что он для формирования функционального антигенсвязывающего участка не требует взаимодействия с другим вариабельным доменом иммуноглобулина, такого как взаимодействие V_H - V_L).

Аминокислотная последовательность по изобретению, в частности, может представлять собой доменное антитело (или аминокислотную последовательность, которая подходит для использования в качестве доменного антитела), однодоменное антитело (или аминокислотную последовательность, которая подходит для использования в качестве однодоменного антитела), "dAb" (или аминокислотную последовательность, которая подходит для использования в качестве dAb) или нанотелоTM (как определено в настоящем документе, и включая в качестве неограничивающих примеров последовательность V_{HH}); другие одиночные вариабельные домены или любой подходящий фрагмент любого из них. Для общего описания (одно)доменного антитела приводится ссылка на известный уровень техники, приведенный выше, а также на EP 0368684. Для термина "dAb", приведена ссылка, например, на Ward et al. (Nature 1989 Oct 12; 341 (6242): 544-6), на Holt et al., Trends Biotechnol., 2003, 21 (11):484-490; а также, например, на WO 06/030220, WO 06/003388 и другие опубликованные патентные заявки Domantis Ltd. Также следует отметить, что хотя они и являются менее предпочтительными в контексте настоящего изобретения вследствие того, что их источником не являются млекопитающие, однодоменные антитела или одиночные вариабельные домены можно получать из определенных видов акул (например, так называемые "домены IgNAR", например, см. WO 05/18629).

В частности, аминокислотная последовательность по изобретению может представлять собой нанотело[®] (как определено в настоящем документе) или его подходящий фрагмент. [Примечание: нанотело[®], напотела[®] и наноклон[®] представляют собой зарегистрированные товарные знаки Ablynx N.V.].

Такие нанотела, направленные против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, также обозначают в настоящем документе как "нанотела по изобретению".

Для общего описания нанотел делается ссылка на дальнейшее описание ниже, а также на известный уровень техники, приведенный в настоящем документе. Однако относительно этого следует заметить, что в этом описании и на известном уровне техники в основном описаны нанотела так называемого "класса V_{H3}" (т.е. нанотела с высокой степенью гомологии последовательности с последовательностями зародышевой линии человека класса V_{H3}, такими как DP-47, DP-51 или DP-29), где нанотела формируют предпочтительный аспект по настоящему изобретению. Однако следует отметить, что изобретение в своем самом широком смысле в общем относится к любому типу нанотел, направленных против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и, например, также относится к нанотелам, принадлежащим к так называемому "классу V_{H4}" (т.е. нанотелам с высокой степенью гомологии последовательности с последовательностями зародышевой линии человека класса V_{H4}, такими как DP-78), как, например, описано в WO 07/118670.

Как правило, нанотела (в частности, последовательности V_{HH} и частично гуманизированные нанотела), в частности, можно охарактеризовать присутствием одного или нескольких "характерных остатков" (как описано в настоящем документе) в одной или нескольких каркасных последовательностях (также как далее описано в настоящем документе).

Таким образом, как правило, нанотело можно определить как аминокислотную последовательность (общей) структуры

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4,

в которой FR1-FR4 относятся к каркасным областям 1-4 соответственно, и в которой CDR1-CDR3 относятся к определяющим комплементарность областям 1-3 соответственно, и в которой в настоящем документе далее определены один или несколько характерных остатков.

В частности, нанотело может представлять собой аминокислотную последовательность (общей) структуры

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4,

в которой FR1-FR4 относятся к каркасным областям 1-4 соответственно, и в которой CDR1-CDR3 относятся к определяющим комплементарность областям 1-3 соответственно, и в которой в настоящем документе далее определены каркасные последовательности.

Более конкретно нанотело может представлять собой аминокислотную последовательность (общей) структуры

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4,

в которой FR1-FR4 относятся к каркасным областям 1-4 соответственно, и в которой CDR1-CDR3 относятся к определяющим комплементарность областям 1-3 соответственно, и в которой

i) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2 ниже;

и в которой

ii) указанная аминокислотная последовательность по меньшей мере на 80% идентична по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-22, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR (указанные в последовательностях SEQ ID NO: 1-22 посредством X).

В этих нанотелах последовательности CDR в основном определены далее в настоящем документе. Таким образом, изобретение также относится к таким нанотелам, которые могут связывать (как определено в настоящем документе) и/или которые направлены против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, к их подходящим фрагментам, а также к полипептидам, которые содержат или, по существу, состоят из одного или нескольких таких нанотел и/или их подходящих фрагментов.

В SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. А-1) приведены аминокислотные последовательности ряда последовательностей V_{HH}, которые были индуцированы против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Таблица А-1

Предпочтительные последовательности V_{HH} или последовательности нанотел (также обозначаемые в настоящем документе как последовательность с конкретным названием или SEQ ID NO: X, где X представляет собой число, относящееся к соответствующей аминокислотной последовательности)

Название	Свойства	SEQ ID NO: X, где X=	Аминокислотная последовательность
01D02	Против IL-17A	623	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGLSFSS YALGWFRQAPGKERDFVAAINWSGDNTHYAD SVKGRFTISRDNAKNTVSLQMNSLKPEDTAV YYCAAQLGYESGYSLTYDYDWGQGTQVTVS S
01G03	Против IL-17A	624	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASERTISN YDMGWFRQAPGKERELIAADISWSALNTNYA DSVKGRFTISRDNAKNMVYLQMNLPEDTA VYYCAARRSGYASFNDWQGTQVTVSS
02E03	Против IL-17A	625	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YAMSWARQAPGEGLEWVSDINSGGTRTTYAD SVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAV YVCAKLSVFRSQLGGKYYGGDYENRGQGTQV TVSS
03B08	Против IL-17A	626	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDD YAIGWFRQAPGKEREGVSCISSSDGSIYYAD SVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAV YHCAFRGRTGWAEECVDYDWGQGTQVTVSS
03E05	Против IL-17A	627	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVTFDD YSIGWFRQAPGKEREGVSCISSSDGIPYYSD FVKGRFTTISDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAAGFGRCAEFDSWGQGTQVTVSS
01D06	Против IL-17A и IL-17A/F	628	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAADGRTFST YGMTWFRQVPGKEREFAHIPRSTYSPPYYAN SVKGRFTIARDDAKSTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAVFTGGTYYPVTAIDYWGQGTQVTVSS
02A08	Против IL-17A и IL-17A/F	629	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCADSESRFSF NAMGWFRQAPGKEREFVAAISATGDDTYAD SVKGRFAISRDTARNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCGARVNFDTVSYTNDYAYWGQGTQVTVS S
02A10	Против IL-17A и IL-17A/F	630	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALGY YAIGWFRQAPGKEREGVSCDSSSDGRTYYGD SVKGRFTISTDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCATCTDFEYDWGQGTQVTVSS
04B09	Против IL-17A и IL-17A/F	631	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLGY YAIGWFRQAPGKEREGVSCDSSSDGDTYYAN SVKGRFTISTDNGKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCATCTDWNIDYWGQGTQVTVSS
03C07	Против IL-17A и IL-17A/F	632	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDD YAIGWFRQAPGKEREAIVSCFSSSDGSIYYAD SVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAGGGGYYTQLNYCYDMDYWGKGTQVT VSS
04A02	Против IL-17A и IL-17A/F	633	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRNINII NYMAWYRQAPGNQRELVAAMTSDATTEYADS VKGRFTISRDI PENTVYLQMNSLKPEDTAVY YCNAGKIWDYLGRRDFGDYWGQGTQVTVSS

04B10	Против IL-17A и IL-17A/F	634	EVQLVESGGGLVQAGGSQSLSCVASGTIVNI NVMGWYRQAPGKQRELVALITSGGGTTYGDS VKGRFTISIDNAKNTVILQMNSLEAEDTAVY YCAAIEGYSGGTYFSSEAHWGQGTQVTVSS
04G01	Против IL-17A и IL-17A/F	635	EVQLVESGGGLVQAGGSQRLSCTASGTIVNI HVMGWYRQAPGKQRELVALIFSGGSADYADS VKGRFTISRDNAKNTVYLEMNSLKAEDTAVY YCAAIEGYSGGTYFSSEAHWGQGTQVTVSS
04F09	Против IL-17A и IL-17A/F	636	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFST HAMGWFRQAPGKERDFVAIRWSDGSSFYAD SVKGRFTISRDNAKNAVYILQMSLSKPEDTAV YVCYADVEGPTALHKYWGRGTQVTVSS
09D10	Против IL-17A и IL-17A/F	637	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGTVFRI DVMRWHRQAPGKQREFLASIASGGTTNYADS VKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVY YCGANAESGPYTYWGLGTQVTVSS
09G10	Против IL-17A и IL-17A/F	638	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASDSVFTA KAVGWYRQPPGLQREWVAITSGGKTNAYADS SVKGRFTVSDVKVNTVTLQMNSLKPEDTAV YYCYAQWMGRDYGQGTQVTVSS
11A06	Против IL-17A и IL-17A/F	639	EVQLVESGGGLVQPGESLRLSCKASGFSLDY YALGWFRQAPGKEREISCITSDASAYYTD SVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKTEDTAI YYCAAALLTCSYDAYTYWGQGTQVTVSS
06E11	Против IL-17F	640	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCPVSGRAFSR GRLGWFRQAPGKEREFVAVAHWSGAITSYAD SVKGRFTFSRDNAKNTMNLQMNSLKPEDTAV YYCAADSETSGNWVYGQGTQVTVSS
07B09	Против IL-17F	641	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGASGGTFSS YATGWFRQAPGKEREFVAVLRWSDGHTAYAD SVKGRFTISRDKAKNTMYLQMSLKPEDTAI YYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSS
24G10	Против IL-17F	642	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGAAGGTFSS YATGWFRQAPGKEREFVAVFRWSDSHAYAD SVKGRFTISRDKAKNTLYLQMSLKPEDTAI YYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSS
			YYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSS
07B11	Против IL-17F	643	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRAFSS YVMGWFRQAPGMEREFVALIRWSDGITGYVD SVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAAARPGDYDYWGQGTQVTVSS
08A08	Против IL-17F	644	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFRP YRMGWFRRAPGKAREFVTLSWSSGRTSYAD SVKGRFTISRDSAKNAVYILQMDNLKPEDTAV YFCAVDLSGDAVYDSWGQGTQVTVSS
08B07	Против IL-17F	645	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRDFRV KNVGWIRQAPGKQRELVALITVGGSTNYADS AKGRFTISRDNAKNTVYLQMSLKPEDTAVY YCNNAVATVDYTGYSDFWQGTQVTVSS
08H01	Против IL-17F	646	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGASGGTFSS YATGWFRQAPGKEREFVAVLRWSDSHAYAD SVEGRFTISRDKAKNTVYLQMSLKPEDTAI YYCTTGTRPGEWHYGQGTQVTVSS
12A09	Против IL-17F	647	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFSS YRMAWVRQAPGKLEWVSSTSTGGEMTNAYD SVKGRFTISRDNAKNTLHLQMNSLKPEDTAL YYCAAGTSAGHWSTGGQGTQVTVSS
16A04	Против IL-17F	648	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSS YVVGWFRQAPGKEREFIGAISGSDSIYYAV SEKDRFTISRDNCKNTLYLQMSLKAEDTAV YYCTADQEFGLRFRSEYWGQGTQVTVSS
24B08	Против IL-17F	649	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGGTFST YKMGWFRQAPGKEREFIVARISTNGPTAYAEF VKGRFTVIRENTKNTVYLQMNSLNIEDTAVY YCAAGYDSLFGYDYWGQGTQVTVSS
01A01	Перекрестно реагирующая: против IL-17A, IL-17F и IL-17A/F	650	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGTFDD YDIGWFRQAPGKEREGVSCFTSSDGRFTFYAD SVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSLEPEDTAV YFCAAVNTFDESAYAAFACVDVVRWGQGTQV TVSS
09B09	Перекрестно	651	EMQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTFSS

	реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F		YWMYWARQAPGKLEWISALAPGGDDEYYAD SVNGRFTISRDAENSLYLQMNSLKSEDTAV YYCAKDHNVGYRTGEYDYGQGTQVTVSS
09E11	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	652	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMYVVRQAPGKLEWISALAPGGDNRYAD SVNGRFTISRDAENSLYLQMNSLKSEDTAV YYCAKDHNVGYRTGEYDYGQGTQVTVSS
10A04	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	653	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMYVVRQAPGKLEWISALAPGGGNRYAE SVNGRFTISRDAENSLYLQMNSLKSEDTAV YYCAKDHNVGYRTGEYDYGQGTQVTVSS
10A05	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	654	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN YWMYVVRQAPGKLEWISALAPGGDNRYAD SVNGRFTISRDAENSLYLQMNSLKSEDTAV YYCAKDHNVGYRTGEYDYGQGTQVTVSS
10D11	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	655	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFSS YWMYVVRQAPGKLEWISALAPGGEHRYAD SVNGRFTISRDAENSLYLQMNSLKSEDTAV YYCAKDHNVGYRTGEYDYGQGTQVTVSS
10F02	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	656	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS YWMYVVRQAPGKLEWISALAPGGGNAYAD SVNGRFTISRDAENLLYLQMNSLKSEDTAV YYCAKDHNVGYRTGEYDYGQGTQVTVSS
11A02	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	657	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVIFRL NAMGWYRAAPGKQRELVAI IINGGSTNYADS VKGRFTISRDSAKNAVYLMNSLKPEDTAVY YCYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
11A07	Перекрестно	658	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAAPGVIFRL
	реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F		NAMGWYRAAPGKQRELVAI IANGGSTNYADS VKGRFTISRDSAKNAVYLMNSLKPEDTAVY YCYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
11C08	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	659	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVIFRL NAMGWYRAAPGKQRELVAI IIVNGGSTNYADS VKGRFTISRDSAKNAVYLMNSLKPEDTAVY YCYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
11C09	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	660	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVIFRL NAMGWYRAAPGKQRELVAI IIVNGGSTNYADS VKGRFTISRDSAKNAVYLMQDSLKPEDTAVY YCYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
12H11	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	661	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGVIFRL NAMGWYRAAPGKQRELVAI IIVNGGSTNYADS VKGRFTISRDAENSLYLQMNSLKPEDTAVY YCYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
13B03	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	662	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSI NWFGWFRQTPGKERE FVAGIRWS DAYTEYAN SVKGRFTISRDAENKNTVDLQMDSLKPEDTAV YYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSS
13D05	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	663	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSI NWFGWFRQTPGKERE FVAGIRWTDAYTEYAA SVKGRFTISRDAENKNTVGLQMDSLKPEDTAV YYCVLDLSTVRYWGQGSQVTVSS
13E02	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	664	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYDA MGWLRQAPGKERE FVAATSGSDDTTYADSV KGRFTISKDNAGITMYLMNSLKPEDTAVYY CATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
01D08	Перекрестно	665	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYYA

	реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F		MGWLRQAPGKERE FVA AISGSGDDTYADSV KGRFTISKDNAGITMYLEMNSLKPEDTAVYY CATRRGRYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
13E07	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	666	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYA MGWLRQAPGKERE FVA AISGSGDDTYADSV KGRFTISKDNAGITMYLQMNLSLKPEDTAVYY CATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
13G06	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	667	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYHA MGWLRQAPGKERE FVA AVSGSGDDTYADSV KGRFTISKDNAGITMYLQMNLSLKPEDTAVYY CATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
13H05	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	668	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYDA MGWFRQAPGKERE FVA AISGSGEDTYADSV KGRFTCSKDNAGITMYLQMNLSLKPEDTAVYY CATRRGLYFITDSNDYENWGQGTQVTVSS
13E05	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	669	EVQLVESGGGLVQAGDSLTLSCVASGGTFSN YAAWFRQAPGKDRRELVSIFRTGSITYTAD SVKGRFTASRVNTKNTVYLQMNLSLKPEDTAV YYCASAYNPGVGYDYWGQGTQVTVSS
17B03	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	670	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCEASGGTFSN YAAWFRQGPGRGRELVSIFRSGTITYTADS VKGRFTASRVNTKNTVYLQMNLSLKPEDTGIY YCASAYNPGIGYDYWGQGTQVTVSS
17D08	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	671	EVQLVESGGGLVQAGDSLTLSCVASGGTFSN YAAWFRQAPGKDRRELVSIFRTGSITYTAD SVKGRFTASRVNTKNTVYLQMNLSLKPEDTAV YYCASAYNPGVGYDYWGQGTQVTVSS
17E05	Перекрытно	672	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCEASGGTFSN
	реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F		YAAWFRQGPGRGRELVSIFRSGTITYTADS VKGRFTASRVNTKNTVYLQMNLSLKPEDTGIY YCASAYNPGIGYDYWGQGTQVTVSS
17G08	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	673	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGGTFSN YAAWFRQGPGRGRELVSIFRSGTITYTADS VKGRFTASRVNTKNTVYLQMNLSLKPEDTGIY YCASAYNPGIGYDYWGQGTQVTVSS
17H04	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	674	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCVASGGTFSN YAAWFRQAPGKRELILSIFRSGSITYTADS VKGRFTGSRVNTKNTAYLQMNLSLKPEDTAVY YCASAYNPGIGYDYWGQGTQVTVSS
17H07	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	675	EVQLVESGGGLVQAGDSLTLSCVASGGTFSN YAAWFRQAPGKDRRELVSIFRTGSITYTAD SVKGRFTASRVNTKNTVYLQMNLSLKPEDTAV YYCASAYNPGVGYDYWGQGTQVTVSS
01C09	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	676	EVQLVKSGGGLVQAGGSLKLSCAASGRITFTT YPMGWFRQAPGKERE FVGAISMSGEDTIYAT SVKGRFTISRDDARNTVTLLHMTSLKPEDTAV YYCAARTSYNGRYDYIDDISYWGQGTQVTVS S
01F10	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	677	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITFTT YPMGWFRQAPGKERE FVA AISMSGEDAAYAT SVKGRFTISRDNARNTVYLHMTTLKPEDTAV YYCAARTSYNGIYDYIDDISYWGQGTQ VTVSS
02D02	Перекрытно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	678	EVQLVESGGGLVQAGGSLKLSCARSGRTFTT YPMGWFRQAPGKERE FVA AISMGDDTAYAT FVKGRFTIVRDDKNTVYLHMTSLKPEDTAV YYCAARTSYSGTYDYIDDISYWGQGTQVTVS S
13A08	Перекрытно	679	EVQLVESRGLVQAGGSLRLSCAASGRITFTS

	реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F		YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDAAYAD FVRGRFTISRDDARNTVYLHMTSLKPEDTAV YYCAARTSYDGTIDYIDDSYWGQGTQVTVS S
13B05	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	680	EVQLVESGGRLVQAGGSLRLSCAASGRTFTS YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDTAYTD FVRGRFTISRDDARNTVYLHMTSLKPEDTAV YYCAARTSYDGTIDYIDDSYWGQGTQVTVS S
13C06	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	681	EVQLVESGGRLVQAGGSLRLSCAASGRTFTS YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDAAYAD FVRGRFTISRDDARNTVYLHMTSLKPEDTAV YYCAARTSYDGTIDYIDDSYWGQGTQVTVS S
13E01	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	682	EVQLVESEGGVLVQAGGSLRLSCARSGHAFTS YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDTIYRD FVKGRFTISRDNARNTVYLHMTSLKPEDTAV YYCAARTSYDGRYDIDDSYWGQGTQVTVS S
13E03	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	683	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTT YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDTAYAT FVKGRFTISRDSARNTVYLHMTSLKPEDTAV YSCAARTSYDGRYDIDDSYWGQGTQVTVS S
13E08	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	684	EVQLVESRGGVLVQAGGSLRLSCAGSGRTLYS YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDTAVAT FVKGRFTISRDNARNTVYLHMTSLKPEDTAV YHCAARTSYSGRYDIDDSYWGQGTQVTVS S
13G04	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	685	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTLYS YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDTAVAT FVKGRFTISRDNARNTVYLHMTSLKPEDTAV YHCAARTSYSGRYDIDDSYWGQGTQVTVS S
13G05	Перекрестно	686	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCARSGRTFTT
	реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F		YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDTAYAT FVKGRFTFSRDDKNTVYLHMTSLKPEDTAV YYCAARTSYSGMYDIDDSYWGQGTQVTVS S
13G08	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	687	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFFS YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDSAAYRD FVKGRFTISRDNARNTVYLHMTSLKPEDTAI YYCAARTSYNGRYDIDDSYWGQGTQVTVS S
13H03	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	688	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTT YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDTAYAT FVKGRFTISRDNARNTVYLHMTSLKPEDTAV YSCAARTSYDGRYDIDDSYWGQGTQVTVS S
17C01	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	689	EVQLVESGGRLVQAGGSLRLPCAASGRTFTS YPMGWFRQAPGKEREFVAAISMSGDDAAYAD FVRGRFTISRDDARNTVYLHMTSLKPEDTAV YYCAARTSYDGTIDYIDDSYWGQGTQVTVS S
15A08	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	690	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDY YAIGWFRQAPGKEREGVSCVSSSDGRTAYAD SVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCATVMEYGLGCTTDVLDWGGQGTLVTVSS
13G02	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	691	EVQLVESRGGVLVQAGGSLRLSCAASGGTFSV FAMRWFRQAPGKEREFVAGISWTGGTTYAD SVKGRFTMSADNAKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAVDVGGGSDRYLGQGTQVTVSS
17E02	Перекрестно реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	692	EVQLVESRGGVLVQAGGSLRLSCAASGGTFSV FAMRWFRQAPGKEREFVAGISWTGGTTYAD SVKGRFTMSADNAKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAVDVGGGSDRYLGQGTQVTVSS
18B05	Перекрестно	693	EVQLVKSGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFSL

	реагирующая: против IL- 17A, IL-17F и IL-17A/F	FAMGWFREAPGKEREVAAIRWSDGSSYYAD SVKGRFTISRDNNAKNAVHLQSNLSKSEDTAV YYCYADVQGLHRYWGQGTQVTVSS
--	---	--

В частности, изобретение в определенных конкретных аспектах относится к аминокислотным последовательностям (и, в частности, ISV), направленным против (как определено в настоящем документе) любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 85%, например на 90 или 95% или более идентичны по последовательности по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1). Кроме того, эти аминокислотные последовательности могут быть такими, что они нейтрализуют связывание когнативного лиганда с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; и/или конкурировать с когнативным лигандом за связывание с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; и/или направлены против участка взаимодействия (как определено в настоящем документе) на любом из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (такого как участок связывания лиганда);

аминокислотным последовательностям (и, в частности, ISV), которые перекрестно блокируют (как определено в настоящем документе) связывание по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или которые конкурируют по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1) за связывание с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Кроме того, эти аминокислотные последовательности дополнительно могут быть такими, что они нейтрализуют связывание основного лиганда с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; и/или конкурируют с основным лигандом за связывание с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; и/или направлены против участка взаимодействия (как определено в настоящем документе) на любом из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (так, как участок связывания лиганда);

где эти аминокислотные последовательности (или ISV) могут являться такими, как далее описано в настоящем документе (и, например, могут представлять собой нанотела); а также полипептидам по изобретению, которые содержат одну или несколько таких аминокислотных последовательностей (которые могут являться такими, как далее описано в настоящем документе, и могут представлять собой, например, биспецифические и/или бипаратопные полипептиды, как описано в настоящем документе), и последовательностям нуклеиновых кислот, которые кодируют такие аминокислотные последовательности и полипептиды. Такие аминокислотные последовательности и полипептиды не включают никаких природных лигандов.

В некоторых других конкретных аспектах изобретение относится к аминокислотным последовательностям (и, в частности, ISV) по изобретению, которые специфичны к любому из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, по сравнению с IL-17B, IL-17C, IL-17D, и/или IL-17E;

где аминокислотные последовательности по изобретению могут быть такими, как далее описано в настоящем документе (и, например, могут представлять собой нанотела); а также полипептидам по изобретению, которые содержат одну или несколько таких аминокислотных последовательностей (которые могут быть такими, как далее описано в настоящем документе, и могут представлять собой, например, биспецифические и/или бипаратопные полипептиды, как описано в настоящем документе), и последовательностям нуклеиновых кислот, которые кодируют такие аминокислотные последовательности и полипептиды. Такие аминокислотные последовательности и полипептиды не включают никаких природных лигандов.

Таким образом, некоторые особенно предпочтительные нанотела по изобретению представляют собой нанотела, которые могут связывать (как далее определено в настоящем документе) и/или направлены против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и которые

i) содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1), где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR. В этом отношении приведена ссылка на табл. B-1, в которой перечислены каркасные последовательности 1 (SEQ ID NO: 126-196), каркасные последовательности 2 (SEQ ID NO: 268-338), каркасные последовательности 3 (SEQ ID NO: 410-480) и каркасные последовательности 4 (SEQ ID NO: 552-622) нанотел SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1) (в отношении аминокислотных остатков в положениях 1-4 и 27-30 каркасных последовательностей 1, также приведена ссылка на приведенные ниже комментарии. Таким образом, для определения степени идентичности аминокислот эти остатки предпочтительно не учитывают);

и где

ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указан-

ных в табл. В-2 ниже.

В этих нанотелах последовательности CDR в основном определены далее в настоящем документе.

Кроме того, такие нанотела можно получать любым подходящим способом и из любого подходящего источника, и они могут представлять собой, например, природные последовательности V_{HH} (т.е. из подходящих видов верблюдовых) или синтетические или полусинтетические аминокислотные последовательности, включая в качестве неограничивающих примеров "гуманизированные" (как определено в настоящем документе) нанотела, "камелизированные" (как определено в настоящем документе) последовательности иммуноглобулинов (и, в частности, камелизированные последовательности переменных доменов тяжелой цепи), а также нанотела, которые получены такими способами, как созревание аффинности (например, начиная от синтетических, случайных или природных последовательностей иммуноглобулинов), прививание CDR, винирование, комбинирование фрагментов, полученных из различных последовательностей иммуноглобулинов, сборка ПЦР с использованием перекрывающихся праймеров и подобные способы конструирования последовательностей иммуноглобулинов, хорошо известные специалистам; или любую подходящую комбинацию любого из указанного выше, как далее описано в настоящем документе. Также, когда нанотело содержит последовательность V_{HH} , указанное нанотело можно соответственным образом гуманизировать, как далее описано в настоящем документе, с тем, чтобы получить одно или несколько дополнительных (частично или полностью) гуманизированных нанотел по изобретению. Подобным образом, когда нанотело содержит синтетическую или полусинтетическую последовательность (такую как частично гуманизированную последовательность), указанное нанотело необязательно можно дополнительно соответствующим образом гуманизировать, также как описано в настоящем документе, также с тем, чтобы получить одно или несколько дополнительных (частично или полностью) гуманизированных нанотел по изобретению.

В частности, гуманизированные нанотела могут представлять собой аминокислотные последовательности, которые являются такими, как в основном определено для нанотел в предыдущих разделах, но в которых присутствует по меньшей мере один аминокислотный остаток (и, в частности, по меньшей мере в одном из каркасных остатков), который представляет собой и/или который соответствует гуманизирующей замене (как определено в настоящем документе). Некоторые предпочтительные, но неограничивающие гуманизирующие замены (и их подходящие сочетания) станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе. Кроме того или альтернативно, сравнивая последовательности каркасных областей природной последовательности V_{HH} с соответствующими каркасными последовательностями одного или нескольких близкородственных последовательностей V_H человека можно выявить другие потенциально подходящие гуманизирующие замены, после чего в указанную последовательность V_{HH} можно вносить (любым известным способом, как далее описано в настоящем документе) одну или несколько потенциально подходящих гуманизирующих замен (или их сочетания), определенных таким образом, и полученные гуманизированные последовательности V_{HH} можно тестировать на аффинность к мишени, на стабильность, на простоту и уровень экспрессии и/или на другие желаемые свойства. Таким образом, посредством ограниченного количества попыток и ошибок специалист на основе описания в настоящем документе сможет определить другие подходящие гуманизирующие замены (или их подходящие сочетания). Также на основе указанного выше нанотело (его каркасные области) может быть частично гуманизированными или полностью гуманизированными.

Таким образом, некоторые другие предпочтительные нанотела по изобретению представляют собой нанотела, которые могут связываться (как далее определено в настоящем документе) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и которые

- i) представляют собой гуманизированный вариант одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1); и/или
- ii) содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1), где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в которых

- i) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2 ниже.

По другому конкретному аспекту изобретения изобретение относится к ряду фрагментов из аминокислотных остатков (т.е. малых пептидов), которые особенно подходят для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Эти фрагменты из аминокислотных остатков могут присутствовать и/или можно встраивать в аминокислотную последовательность по изобретению, в частности, таким способом, что они формируют антигенсвязывающий участок аминокислотной последовательности по изобретению (ее часть). Так как эти фрагменты из аминокислотных остатков впервые получены в виде последовательностей CDR антигенов из тяжелых цепей или последовательностей V_{HH} , которые индуцированы против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (или могут быть основаны на таких последовательностях CDR и/или получены из них, как далее описано в настоящем

документе), их также, как правило, обозначают в настоящем документе как "последовательности CDR" (т.е. как последовательности CDR1, последовательности CDR2 и последовательности CDR3 соответственно). Однако следует отметить, что изобретение в своем самом широком смысле не ограничено конкретной структурной ролью или функцией, которые эти фрагменты из аминокислотных остатков могут выполнять в аминокислотной последовательности по изобретению, при условии, что эти фрагменты из аминокислотных остатков обеспечивают связывание аминокислотной последовательности по изобретению с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Таким образом, в общем, изобретение в своем самом широком смысле включает любую аминокислотную последовательность, которая способна к связыванию с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и, которая содержит одну или несколько последовательностей CDR, как описано в настоящем документе, и, в частности, подходящую комбинацию двух или более таких последовательностей CDR, которые подходящим образом связаны друг с другом посредством одной или нескольких дополнительных аминокислотных последовательностей так, что вся аминокислотная последовательность формирует связывающий домен и/или связывающую единицу, которая способна к связыванию с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Однако следует отметить, что присутствие в аминокислотной последовательности по изобретению только одной из таких последовательностей CDR уже само по себе может быть достаточным для обеспечения способности аминокислотной последовательности по изобретению к связыванию с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; также делается ссылка, например, на так называемые "упрощенные фрагменты", описанные в WO 03/050531 или в последующих поданных заявках.

Таким образом, в другом конкретном, но неограничивающем аспекте аминокислотная последовательность (или ISV) по изобретению может представлять собой аминокислотную последовательность, которая содержит по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из последовательностей CDR1, последовательностей CDR2 и последовательностей CDR3, описываемых в настоящем документе (или их любого подходящего сочетания). В частности, аминокислотная последовательность по изобретению может представлять собой аминокислотную последовательность, которая содержит по меньшей мере один антигенсвязывающий участок, где указанный антигенсвязывающий участок содержит по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, которая выбрана из группы, состоящей из последовательностей CDR1, последовательностей CDR2 и последовательностей CDR3, описываемых в настоящем документе (или их любого подходящего сочетания).

Как правило, в этом аспекте изобретения аминокислотная последовательность (или ISV) по изобретению может представлять собой любую аминокислотную последовательность, которая содержит по меньшей мере один фрагмент из аминокислотных остатков, где указанный фрагмент из аминокислотных остатков содержит аминокислотную последовательность, соответствующую последовательности по меньшей мере одной из последовательностей CDR, описываемых в настоящем документе. Такая аминокислотная последовательность может содержать или не содержать иммуноглобулиновую укладку. Например и без ограничения, такая аминокислотная последовательность может представлять собой подходящий фрагмент последовательности иммуноглобулина, который содержит по меньшей мере одну такую последовательность CDR, но недостаточно большой, чтобы сформировать (полную) иммуноглобулиновую укладку (например, ссылка снова приведена на "упрощенные фрагменты", описанные в WO 03/050531).

Альтернативно, такая аминокислотная последовательность может представлять собой подходящий "белковый каркас", который содержит по меньшей мере один фрагмент из аминокислотных остатков, соответствующий такой последовательности CDR (т.е. как часть ее антигенсвязывающего участка). Подходящие каркасы для получения аминокислотных последовательностей известны специалисту, и например, включают, без ограничения, связывающие каркасы на основе или получаемые из иммуноглобулинов (т.е. отличные от последовательностей иммуноглобулинов уже описанных в настоящем документе), белковые каркасы, получаемые из доменов белка А (такие как Affibodies™), тендамистат, фибронектин, липокалин, CTLA-4, Т-клеточные рецепторы, сконструированные анкириновые повторы, авимеры и домены PDZ (Binz et al., Nat. Biotech 2005, 23:1257) и связывающие молекулы на основе ДНК или РНК, включая в качестве неограничивающих примеров аптамеры ДНК или РНК (Ulrich et al., Comb Chem High Throughput Screen 2006 9(8):619-32).

Кроме того, любая аминокислотная последовательность (или ISV) по изобретению, которая содержит одну или несколько этих последовательностей CDR, предпочтительно является такой, что она может специфически связываться (как определено в настоящем документе) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, а более конкретно такой, что она может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительного или кажущегося), значения K_A (действительного или кажущегося), константы скорости прямой реакции k_{on} и/или константы скорости обратной реакции k_{off} или, альтернативно, в виде значения IC_{50} , как далее описано в настоящем документе), как определено в настоящем документе.

Более конкретно аминокислотные последовательности по этому аспекту изобретения могут пред-

ставлять собой любую аминокислотную последовательность (или ISV), которая содержит по меньшей мере один антигенсвязывающий участок, где указанный антигенсвязывающий участок содержит по меньшей мере две аминокислотные последовательности, которые выбраны из группы, состоящей из последовательностей CDR1, описываемых в настоящем документе, последовательностей CDR2, описываемых в настоящем документе, и последовательностей CDR3, описываемых в настоящем документе, таких, что (i) когда первая аминокислотная последовательность выбрана из последовательностей CDR1, описываемых в настоящем документе, вторая аминокислотная последовательность выбрана из последовательностей CDR2, описываемых в настоящем документе, или из последовательностей CDR3, описываемых в настоящем документе; (ii) когда первая аминокислотная последовательность выбрана из последовательностей CDR2, описываемых в настоящем документе, вторая аминокислотная последовательность выбрана из последовательностей CDR1, описываемых в настоящем документе, или из последовательностей CDR3, описываемых в настоящем документе; или (iii) когда первая аминокислотная последовательность выбрана из последовательностей CDR3, описываемых в настоящем документе, вторая аминокислотная последовательность выбрана из последовательностей CDR1, описываемых в настоящем документе, или из последовательностей CDR3, описываемых в настоящем документе.

Еще более конкретно аминокислотные последовательности по изобретению могут представлять собой аминокислотные последовательности (или ISV), которые содержат по меньшей мере один антигенсвязывающий участок, где указанный антигенсвязывающий участок содержит по меньшей мере три аминокислотных последовательности, которые выбраны из группы, состоящей из последовательностей CDR1, описываемых в настоящем документе, последовательностей CDR2, описываемых в настоящем документе, и последовательностей CDR3, описываемых в настоящем документе, так, что первая аминокислотная последовательность выбрана из последовательностей CDR1, описываемых в настоящем документе, вторая аминокислотная последовательность выбрана из последовательностей CDR2, описываемых в настоящем документе, и третья аминокислотная последовательность выбрана из последовательностей CDR3, описываемых в настоящем документе. Предпочтительные комбинации последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе. Как понятно специалисту, такая аминокислотная последовательность, предпочтительно представляет собой последовательность иммуноглобулина (как далее описано в настоящем документе), но она также может представлять собой, например, любую другую аминокислотную последовательность, которая содержит подходящий каркас для презентации указанных последовательностей CDR.

Таким образом, в одном конкретном, но неограничивающем аспекте изобретение относится к аминокислотной последовательности (и, в частности, ISV), направленной против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, которая содержит один или несколько фрагментов из аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из

- a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
 - b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
 - c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
 - d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
 - e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
 - f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
 - g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
 - h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
 - i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- или их любого подходящего сочетания.

Когда аминокислотная последовательность (или ISV) по изобретению содержит одну или несколько аминокислотных последовательностей в соответствии с b) и/или c),

- i) любая замена аминокислоты в такой аминокислотной последовательности в соответствии с b) и/или c) предпочтительно и по сравнению с аминокислотной последовательностью в соответствии с a) является консервативной заменой аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или
- ii) аминокислотная последовательность в соответствии с b) и/или c) по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью в соответствии с a) предпочтительно содержит только замены аминокислот и не содержит делеций или вставок аминокислот; и/или
- iii) аминокислотная последовательность в соответствии с b) и/или c) может представлять собой аминокислотную последовательность, которая получена из аминокислотной последовательности в соответствии с a) посредством созревания аффинности с использованием одного или нескольких известных способов созревания аффинности.

Подобным образом, когда аминокислотная последовательность по изобретению содержит одну или несколько аминокислотных последовательностей в соответствии с e) и/или f),

i) любая замена аминокислоты в такой аминокислотной последовательности в соответствии с e) и/или f) предпочтительно и по сравнению с аминокислотной последовательностью в соответствии с d) является консервативной заменой аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

ii) аминокислотная последовательность в соответствии с e) и/или f) предпочтительно содержит только замены аминокислот и не содержит делеций или вставок аминокислот по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью в соответствии с d); и/или

iii) аминокислотная последовательность в соответствии с e) и/или f) может представлять собой аминокислотную последовательность, которая получена из аминокислотной последовательности в соответствии с d) посредством созревания аффинности с использованием одного или нескольких известных способов созревания аффинности.

Также подобным образом, когда аминокислотная последовательность по изобретению содержит одну или несколько аминокислотных последовательностей в соответствии с h) и/или i),

i) любая замена аминокислоты в такой аминокислотной последовательности в соответствии с h) и/или i) предпочтительно и по сравнению с аминокислотной последовательностью в соответствии с g) является консервативной заменой аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

ii) аминокислотная последовательность в соответствии с h) и/или i) предпочтительно содержит только замены аминокислот и не содержит делеций или вставок аминокислот по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью в соответствии с g); и/или

iii) аминокислотная последовательность в соответствии с h) и/или i) может представлять собой аминокислотную последовательность, которая получена из аминокислотной последовательности в соответствии с g) посредством созревания аффинности с использованием одного или нескольких известных способов созревания аффинности.

Следует понимать, что два последних предшествующих раздела также в основном применимы к любым аминокислотным последовательностям по изобретению, которые содержат одну или несколько аминокислотных последовательностей в соответствии с b), c), e), f), h) или i) соответственно.

В этом конкретном аспекте аминокислотная последовательность (или ISV) предпочтительно содержит один или несколько фрагментов из аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из

i) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

ii) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409 и

iii) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551

или их любого подходящего сочетания.

Также предпочтительно в такой аминокислотной последовательности по меньшей мере один из указанных фрагментов из аминокислотных остатков формирует часть антигенсвязывающего участка для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

В более конкретном, но также неограничивающем аспекте изобретение относится к аминокислотной последовательности (или ISV), направленной против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, которая содержит два или более фрагментов из аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из:

a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

так, что (i) когда первый фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с a), b) или c), второй фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с d), e), f), g), h) или i); (ii) когда первый фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с d), e) или f), второй фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с a), b), c), g), h) или i); или (iii) когда первый фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последователь-

ностей в соответствии с g), h) или i), второй фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с a), b), c), d), e) или f).

В этом конкретном аспекте аминокислотная последовательность предпочтительно содержит два или более фрагментов из аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из

- i) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- ii) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409 и
- iii) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

так, что (i) когда первый фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267, второй фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409 или SEQ ID NO: 481-551; (ii) когда первый фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409, второй фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267 или SEQ ID NO: 481-551; или (iii) когда первый фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551, второй фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267 или SEQ ID NO: 339-409.

Также в такой аминокислотной последовательности по меньшей мере два фрагмента из аминокислотных остатков также предпочтительно формируют часть антигенсвязывающего участка для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Даже в более конкретном, но неограничивающем аспекте изобретение относится к аминокислотной последовательности (или ISV), направленной против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, которая содержит три или более фрагмента из аминокислотных остатков, где

первый фрагмент из аминокислотных остатков выбран из группы, состоящей из

- a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

второй фрагмент из аминокислотных остатков выбран из группы, состоящей из

- d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

и третий фрагмент из аминокислотных остатков выбран из группы, состоящей из

- g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551.

Предпочтительно в этом конкретном аспекте первый фрагмент из аминокислотных остатков выбран из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267; второй фрагмент из аминокислотных остатков выбран из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409; и третий фрагмент из аминокислотных остатков выбран из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551.

Кроме того, предпочтительно в такой аминокислотной последовательности по меньшей мере три фрагмента из аминокислотных остатков формируют часть антигенсвязывающего участка для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Предпочтительные комбинации таких фрагментов аминокислотных последовательностей станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Предпочтительно в таких аминокислотных последовательностях последовательности CDR содержат по меньшей мере 70% идентичных аминокислот, предпочтительно по меньшей мере 80% идентичных аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 90% идентичных аминокислот, например 95% идентичных аминокислот или более или даже, по существу, 100% идентичных аминокислот с последовательностями CDR по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1). Эту степень идентичности аминокислот можно определять, например, посредством определения степени идентичности аминокислот (способом, описываемым в настоящем документе) между указанной аминокислотной последовательностью и одной или несколькими последовательностями SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1), в которых аминокислотные остатки, которые формируют каркасные области, не учитываются. Также такие аминокислотные последовательности по изобретению могут быть такими, как далее описано в настоящем документе.

Также такие аминокислотные последовательности предпочтительно являются такими, что они мо-

гут специфически связываться (как определено в настоящем документе) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; а более конкретно связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительного или кажущегося), значения K_A (действительного или кажущегося), константы скорости прямой реакции k_{on} и/или константы скорости обратной реакции k_{off} или, альтернативно, в виде значения IC_{50} , как далее описано в настоящем документе), как определено в настоящем документе.

Когда аминокислотная последовательность (или ISV) по изобретению, по существу, состоит из 4 каркасных областей (FR1-FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (CDR1-CDR3 соответственно), аминокислотная последовательность по изобретению предпочтительно является такой, что

CDR1 выбрана из группы, состоящей из

- a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267; и/или

CDR2 выбрана из группы, состоящей из

- d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409; и/или

CDR3 выбрана из группы, состоящей из

- g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551.

В частности, такая аминокислотная последовательность (или ISV) по изобретению может быть такой, что CDR1 выбрана из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267; и/или CDR2 выбрана из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409; и/или CDR3 выбрана из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551.

В частности, когда аминокислотная последовательность (или ISV) по изобретению, по существу, состоит из 4 каркасных областей (FR1-FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (CDR1-CDR3 соответственно), аминокислотная последовательность по изобретению предпочтительно является такой, что

CDR1 выбрана из группы, состоящей из

- a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267; и

CDR2 выбрана из группы, состоящей из

- d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409; и

CDR3 выбрана из группы, состоящей из

- g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551 или с любым подходящим фрагментом таких аминокислотных последовательностей.

В частности, такая аминокислотная последовательность (или ISV) по изобретению может быть такой, что CDR1 выбрана из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267; и CDR2 выбрана из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409; и CDR3 выбрана из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551.

Кроме того, предпочтительные комбинации последовательностей CDR станут понятны из дальней-

шего описания в настоящем документе.

Также такие аминокислотные последовательности предпочтительно являются такими, что они могут специфически связываться (как определено в настоящем документе) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания; а более конкретно связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительного или кажущегося), значения K_A (действительного или кажущегося), константы скорости прямой реакции k_{on} и/или константы скорости обратной реакции k_{off} или, альтернативно, в виде значения IC_{50} , как далее описано в настоящем документе), как определено в настоящем документе.

В одном из предпочтительных, но неограничивающих аспектов изобретение относится к аминокислотной последовательности (или ISV), которая, по существу, состоит из 4 каркасных областей (FR1-FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (CDR1-CDR3 соответственно), в которой последовательности CDR указанной аминокислотной последовательности содержат по меньшей мере 70% идентичных аминокислот, предпочтительно по меньшей мере 80% идентичных аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 90% идентичных аминокислот, например 95% идентичных аминокислот или более или даже, по существу, 100% идентичных аминокислот с последовательностями CDR по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1). Эту степень идентичности аминокислот можно определять, например, посредством определения степени идентичности аминокислот (способом, описываемым в настоящем документе) между указанной аминокислотной последовательностью и одной или несколькими последовательностями SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1), в которых аминокислотные остатки, которые формируют каркасные области, не учитывают. Такие аминокислотные последовательности по изобретению могут быть такими, как далее описано в настоящем документе.

В такой аминокислотной последовательности по изобретению каркасные последовательности могут быть любыми подходящими каркасными последовательностями, и примеры подходящих каркасных последовательностей станут понятны специалисту, например, на основе стандартных руководств и дальнейшего описания и известного уровня техники, указываемого в настоящем документе.

Каркасные последовательности предпочтительно представляют собой иммуноглобулиновые каркасные последовательности или каркасные последовательности, которые получены из иммуноглобулиновых каркасных последовательностей (например, посредством гуманизации или камелизации) (их подходящую комбинацию). Например, каркасные последовательности могут представлять собой каркасные последовательности, получаемые из варибельного домена легкой цепи (например, последовательности V_L) и/или из варибельного домена тяжелой цепи (например, последовательности V_H). В одном особенно предпочтительном аспекте каркасные последовательности представляют собой любые каркасные последовательности, которые получены из последовательности V_{HH} (в которой указанные каркасные последовательности необязательно могут быть частично или полностью гуманизированными), или представляют собой общеизвестные последовательности V_H , которые были камелизированы (как определено в настоящем документе).

Каркасные последовательности предпочтительно являются такими, что аминокислотная последовательность (или ISV) по изобретению представляет собой доменное антитело (или аминокислотную последовательность, которая подходит для использования в качестве доменного антитела); представляет собой однодоменное антитело (или аминокислотную последовательность, которая подходит для использования в качестве однодоменного антитела); представляет собой "dAb" (или аминокислотную последовательность, которая подходит для использования в качестве dAb); или представляет собой нанотело (включая в качестве неограничивающих примеров последовательность V_{HH}). Кроме того, подходящие каркасные последовательности станут понятны специалисту, например, на основе стандартных руководств и дальнейшего описания и известного уровня техники, указываемого в настоящем документе.

В частности, каркасные последовательности, присутствующие в аминокислотных последовательностях по изобретению, могут содержать один или несколько характерных остатков (как определено в настоящем документе) так, что аминокислотная последовательность по изобретению представляет собой нанотело. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких каркасных последовательностей (их подходящих комбинаций) станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Кроме того, как в основном описано в настоящем документе для аминокислотных последовательностей по изобретению, также возможно использовать подходящие фрагменты (или комбинации фрагментов) любого из указанного выше, например фрагменты, которые содержат одну или несколько последовательностей CDR, подходящим образом фланкированных и/или связанных посредством одной или нескольких каркасных последовательностей (например, в том же порядке, как эти последовательности CDR и каркасные последовательности могут встречаться в полноразмерной последовательности иммуноглобулина, из которого получают фрагмент). Такие фрагменты также могут быть такими, что они содержат или могут формировать иммуноглобулиновую укладку или, альтернативно, быть такими, что они не содержат или не могут формировать иммуноглобулиновую укладку.

В одном конкретном аспекте такой фрагмент содержит одну последовательность CDR, как описано

в настоящем документе (и, в частности, последовательность CDR3), которая на каждой стороне фланкирована каркасной последовательностью (частью) (и, в частности, частью каркасной последовательности(ей)), которая в последовательности иммуноглобулина, из которой получен фрагмент, примыкает к указанной последовательности CDR. Например, перед последовательностью CDR3 может находиться последовательность FR3 (ее часть), а после нее последовательность FR4 (ее часть)). Такой фрагмент также может содержать дисульфидный мостик, и, в частности, дисульфидный мостик, который связывает две каркасные области, которые расположены до и после последовательности CDR соответственно (с целью формирования такого дисульфидного мостика можно использовать остатки цистеина, которые в природе находятся в указанной каркасной области, или, альтернативно, в указанные каркасные области остатки цистеина можно добавлять или вводить синтетически). Для дополнительного описания этих "упрошенных фрагментов" также приведена ссылка на WO 03/050531, а также WO 2008/068280 (также см. PCT/EP 2009/054533).

В другом аспекте изобретение относится к соединению или конструкции и, в частности, к белку или полипептиду (также обозначаемым в настоящем документе как "соединение по изобретению" или "полипептид по изобретению" соответственно), которые содержат или, по существу, состоят из одной или нескольких аминокислотных последовательностей (или ISV) по изобретению (или их подходящих фрагментов) и необязательно дополнительно содержит одну или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц. Как станет понятно специалисту из дальнейшего описания в настоящем документе, такие дополнительные группы, остатки, молекулы, связывающие единицы или аминокислотные последовательности могут обеспечивать или могут не обеспечивать дополнительную функциональность аминокислотной последовательности по изобретению (и/или соединению или конструкции, в которой они присутствуют) и могут или не могут модифицировать или не модифицировать свойства аминокислотной последовательности по изобретению.

Например, такие дополнительные группы, остатки, молекулы или связывающие единицы могут представлять собой одну или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей, таких, что соединение или конструкция представляют собой (слитый) белок или (слитый) полипептид. В предпочтительном, но неограничивающем аспекте указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц представляют собой последовательности иммуноглобулинов. Даже более предпочтительно указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц выбраны из группы, состоящей из доменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве доменного антитела, однодоменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве однодоменного антитела, "dAb", аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве dAb, или нанотел.

Альтернативно, такие группы, остатки, молекулы или связывающие единицы могут представлять собой, например, химические группы, остатки, молекулы, которые самостоятельно могут или не могут быть биологически и/или фармакологически активными. Например и без ограничения, такие группы могут быть связаны с одной или несколькими аминокислотными последовательностями по изобретению так, чтобы получить "производное" аминокислотной последовательности или полипептида по изобретению, как далее описано в настоящем документе.

Также в объеме настоящего изобретения находятся соединения или конструкции, которые содержат или, по существу, состоят из одного или нескольких производных, как описано в настоящем документе, и необязательно дополнительно содержат одну или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, необязательно связанных одним или несколькими линкерами. Предпочтительно указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц представляют собой аминокислотные последовательности.

В соединениях или конструкциях, описанных выше, одна или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению и одна или несколько групп, остатков, молекул или связывающих единиц могут быть связаны друг с другом непосредственно и/или посредством одного или нескольких подходящих линкеров или спейсеров. Например, когда одна или несколько групп, остатков, молекул или связывающих единиц представляют собой аминокислотные последовательности, линкеры также могут представлять собой аминокислотные последовательности так, что получаемое в результате соединение или конструкция представляет собой слитый (белок) или слитый (полипептид).

Как понятно из дальнейшего описания, приведенного выше и в настоящем документе, это означает что аминокислотные последовательности (или ISV) по изобретению можно использовать в качестве "структурных элементов" для получения полипептидов по изобретению, т.е. посредством подходящего их комбинирования друг с другом, одного или нескольких с другими аминокислотными последовательностями по изобретению и/или с одним или несколькими из других групп, остатков, молекул или связывающих единиц с получением соединений или конструкций, как описано в настоящем документе (таких как, без ограничения, бипаратопные, двух/поливалентные и ди/полиспецифические полипептиды по изобретению, описываемые в настоящем документе), которые комбинируют в одной молекуле одно или несколько желаемых свойств или биологических функций.

Соединения или полипептиды по изобретению в основном можно получать способом, включающим по меньшей мере одну стадию подходящего связывания одной или нескольких аминокислотных последовательностей (или ISV) по изобретению с одной или несколькими дополнительными группами, остатками, молекулами или связывающими единицами, необязательно, посредством одного или нескольких подходящих линкеров так, чтобы получить соединение или полипептид по изобретению. Полипептиды по изобретению также можно получать способом, который, как правило, включает, по меньшей мере, стадии получения нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид по изобретению, экспрессии указанной нуклеиновой кислоты подходящим образом и восстановления экспрессируемого полипептида по изобретению. Такие способы можно проводить известным образом, который понятен специалисту, например, на основе способов и технологий, далее описываемых в настоящем документе.

Способ конструирования/отбора и/или получения соединения или полипептида по изобретению, начиная от аминокислотной последовательности (или ISV) по изобретению, также обозначают в настоящем документе как "форматирование" указанной аминокислотной последовательности по изобретению; и аминокислота по изобретению, которая составляет часть соединения или полипептида по изобретению указана как "форматированная" или находящаяся "в формате" указанного соединения или полипептида по изобретению. Примеры способов, которыми можно форматировать аминокислотную последовательность по изобретению и примеры таких форматов станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе; и такие форматированные аминокислотные последовательности составляют дополнительный аспект изобретения.

В одном конкретном аспекте изобретения соединение по изобретению или полипептид по изобретению могут обладать увеличенным временем полужизни по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью по изобретению. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких соединений и полипептидов станут понятны специалисту на основе дальнейшего описания в настоящем документе и, например, включают аминокислотные последовательности или полипептиды по изобретению, модифицированные химически с увеличением их времени полужизни (например, посредством пегилирования); аминокислотные последовательности по изобретению, которые содержат по меньшей мере один дополнительный участок связывания для связывания с сывороточным белком (таким как сывороточный альбумин); или полипептиды по изобретению, которые содержат по меньшей мере одну аминокислотную последовательность по изобретению, которая связана по меньшей мере с одной молекулой (и, в частности, по меньшей мере с одной аминокислотной последовательностью), которая увеличивает время полужизни аминокислотной последовательности по изобретению. Примеры полипептидов по изобретению, которые содержат такие продлевающие время полужизни молекулы или аминокислотные последовательности, станут понятны специалисту на основе дальнейшего описания в настоящем документе; и, например, в качестве неограничивающих примеров включают, полипептиды, в которых одна или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению подходящим образом связаны с одним или несколькими сывороточными белками или их фрагментами (такими как сывороточный альбумин (человека) или его подходящие фрагменты) или с одной или несколькими связывающими единицами, которые могут связываться с сывороточными белками (например, такими как доменные антитела, аминокислотные последовательности, которые подходят для использования в качестве доменного антитела, однодоменные антитела, аминокислотные последовательности, которые подходят для использования в качестве однодоменного антитела, "dAb", аминокислотные последовательности, которые подходят для использования в качестве dAb, или нанотела, которые могут связываться с сывороточными белками, такими как сывороточный альбумин (такой как сывороточный альбумин человека), сывороточными иммуноглобулинами, такими как IgG или трансферрином; ссылка приведена на дальнейшее описание и ссылки, указываемые в настоящем документе); полипептиды, в которых аминокислотная последовательность по изобретению связана с частью Fc (такой как Fc человека) или ее подходящими частью или фрагментом; или полипептиды, в которых одна или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению подходящим образом связаны с одним или несколькими малыми белками или пептидами, которые могут связываться с сывороточными белками.

Например, соединение по изобретению или полипептид по изобретению могут содержать одну или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению (которые могут быть такими, как далее описано в настоящем документе; и когда присутствуют две или более аминокислотных последовательностей по изобретению, они могут быть одинаковыми или различными) и один или несколько (как правило, только один, который может представлять собой tandemный повтор в случае связывающего сывороточный альбумин пептида) связывающих сывороточный альбумин пептидов или связывающих сывороточный альбумин доменов (и необязательно одну или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, как далее описано в настоящем документе). В таких соединениях или полипептидах по изобретению "связывающий сывороточный альбумин пептид или связывающий сывороточный альбумин домен" могут представлять собой любой подходящий связывающий сывороточный альбумин пептид или связывающий сывороточный альбумин домен, способный к увеличению времени полужизни конструкции (по сравнению с той же конструкцией без связывающего сывороточный альбумин пептида или связывающего сывороточный альбумин домена), и, в частности, могут представлять собой связы-

вающие сывороточный альбумин пептиды, как описано в WO 2008/068280 заявителя (и, в частности, WO 2009/127691 и предварительно не опубликованной заявки США 61/301819 заявителя), или связывающий сывороточный альбумин одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (такой как связывающее сывороточный альбумин нанотело; например Alb-1 или гуманизированная версия Alb-1, такая как Alb-8, для которой приведена ссылка, например, на WO 06/122787). Также можно использовать Alb11. В одном из вариантов осуществления Alb11 содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 841 или SEQ ID NO: 842.

В отношении времени полужизни следует отметить, что в изобретении и посредством использования различных продлевающих время полужизни технологий, описываемых в настоящем документе (например, посредством подходящего выбора связывающего сывороточный альбумин пептида по WO 2008/068280, WO 2009/127691 и/или предварительно не опубликованной заявки US 61/301819), время полужизни конструкции или полипептида по изобретению можно (и предпочтительно это делается) подходящим образом "настраивать" для планируемого (терапевтического и/или диагностического) приложения и/или для получения наилучшего баланса между желаемым терапевтическим и/или фармакологическим действием и возможными нежелательными побочными эффектами.

Как правило, время полужизни соединений или полипептидов с увеличенным временем полужизни по изобретению предпочтительно представляет собой время полужизни, которое, по существу, по меньшей мере в 1,5 раза, предпочтительно по меньшей мере в 2 раза, например, по меньшей мере в 5 раз, например, по меньшей мере в 10 раз или более чем в 20 раз продолжительнее, чем время полужизни соответствующей аминокислотной последовательности по изобретению. Например, время полужизни соединений или полипептидов с увеличенным временем полужизни по изобретению может составлять время полужизни, которое по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью по изобретению увеличено, по существу, более чем на 1 ч, предпочтительно более чем на 2 ч, более предпочтительно более чем на 6 ч, например, более чем на 12 ч или даже более чем на 24, 48 или 72 ч.

В предпочтительном, но неограничивающем аспекте изобретения такие соединения или полипептиды по изобретению обладают временем полужизни в сыворотке, которое по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью по изобретению увеличено, по существу, более чем на 1 ч, предпочтительно более чем на 2 ч, более предпочтительно более чем на 6 ч, например, более чем на 12 ч или даже более чем на 24, 48 или 72 ч.

В другом предпочтительном, но неограничивающем аспекте изобретения такие соединения или полипептиды по изобретению демонстрируют время полужизни в сыворотке у человека по меньшей мере приблизительно 12 ч, предпочтительно по меньшей мере 24 ч, более предпочтительно по меньшей мере 48 ч, даже более предпочтительно по меньшей мере 72 ч или более. Например, соединения или полипептиды по изобретению могут обладать временем полужизни по меньшей мере 5 суток (например, приблизительно 5-10 суток), предпочтительно по меньшей мере 9 суток (например, приблизительно 9-14 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10 суток (например, приблизительно 10-15 суток) или по меньшей мере приблизительно 11 суток (например, приблизительно 11-16 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 12 суток (например, приблизительно 12-18 суток или более) или более 14 суток (например, приблизительно 14-19 суток).

На фиг. 6 и в SEQ ID NO: 710-759, а также на фиг. 8 и в SEQ ID NO: 826-837 приведены некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры полипептидов по изобретению, и каждый из них составляет дополнительный аспект настоящего изобретения. Все эти полипептиды для обеспечения продленного времени полужизни содержат связывающее альбумин нанотело (Alb-8, которое также в настоящем документе обозначают как Alb-11) по WO 06/122787. Полипептиды на фиг. 8 и в SEQ ID NO: 826-837 в качестве структурных элементов основаны на гуманизированной и/или содержащей оптимизированную последовательность аминокислотной последовательности по изобретению. На основе дальнейшего описания в настоящем документе специалист сможет получать другие соединения, конструкции и/или полипептиды по изобретению, основанные на тех же или других структурных элементах, описываемых в настоящем документе и/или содержащих другую молекулу, связывающий домен, связывающую единицу или пептид для обеспечения продленного времени полужизни.

В другом аспекте изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей аминокислотную последовательность (или ISV) по изобретению или полипептид по изобретению (или его подходящий фрагмент). Такую нуклеиновую кислоту в настоящем документе также обозначают как "нуклеиновую кислоту по изобретению", и она может находиться, например, в форме генетической конструкции, как далее описано в настоящем документе. В дополнительном предпочтительном аспекте аминокислота по изобретению (или ISV) представляет собой рассматриваемый структурный элемент.

В другом аспекте изобретение относится к хозяину или клетке-хозяину, экспрессирующим (или которые в подходящих условиях способны к экспрессии) аминокислотную последовательность по изобретению и/или полипептид по изобретению; и/или которые содержат нуклеиновую кислоту по изобретению. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких хозяев или клеток-хозяев станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Кроме того, изобретение относится к продукту или композиции, содержащим или включающим по

меньшей мере одну аминокислотную последовательность (или ISV) по изобретению, по меньшей мере один полипептид по изобретению (или его подходящий фрагмент) и/или по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту по изобретению и необязательно один или несколько известных дополнительных компонентов таких композиций, т.е. в зависимости от назначаемого применения композиции. Такие продукт или композиция могут представлять собой, например, фармацевтическую композицию (как описано в настоящем документе), ветеринарную композицию или продукт или композицию для диагностического применения (как также описано в настоящем документе). Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких продуктов или композиций станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Изобретение также относится к применению аминокислотной последовательности (или ISV), нанотела или полипептида по изобретению или содержащих их композиций в (способах или композициях для) модуляции любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, *in vitro* (например, в анализе *in vitro* или клеточном анализе) или *in vivo* (например, в одноклеточном или многоклеточном организме и, в частности, у млекопитающего, а более конкретно у человека, например у человека с риском или страдающего иммунологическими заболеваниями и нарушениями по изобретению).

Изобретение также относится к способам модуляции IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, *in vitro* (например, в анализах *in vitro* или клеточном анализе) или *in vivo* (например, в одноклеточном или многоклеточном организме и, в частности, у млекопитающего, а более конкретно у человека, например, у человека с риском или страдающего иммунологическими заболеваниями и нарушениями по изобретению), где способ включает, по меньшей мере, стадию приведения в контакт IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, по меньшей мере с одной аминокислотной последовательностью (или ISV), нанотелом или полипептидом по изобретению или с содержащей их композицией таким образом и в таком количестве, которые подходят для модуляции IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, по меньшей мере одной аминокислотной последовательностью (или ISV), нанотелом или полипептидом по изобретению.

Изобретение также относится к применению одного из аминокислотной последовательности (или ISV), нанотела или полипептида по изобретению в получении композиции (такой как, без ограничения, фармацевтическая композиция или препарат, как далее описано в настоящем документе) для модуляции IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, *in vitro* (например, в анализе *in vitro* или в клеточном анализе) или *in vivo* (например, у одноклеточного или многоклеточного организма и, в частности, у млекопитающего, а более конкретно у человека, например у человека с риском или страдающего иммунологическими заболеваниями и нарушениями по изобретению).

В контексте настоящего изобретения "модуляция" или "модулировать", как правило, означают снижение или ингибирование активности или, альтернативно, увеличение активности IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, как измеряют посредством подходящего анализа *in vitro*, клеточного анализа или анализа *in vivo* (таких как анализы, указываемые в настоящем документе). В частности, "модуляция" или "модулировать" может означать снижение или ингибирование активности или, альтернативно, увеличение активности IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, как измеряют с применением подходящего анализа *in vitro*, клеточного анализа или анализа *in vivo* (таких как анализы, указываемые в настоящем документе), по меньшей мере на 1%, предпочтительно по меньшей мере на 5%, так как по меньшей мере на 10% или по меньшей мере на 25%, например по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или на 90% или более по сравнению с активностью IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, в том же анализе в тех же условиях, но без присутствия аминокислотной последовательности, нанотела или полипептида по изобретению.

Как понятно специалисту, "модуляция" также может включать проведение изменений (которые могут представлять собой увеличение или снижение) в аффинности, avidности, специфичности и/или селективности любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, в отношении одного или нескольких из их мишеней, лигандов или субстратов; и/или проведения изменения (которое может представлять собой увеличение или снижение) в чувствительности IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, к одному или нескольким из условий среды или окружения в которых присутствуют IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (таким как pH, ионную силу, присутствие кофакторов и т.д.), по сравнению с теми же условиями, но без присутствия аминокислотной последовательности (или ISV), нанотела или полипептида по изобретению. Как понятно специалисту, это также можно определять любым подходящим способом и/или с использованием любого известного подходящего анализа, такого как анализы, описываемые в настоящем документе или на известном уровне техники, приводимого в настоящем документе.

"Модуляция" также может означать проведение изменений (т.е. активности в качестве агониста или в качестве антагониста соответственно) в отношении одного или нескольких биологических или физиологических механизмов, эффектов, видов ответа, функций, путей или видов активности, в которые вовлечены IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (или в которые вовлечены их субстраты, лиганды или пути, такие как их путь передачи сигнала или метаболический путь и связанные с ними

биологические или физиологические эффекты). Кроме того, как понятно специалисту, такое действие в качестве агониста или антагониста можно определять любым подходящим способом и/или с использованием любого известного подходящего анализа (анализа *in vitro* и, как правило, клеточного анализа или анализа *in vivo*), такого как анализы, описываемые в настоящем документе или на известном уровне техники, приводимом в настоящем документе. В частности, действие в качестве агониста или антагониста может быть таким, что заданная биологическая или физиологическая активность по сравнению с биологической или физиологической активностью в том же анализе в тех же условиях, но без присутствия аминокислотной последовательности (или ISV), нанотела или полипептида по изобретению, увеличиваются или снижаются, соответственно, по меньшей мере на 1%, предпочтительно по меньшей мере на 5%, например, по меньшей мере на 10% или по меньшей мере на 25%, например, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или на 90% или более.

Модуляция может включать, например, уменьшение или ингибирование связывания любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с одним из их субстратов или лигандов и/или конкурентное связывание с природными лигандами, субстратом за связывание с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Модуляция также может включать активацию любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или механизмов или путей, в которых они участвуют. Модуляция может быть обратимой или необратимой, но для фармацевтических и фармакологических целей ее, как правило, проводят обратимым способом.

Кроме того, изобретение относится к способам получения или формирования аминокислотных последовательностей (или ISV), полипептидов, нуклеиновых кислот, клеток-хозяев, продуктов и композиций, описываемых в настоящем документе. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких способов станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Как правило, эти способы могут включать стадии:

- a) получение набора, коллекции или библиотеки аминокислотных последовательностей;
- b) скрининг указанных набора, коллекции или библиотеки аминокислотных последовательностей на аминокислотные последовательности, которые могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладают аффинностью к ним; и
- c) выделение аминокислотной последовательности(ей), которая может связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладает аффинностью к ним.

В таком способе набор, коллекция или библиотека аминокислотных последовательностей могут представлять собой любые подходящие набор, коллекцию или библиотеку аминокислотных последовательностей. Например, набор, коллекция или библиотека аминокислотных последовательностей могут представлять собой набор, коллекцию или библиотеку последовательностей иммуноглобулинов (как описано в настоящем документе), такие как набор, коллекция или библиотека последовательностей первичных иммуноглобулинов; набор, коллекция или библиотека синтетических или полусинтетических последовательностей иммуноглобулинов; и/или набор, коллекция или библиотека последовательностей иммуноглобулинов, которые подвергали созреванию аффинности.

Также в таком способе набор, коллекция или библиотека аминокислотных последовательностей могут представлять собой набор, коллекцию или библиотеку переменных доменов тяжелых цепей (таких как домены V_H или домены V_{HH}) или переменных доменов легких цепей. Например, набор, коллекция или библиотека аминокислотных последовательностей могут представлять собой набор, коллекцию или библиотеку доменных антител или однодоменных антител или ISV, или могут представлять собой набор, коллекцию или библиотеку аминокислотных последовательностей, которые способны к функционированию в качестве доменного антитела, или однодоменного антитела, или ISV.

В предпочтительном аспекте этого способа набор, коллекция или библиотека аминокислотных последовательностей могут представлять собой иммунный набор, коллекцию или библиотеку последовательностей иммуноглобулинов, например, полученных у млекопитающего, которое подходящим образом иммунизировали любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или подходящей антигенной детерминантой на их основе или полученной из них, такой как антигенная часть, фрагмент, область, домен, петля или другой их эпитоп. В одном из конкретных аспектов указанная антигенная детерминанта может представлять собой внеклеточную часть, область, домен, петлю или другой внеклеточный эпитоп(ы).

В указанных выше способах набор, коллекцию или библиотеку аминокислотных последовательностей можно экспонировать на фаге, фагмиде, рибосоме или в подходящем микроорганизме (таком как дрожжи), например, для облегчения скрининга. Подходящие способы, технологии и организмы-хозяева для экспонирования и скрининга (набора, коллекции или библиотеки) аминокислотных последовательностей станут понятны специалисту в данной области, например, на основе дальнейшего описания в настоящем документе. Также приведена ссылка на обзор Hoogenboom в *Nature Biotechnology*, 23, 9, 1105-1116 (2005).

В другом аспекте способ получения аминокислотных последовательностей включает по меньшей мере стадии:

- a) предоставление коллекции или образца клеток, экспрессирующих аминокислотные последова-

тельности;

b) скрининг указанных коллекции или образца клеток на клетки, экспрессирующие аминокислотные последовательности, которые могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладают аффинностью к ним; и

c) или (i) выделение указанной аминокислотной последовательности; или (ii) выделение из указанной клетки последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей указанную аминокислотную последовательность с последующей экспрессией указанной аминокислотной последовательности.

Например, когда желаемая аминокислотная последовательность представляет собой последовательность иммуноглобулина, коллекция или образец клеток могут представлять собой, например, коллекцию или образец В-клеток. Также в этом способе образец клеток можно получать у млекопитающего, которое подходящим образом иммунизировали любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или подходящей антигенной детерминантой на их основе или полученной из них, например антигенной частью, фрагментом, областью, доменом, петлей или другим их эпитопом. В одном из конкретных аспектов указанная антигенная детерминанта может представлять собой внеклеточные часть, область, домен, петлю или другой внеклеточный эпитоп(ы).

Указанный выше способ можно проводить любым подходящим образом, как понятно специалисту. Ссылка приведена, например, на EP 0542810, WO 05/19824, WO 04/051268 и WO 04/106377. Скрининг на стадии b) предпочтительно проводить с использованием способа проточной цитометрии, такого как FACS. Для этого ссылка приведена, например, на Lieby et al., Blood, Vol. 97, No. 12, 3820 (2001).

В другом аспекте способ получения аминокислотной последовательности, направленной против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, может включать, по меньшей мере, стадии:

a) предоставление набора, коллекции или библиотеки последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих аминокислотные последовательности;

b) скрининг указанного набора, коллекции или библиотеки последовательностей нуклеиновых кислот на последовательности нуклеиновых кислот, которые кодируют аминокислотную последовательность, которая может связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладает аффинностью к ним; и

c) выделение указанной последовательности нуклеиновой кислоты с последующей экспрессией указанной аминокислотной последовательности.

В таком способе, набор, коллекция или библиотека последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих аминокислотные последовательности, может представлять собой, например, набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих набор, коллекцию или библиотеку последовательностей наивных иммуноглобулинов; набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих набор, коллекцию или библиотеку синтетических или полусинтетических последовательностей иммуноглобулинов; и/или набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих набор, коллекцию или библиотеку последовательностей иммуноглобулинов, которые подвергали созреванию аффинности.

Также в таком способе набор, коллекция или библиотека последовательностей нуклеиновых кислот могут кодировать набор, коллекцию или библиотеку переменных доменов тяжелых цепей (таких как домены V_H или домены V_{HH}) или переменных доменов легких цепей. Например, набор, коллекция или библиотека последовательностей нуклеиновых кислот могут кодировать набор, коллекцию или библиотеку доменных антител или однодоменных антител или набор, коллекцию или библиотеку аминокислотных последовательностей, которые способны к функционированию в качестве доменного антитела или однодоменного антитела.

В предпочтительном аспекте этого способа набор, коллекция или библиотека последовательностей нуклеиновых кислот могут представлять собой иммунный набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нуклеиновых кислот, например, полученных у млекопитающего, которого подходящим образом иммунизировали любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или подходящей антигенной детерминантой на их основе или полученной из них, например, антигенной частью, фрагментом, областью, доменом, петлей или другим их эпитопом. В одном из конкретных аспектов указанная антигенная детерминанта может представлять собой внеклеточную часть, область, домен, петлю или другой внеклеточный эпитоп(ы).

Набор, коллекция или библиотека последовательностей нуклеиновых кислот могут кодировать, например, иммунный набор, коллекцию или библиотеку переменных доменов тяжелых цепей или переменных доменов легких цепей. В одном конкретном аспекте набор, коллекция или библиотека нуклеотидных последовательностей могут кодировать набор, коллекцию или библиотеку последовательностей V_{HH} .

В указанных выше способах набор, коллекцию или библиотеку нуклеотидных последовательностей можно экспонировать на фазе, фагмиде, рибосоме или в подходящем микроорганизме (таком как дрожжи), например, для облегчения скрининга. Подходящие способы, технологии и организмы-хозяева для экспонирования и скрининга (набора, коллекции или библиотеки) нуклеотидных последовательностей,

кодирующих аминокислотные последовательности станут понятны специалисту в данной области, например, на основе дальнейшего описания в настоящем документе. Также приведена ссылка на обзор Hoogenboom в Nature Biotechnology, 23, 9, 1105-1116 (2005).

В другом аспекте способ получения аминокислотной последовательности, направленной против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, может включать, по меньшей мере, стадии:

а) предоставление набора, коллекции или библиотеки последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих аминокислотные последовательности;

б) скрининг указанного набора, коллекции или библиотеки последовательностей нуклеиновых кислот на последовательности нуклеиновых кислот, которые кодируют аминокислотную последовательность, которая может связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладает аффинностью к ним, и которая является перекрестно блокируемым или является перекрестно блокирующим нанотелом по изобретению, например SEQ ID NO: 623-693 (табл. A-1), или гуманизированным нанотелом по изобретению, или полипептидом или конструкцией по изобретению; и

с) выделение указанной последовательности нуклеиновой кислоты с последующей экспрессией указанной аминокислотной последовательности.

Изобретение также относится к аминокислотным последовательностям, которые получают указанными выше способами или, альтернативно, способом, который включает один из указанных выше способов и, кроме того, по меньшей мере, стадии определения нуклеотидной последовательности или аминокислотной последовательности указанной последовательности иммуноглобулина и экспрессии или синтеза указанной аминокислотной последовательности известным способом, таким как посредством экспрессии в подходящей клетке-хозяине или организме-хозяине или посредством химического синтеза.

Также после приведенных выше стадий одну или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению можно подходящим образом гуманизировать (или, альтернативно, камелизировать); и/или полученные таким образом аминокислотные последовательности можно связывать друг с другом или с одной или несколькими другими подходящими аминокислотными последовательностями (необязательно посредством одного или нескольких подходящих линкеров) так, чтобы получить полипептид по изобретению. Также последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую аминокислотную последовательность по изобретению, можно подходящим образом гуманизировать (или, альтернативно, камелизировать) и подходящим образом экспрессировать; и/или одну или несколько последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих аминокислотную последовательность по изобретению, можно связывать друг с другом или с одной или несколькими последовательностями нуклеиновых кислот, которые кодируют другие подходящие аминокислотные последовательности (необязательно посредством нуклеотидных последовательностей, которые кодируют один или несколько подходящих линкеров), после чего полученную таким образом нуклеотидную последовательность можно подходящим образом экспрессировать так, чтобы получить полипептид по изобретению.

Кроме того, изобретение относится к приложениям и применениям аминокислотных последовательностей, соединений, конструкций, полипептидов, нуклеиновых кислот, клеток-хозяев, продуктов и композиций, описываемых в настоящем документе, а также к способам профилактики и/или лечения заболеваний и нарушений, связанных с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие приложения и применения станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Изобретение также относится к аминокислотным последовательностям, соединениям, конструкциям, полипептидам, нуклеиновым кислотам, клеткам-хозяевам, продуктам и композициям, описываемым в настоящем документе для применения в лечении.

В частности, изобретение также относится к аминокислотным последовательностям, соединениям, конструкциям, полипептидам, нуклеиновым кислотам, клеткам-хозяевам, продуктам и композициям, описываемым в настоящем документе для применения в лечении заболевания или нарушения, которые можно предотвратить или лечить посредством введения, нуждающемуся в этом индивидууму (фармацевтически эффективного количества) аминокислотной последовательности, соединения, конструкции или полипептида, как описано в настоящем документе.

Более конкретно изобретение относится к аминокислотным последовательностям, соединениям, конструкциям, полипептидам, нуклеиновым кислотам, клеткам-хозяевам, продуктам и композициям, описываемым в настоящем документе для применения в лечении иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению.

Другие аспекты, варианты осуществления, преимущества и приложения изобретения также станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе, в котором изобретение описано и обсуждено более подробно с указанием нанотел по изобретению и содержащих их полипептидов по изобретению, которые составляют некоторые из предпочтительных аспектов изобретения.

Как станет понятно из дальнейшего описания в настоящем документе, нанотела, как правило, обеспечивают определенные преимущества (указанные в настоящем документе) по сравнению с "dAb" или сходными (одно)доменными антителами или последовательностями иммуноглобулинов, где нанотела по

изобретению также обеспечивают эти преимущества. Однако специалисту понятно, что также можно применять более общие аспекты указанного ниже (или непосредственно или аналогично) с другими аминокислотными последовательностями по изобретению.

Подробное описание изобретения

В настоящем описании, примерах и формуле изобретения

а) если не указано или не определено иначе, все используемые термины имеют их обычные в данной области значения, которые известны специалисту. Ссылка приведена, например, на стандартные руководства, указанные в разделе а) на стр. 46 WO 08/020079;

б) если не указано иначе, термины "последовательность иммуноглобулина", "последовательность", "нуклеотидная последовательность" и "нуклеиновая кислота" являются такими, как описано в разделе б) на стр. 46 WO 08/020079;

с) если не указано иначе, все способы, стадии, технологии и манипуляции, которые конкретно подробно не описаны, можно проводить и проводили известными способами, как понятно специалисту. Ссылку снова делают на стандартные руководства и общий предшествующий уровень техники, указываемый в настоящем документе, и на дополнительно приведенные в них ссылки; а также, например, на следующие обзоры Presta, Adv. Drug Deliv. Rev. 2006, 58 (5-6): 640-56; Levin and Weiss, Mol. Biosyst. 2006, 2(1): 49-57; Irving et al., J. Immunol. Methods, 2001, 248(1-2), 31-45; Schmitz et al., Placenta, 2000, 21 Suppl. A, S106-12, Gonzales et al., Tumour Biol., 2005, 26(1), 31-43, в которых описаны способы белковой инженерии, такие как созревание аффинности, и другие улучшения специфичности и других желаемых свойств таких белков, как иммуноглобулины;

д) аминокислотные остатки указаны в соответствии со стандартным трехбуквенным или однобуквенным аминокислотным кодом. Ссылка приведена на табл. А-2 на стр. 48 международной заявки WO 08/020079 Ablynx N.V., озаглавленной "Amino acid sequences directed against IL-6R and polypeptides comprising the same for the treatment of diseases and disorders associated with IL-6 mediated signalling";

е) с целью сравнения двух или более нуклеотидных последовательностей проценты "идентичности последовательностей" между первой нуклеотидной последовательностью и второй нуклеотидной последовательностью можно рассчитывать и определять, как описано в разделе е) на стр. 49 WO 08/020079 (включенного в настоящий документ в качестве ссылки), например, деля [количество нуклеотидов в первой нуклеотидной последовательности, которые идентичны нуклеотидам в соответствующих положениях во второй нуклеотидной последовательности] на [общее количество нуклеотидов в первой нуклеотидной последовательности] и умножая на [100%], где каждую делецию, вставку, замену или добавление нуклеотида во второй нуклеотидной последовательности по сравнению с первой нуклеотидной последовательностью рассматривают как различие по одному нуклеотиду (положению); или с использованием подходящего компьютерного алгоритма или способа, так же как описано в разделе е) на стр. 49 WO 08/020079 (включенного в настоящий документ в качестве ссылки);

ф) с целью сравнения двух или более аминокислотных последовательностей проценты "идентичности последовательностей" между первой аминокислотной последовательностью и второй аминокислотной последовательностью (также обозначаемой в настоящем документе как "идентичность аминокислот") можно рассчитывать и определять, как описано в разделе ф) на стр. 49 и 50 WO 08/020079 (включенного в настоящий документ в качестве ссылки), например, деля [количество аминокислотных остатков в первой аминокислотной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в соответствующих положениях во второй аминокислотной последовательности] на [общее количество аминокислотных остатков в первой аминокислотной последовательности] и умножая на [100%], где каждую делецию, вставку, замену или добавление аминокислотного остатка во второй аминокислотной последовательности по сравнению с первой аминокислотной последовательностью рассматривают как различие по одному аминокислотному остатку (положению), т.е. как "различие по аминокислоте", как определено в настоящем документе; или с использованием подходящего компьютерного алгоритма или способа, так же как описано в разделе ф) на стр. 49 и 50 WO 08/020079 (включенного в настоящий документ в качестве ссылки).

Также при определении степени идентичности последовательностей между двумя аминокислотными последовательностями специалист может принимать в расчет так называемые "консервативные" замены аминокислот, как описано на стр. 50 WO 08/020079.

Любые замены аминокислот используемые для полипептидов, описываемых в настоящем документе, также можно основывать на анализе частот вариаций аминокислот в различных гомологичных белках различных видов, проведенном Schulz et al., Principles of Protein Structure, Springer-Verlag, 1978, на анализе структурообразующих потенциалов, проведенном Chou and Fasman, Biochemistry 13: 211, 1974 и Adv. Enzymol., 47: 45-149, 1978, и на анализе профилей гидрофобности в белках, проведенном Eisenberg et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 140-144, 1984; Kyte & Doolittle; J. Molec. Biol. 157: 105-132, 1981, и Goldman et al., Ann. Rev. Biophys. Chem. 15: 321-353, 1986, которые все полностью включены в настоящий документ в качестве ссылки. Информация о первичной, вторичной и третичной структуре нанотел приведена в описании в настоящем документе и в общем предшествующем уровне техники, приводимом выше. Также для этой цели приведена кристаллическая структура домена V_{HH} лампы, например Desmyter et al.,

Nature Structural Biology, Vol. 3, 9, 803 (1996); Spinelli et al., Natural Structural Biology (1996); 3, 752-757; и Decanniere et al., Structure, Vol. 7, 4, 3 61 (1999). Дополнительную информацию о некоторых аминокислотных остатках, которые в обычных доменах V_H формируют поверхность взаимодействия V_H/V_L , и потенциальных камелизирующих заменах в этих положениях, можно найти на известном уровне техники, приводимом выше;

g) аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновой кислоты указаны, как "точно такие же", если их последовательности на 100% идентичны (как определено в настоящем документе) по всей их длине;

h) при сравнении двух аминокислотных последовательностей термин "различие по аминокислоте" относится к вставке, делеции или замене одного аминокислотного остатка в положении первой последовательности по сравнению со второй последовательностью; при этом подразумевается, что две аминокислотные последовательности могут содержать одно, два или более таких различий по аминокислотам;

i) когда нуклеотидную последовательность или аминокислотную последовательность указывают как "содержащую" другую нуклеотидную последовательность или аминокислотную последовательность соответственно, или как "по существу состоящую из" другой нуклеотидной последовательности или аминокислотной последовательности, это имеет значение, приведенное в разделе i) на стр. 51-52 WO 08/020079;

j) термин "по существу, в выделенной форме" имеет значение, приведенное для него в разделе j) на стр. 52 и 53 WO 08/020079;

k) термины "домен" и "связывающий домен" имеют значения, приведенные для них в разделе k) на стр. 53 WO 08/020079;

l) термины "антигенная детерминанта" и "эпитоп", которые также в настоящем документе можно использовать взаимозаменяемо, имеют значения, приведенные для них в разделе l) на стр. 53 WO 08/020079. Эпитоп в настоящем изобретении относится к любой детерминанте пептида или производного пептида, способной к специфическому связыванию с аминокислотной последовательностью по изобретению. Эпитоп может содержать любое подходящее количество аминокислот, в любом подходящем положении (в отношении линейной последовательности IL-17A, и/или IL-17F, и/или IL-17A/F), ориентации (в отношении уложенных IL-17A, и/или IL-17F, и/или IL-17A/F) или их фрагмент, композиция аминокислота (и таким образом, по меньшей мере частично, заряд). Таким образом, например, эпитоп может состоять приблизительно из 3-10 аминокислот, как правило, 3-8 аминокислот, в одном или нескольких смежных или несмежных положениях относительно первичной последовательности IL-17A и/или IL-17F и/или IL-17A/F (например, эпитоп, по существу, может состоять из 2, 3, 4, 5, 6, 7, или 8 аминокислотных остатков, распределенных по 1, 2, 3, 4, или 5 несмежных положениях в CD38). Альтернативно, например, эпитоп можно рассматривать, как определяемый областью приблизительно из 5-40 смежных аминокислотных остатков (например, приблизительно 7-30 аминокислотных остатков, приблизительно 5-20 аминокислотных остатков или приблизительно 3-15 аминокислотных остатков) в IL-17A и/или IL-17F и/или IL-17A/F (самостоятельно или в комбинации с частью соседнего домена CD38). У некоторых эпитопов может быть реализован случай, когда для распознавания CDR или несколькими CDR (и таким образом наиболее важным для связывания с IL-17A, и/или IL-17F, и/или IL-17A/F, для аффинности и авидности антигена) критичным может являться только один аминокислотный остаток или только небольшое количество аминокислотных остатков. Фактически эпитоп можно охарактеризовать на основе одного или нескольких таких критических остатков, с признанием того, что другие остатки также могут вносить определенный меньший вклад в эпитоп. В том случае, когда эпитоп определен областью аминокислот, может происходить, что одна или несколько аминокислот в области вносят только небольшой вклад или даже незначительный вклад в связывание антитела так, что этот остаток можно подвергать замене на другой подходящий остаток без "потери" эпитопа, по меньшей мере, для некоторых аминокислотных последовательностей по изобретению, специфичных к нему;

m) как далее описано в разделе m) на стр. 53 WO 08/020079, аминокислотная последовательность (такая как нанотело, антитело, полипептид по изобретению или, в широком смысле, антигенсвязывающий белок или полипептид или его фрагмент), которая может (специфически) связываться с конкретной антигенной детерминантой, эпитопом, антигеном или белком (или по меньшей мере с одной их частью, фрагментом или эпитопом), которая обладает аффинностью к ним и/или которая обладает специфичностью к ним, указана как "противодействующая" или "направленная против" указанных антигенной детерминанты, эпитопа, антигена или белка;

n) термин "специфичность" имеет значение, приведенное для него в разделе n) на стр. 53-56 WO 08/020079; и, как там указано, относится к количеству различных типов антигенов или антигенных детерминант, с которыми может связываться конкретная антигенсвязывающая молекула или антигенсвязывающий белок (такой как нанотело или полипептид по изобретению). Такая связывающая способность в отношении аминокислотных последовательностей по настоящему изобретению иногда на всем протяжении настоящего документа обозначают как "специфичное связывание". Где бы в настоящем документе не встречался термин "специфичное связывание", он означает связывающую способность аминокислотной последовательности по настоящему изобретению, где связывание с мишенью демонстрирует такую

специфичность, как описано в этом разделе. Специфичность антигенсвязывающего белка можно определять на основе аффинности и/или авидности, как описано на стр. 53-56 WO 08/020079 (включенного в настоящий документ в качестве ссылки), где также описаны некоторые предпочтительные способы измерения связывания антигенсвязывающей молекулы (такой как нанотело или полипептид по изобретению) и соответствующего ей антигена. Как правило, антигенсвязывающие белки (такие как аминокислотные последовательности, нанотела и/или полипептиды по изобретению) связываются со своим антигеном с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, а предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л (т.е. с константой ассоциации (K_A) от 10^5 до 10^{12} л/моль или более, а предпочтительно от 10^7 до 10^{12} л/моль или более и более предпочтительно от 10^8 до 10^{12} л/моль). Любое значение K_D более 10^4 моль/л (или любое значение K_A меньше 10^4 M^{-1}) л/моль, как правило, считают показателем неспецифического связывания. Предпочтительно одновалентная последовательность иммуноглобулина по изобретению связывается с желаемым антигеном с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ. Специфическое связывание антигенсвязывающего белка с антигеном или антигенной детерминантой можно определять любым известным подходящим способом, включая, например, анализ Скэтчарда и/или анализы конкурентного связывания, такие как радиоиммунологические анализы (RIA), иммунологические ферментные анализы (EIA) и анализы конкуренции по типу "сэндвича" и различные их известные в данной области варианты; а также другие способы, указанные в настоящем документе. Как понятно специалисту и как описано на стр. 53-56 WO 08/020079, константа диссоциации может представлять собой действительную или кажущуюся константу диссоциации. Способы определения константы диссоциации известны специалисту и включают, например, способы, указанные на стр. 53-56 WO 08/020079;

о) время полужизни аминокислотной последовательности, соединения или полипептида по изобретению, как правило, можно определять, как описано в разделе о) на стр. 57 WO 08/020079, и, как указано там, оно относится к времени, необходимому для снижения концентрации аминокислотной последовательности, соединения или полипептида в сыворотке *in vivo* на 50%, например, вследствие разрушения последовательности или соединения и/или выведения или удаления последовательности или соединения посредством природных механизмов. Время полужизни аминокислотной последовательности, соединения или полипептида по изобретению *in vivo* можно определять любым известным способом, таким как посредством фармакокинетического анализа. Подходящие способы известны специалисту в данной области и в основном могут быть такими, как, например, описано в разделе о) на стр. 57 WO 08/020079. Как также указано в разделе о) на стр. 57 WO 08/020079, время полужизни можно выражать с использованием таких параметров, как $t_{1/2-\alpha}$, $t_{1/2-\beta}$ и площадь под кривой (AUC). Ссылка приведена, например, на экспериментальную часть ниже, а также на стандартные руководства, такие как Kenneth, A. et al.: *Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists and Peters et al, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach* (1996). Также ссылка приведена на "Pharmacokinetics", M. Gibaldi & D. Perron, published by Marcel Dekker, 2nd Rev. edition (1982). Термины "увеличение времени полужизни" или "увеличенное время полужизни" также являются такими, как определено в разделе о) на стр. 57 WO 08/020079 и, в частности, относятся к увеличению $t_{1/2-\beta}$, с увеличением или без увеличения $t_{1/2-\alpha}$ и/или AUC или обоих;

р) в контексте настоящего изобретения "модуляция" или "модулировать" в основном означает или снижение, или ингибирование активности, или, альтернативно, увеличение активности, мишени или антигена, как измеряют с использованием подходящего анализа *in vitro*, клеточного анализа или анализа *in vivo*. В частности, "модуляция" или "модулировать" могут означать или снижение, или ингибирование активности, или, альтернативно, увеличение (соответствующей или заданной) биологической активности мишени или антигена, как измеряют с использованием подходящего анализа *in vitro*, клеточного анализа или анализа *in vivo* (что, как правило, зависит от рассматриваемых мишени или антигена), по меньшей мере на 1%, предпочтительно по меньшей мере на 5%, например по меньшей мере на 10% или по меньшей мере на 25%, например по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или на 90% или более по сравнению с активностью мишени или антигена в том же анализе в тех же условиях, но без присутствия конструкции по изобретению.

Как понятно специалисту, "модуляция" также может включать проведение изменений (которые могут представлять собой повышение или снижение) аффинности, авидности, специфичности и/или селективности мишени или антигена в отношении одного или нескольких их лигандов, партнеров по связыванию, партнеров по ассоциации в гомомультимерную или гетеромультимерную форму или субстратов; и/или проведение изменений (которые могут представлять собой повышение или снижение) чувствительности мишени или антигена к одному или нескольким условиям среды или окружения, в которых находятся мишень или антиген (таких как pH, ионная сила, присутствие кофакторов и т.д.) по сравнению с теми же условиями, но без присутствия конструкции по изобретению. Как понятно специалисту это также можно определять любым подходящим способом и/или с использованием любого известного подходящего анализа в зависимости от рассматриваемых мишени или антигена.

"Модуляция" также может означать проведение изменений (т.е. активности в качестве агониста, в

качестве антагониста или как обратного агониста соответственно, в зависимости от мишени или антигена и желаемого биологического или физиологического действия) в отношении одного или нескольких биологических или физиологических механизмов, эффектов, видов ответа, функций, путей или видов активности, в которые вовлечены мишень или антиген (или в которые вовлечены их субстраты, лиганды или пути, такие как их путь передачи сигнала или метаболический путь и связанные с ними биологические или физиологические эффекты). Кроме того, как понятно специалисту, такое действие в качестве агониста или антагониста можно определять любым подходящим способом и/или с использованием любого известного подходящего анализа (анализа *in vitro* и, как правило, клеточного анализа или анализа *in vivo*) в зависимости от вовлеченных мишени или антигена. В частности, действие в качестве агониста или антагониста может быть таким, что заданная биологическая или физиологическая активность по сравнению с биологической или физиологической активностью в том же анализе в тех же условиях, но без присутствия конструкции по изобретению увеличиваются или снижаются, соответственно, по меньшей мере на 1%, предпочтительно по меньшей мере на 5%, например по меньшей мере на 10% или по меньшей мере на 25%, например по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80% или на 90% или более.

Также модуляция может включать, например, аллостерическую регуляцию мишени или антигена; и/или снижение или ингибирование связывания мишени или антигена с одним из их субстратов или лигандов и/или конкурирование с природными лигандом, субстратом за связывание с мишенью или антигеном. Модуляция также может включать активацию мишени, или антигена, или механизма, или пути, в которых они участвуют. Также модуляция может включать, например, проведение изменений в отношении фолдинга или конформации мишени или антигена или в отношении способности мишени или антигена сворачиваться, изменять свою конформацию (например, после связывания с лигандом), связывать с другими (суб)единицами или диссоциировать. Модуляция также может включать, например, проведение изменений в способности мишени или антигена транспортировать другие соединения или служить в качестве канала для других соединений (таких как ионы).

Модуляция может быть обратимой или необратимой, но для фармацевтических и фармакологических целей ее, как правило, проводят обратимым способом;

q) в отношении мишени или антигена термин "участок взаимодействия" на мишени или антигене означает участок, эпитоп, антигенную детерминанту, часть, домен или фрагмент из аминокислотных остатков на мишени или антигене, которые представляют собой участок связывания с лигандом, рецептором или другим партнером по связыванию, каталитический участок, участок расщепления, участок для аллостерического взаимодействия, участок, участвующий в мультимеризации (такой как гомомультимеризация или гетеродимеризация) мишени или антигена; или любые другие участок, эпитоп, антигенную детерминанту, часть, домен или фрагмент из аминокислотных остатков на мишени или антигене, которые вовлечены в биологическое действие или механизм мишени или антигена. В более общем смысле "участок взаимодействия" может представлять собой любые участок, эпитоп, антигенную детерминанту, часть, домен или фрагмент из аминокислотных остатков на мишени или антигене, с которыми аминокислотная последовательность или полипептид по изобретению могут связываться так, что происходит модуляция (как определено в настоящем документе) мишени или антигена (и/или любых пути, взаимодействия, передачи сигнала, биологического механизма или биологического действия, в которых вовлечены мишень или антиген);

г) аминокислотная последовательность или полипептид указаны как "специфичные для" первой мишени или антигена по сравнению со второй мишенью или антигеном, когда они связываются с первым антигеном с аффинностью (как описано выше и соответственно выражено в виде значения K_D , значение K_A , константа скорости обратной реакции K_{off} и/или константа скорости прямой реакции K_{on}), которая по меньшей мере в 10 раз, например по меньшей мере в 100 раз, а предпочтительно по меньшей мере в 1000 раз и до 10000 раз или более выше, чем аффинность, с которой указанная аминокислотная последовательность или полипептид связываются со второй мишенью или полипептидом. Например, первый антиген может связываться с мишенью или антигеном со значением K_D , которое по меньшей мере в 10 раз меньше, например по меньшей мере в 100 раз меньше, а предпочтительно по меньшей мере в 1000 раз меньше, например в 10000 раз меньше или даже менее этого, чем K_D , с которым указанная аминокислотная последовательность или полипептид связываются со второй мишенью или полипептидом.

Предпочтительно, когда аминокислотная последовательность или полипептид "специфичны для" первой мишени или антигена по сравнению со второй мишенью или антигеном, они направлены против (как определено в настоящем документе) указанных первых мишени или антигена, но не направлены против указанных вторых мишени или антигена;

с) термины "перекрестно блокируют", "перекрестно блокируемый" и "перекрестно блокирующий" используют в настоящем документе взаимозаменяемо для обозначения способности аминокислотной последовательности или других связывающих средств (таких как нанотело, полипептид или соединение или конструкция по изобретению) препятствовать связыванию данной мишени с другими аминокислотными последовательностями или связывающими средствами по изобретению. Степень, с которой аминокислотная последовательность или другие связывающие средства по изобретению способны препятство-

вать связыванию других аминокислотных последовательностей или связывающих средств с мишенью, и, таким образом, можно ли их считать перекрестно блокирующими по изобретению, можно определять с использованием анализов конкурентного связывания. В одном из особенно подходящих количественных анализов перекрестного блокирования используют устройство Bíasoge, посредством которого можно измерять степень взаимодействий с использованием технологии поверхностного плазмонного резонанса. В другом подходящем количественном анализе перекрестного блокирования используют подход на основе ELISA для измерения конкуренции между аминокислотными последовательностями или другими связывающими средствами за их связывание с мишенью.

В приводимом ниже описании в основном описан подходящий анализ Bíasoge для определения того, осуществляют ли аминокислотная последовательность или другие связывающие средства перекрестное блокирование по изобретению или способны ли они к нему. Следует понимать, что анализ можно использовать с любыми из аминокислотных последовательностей или других связывающих средств, описываемых в настоящем документе. Устройство Bíasoge (например, Bíasoge 3000) эксплуатируют в соответствии с рекомендациями производителя. Таким образом, в одном из анализов перекрестного блокирования белок-мишень связывают с чипом CM5 Bíasoge с использованием стандартной химии связывания аминов с получением поверхности, которую покрывают мишенью. Как правило, на чипе связывают 200-800 резонансных единиц мишени (количество, которое дает легкоизмеримые уровни связывания, но которое легко насыщается концентрациями используемого тестового реагента). Две тестируемых аминокислотных последовательности (обозначаемых А* и В*) для оценки на их способность к перекрестному блокированию друг друга смешивают в молярном отношении участков связывания один к одному в подходящем буфере с получением тестовой смеси. При расчете концентраций на основе участков связывания молекулярную массу аминокислотной последовательности считают как общую молекулярную массу аминокислотной последовательности, деленную на количество участков связывания мишени в этой аминокислотной последовательности. Концентрация каждой аминокислотной последовательности в тестовой смеси должна быть достаточно высокой, чтобы легко насыщать участки связывания для этой аминокислотной последовательности на молекулах-мишенях, захваченных на чипе Bíasoge. Аминокислотные последовательности в смеси находятся в одинаковых молярных концентрациях (на основе связывания), и эти концентрации, как правило, составляют от 1,00 до 1,5 мкмоль/л (на основе участка связывания). Также отдельно получают растворы, содержащие только А* и только В*. А* и В* в этих растворах должны находиться в том же буфере и в той же концентрации, как и в тестовой смеси. Тестовую смесь пропускают над покрытым мишенью чипом Bíasoge и количественно регистрируют связывание. Затем чип обрабатывают таким образом, чтобы удалить связанные аминокислотные последовательности без повреждения связанной с чипом мишени. Как правило, это проводят посредством обработки чипа 30 mM HCl в течение 60 с. Затем над покрытой мишенью поверхностью пропускают раствор только А* и количественно регистрируют связывание. Чип снова обрабатывают с удалением всех связанных аминокислотных последовательностей без повреждения связанной с чипом мишени. Затем над покрытой мишенью поверхностью пропускают раствор только В* и количественно регистрируют связывание. Затем рассчитывают максимальное теоретическое связывание смеси А* и В*, и оно составляет сумму связывания всех аминокислотных последовательностей, пропускаемых над поверхностью с мишенью отдельно. Если зарегистрированное фактическое связывание смеси является меньшим теоретического максимума, тогда две аминокислотных последовательности перекрестно блокируют друг друга. Таким образом, в широком смысле, перекрестно блокирующие аминокислотная последовательность или другое связывающее средство по изобретению представляют собой аминокислотную последовательность или другое связывающее средство, которые связываются с мишенью в приведенном выше анализе перекрестного блокирования Bíasoge так, что при анализе и в присутствии второй аминокислотной последовательности или другого связывающего средства по изобретению регистрируемое связывание составляет 80-0,1% (например, 80%-4%) от максимального теоретического связывания, конкретно 75-0,1% (например, 75-4%) от максимального теоретического связывания, а более конкретно от 70 до 0,1% (например, 70-4%) от максимального теоретического связывания (как только что определено выше) двух аминокислотных последовательностей или связывающих средств в комбинации. Анализ Bíasoge, описанный выше, представляет собой первичный анализ, используемый для определения перекрестного блокирования друг с другом аминокислотных последовательностей или других связывающих по изобретению. В редких случаях конкретные аминокислотные последовательности или другие связывающие средства не могут связываться с мишенью, связанной посредством химии аминов с чипом CM5 Bíasoge (как правило, это происходит, когда соответствующий участок связывания на мишени при связывании с чипом маскируется или разрушается). В таких случаях перекрестное блокирование можно определять с использованием меченого варианта мишени, например варианта с N-концевой His-меткой. В этом конкретном формате с чипом Bíasoge связывают аминокислотную последовательность против His, а затем над поверхностью чипа пропускают меченную His мишень, и ее захватывает аминокислотная последовательность против His. Анализ перекрестного связывания проводят, по существу, как описано выше, за исключением того, что после каждого цикла регенерации чипа на покрытую аминокислотной последовательностью против His поверхность наносят новую меченную His мишень. В дополнение к приводимому примеру с использовани-

ем мишени с N-концевой His-меткой, альтернативно можно использовать мишень с C-концевой His-меткой. Кроме того, для таких анализов перекрестного блокирования можно использовать различные другие комбинации меток и связывающих метки белков, которые известны в данной области (например, метка HA с антителами к HA; метка FLAG с антителами к FLAG; метка биотин со стрептавидином).

В приводимом ниже описании в основном описан подходящий анализ ELISA для определения того, осуществляют ли аминокислотная последовательность или другие связывающие средства, направленные против мишени, перекрестное блокирование по изобретению или способны ли они к нему, как определено в настоящем документе. Следует понимать, что анализ можно использовать с любыми из аминокислотных последовательностей (или других связывающих средств, таких как полипептиды по изобретению), описываемых в настоящем документе. Основным элементом анализа являются наличие аминокислотной последовательности или связывающего средства, направленных против мишени, нанесенных на лунки планшета для ELISA. Избыточное количество второй, потенциально перекрестно блокирующей аминокислотной последовательности против мишени добавляют в раствор (т.е. она не связана с планшетом для ELISA). Затем в лунки добавляют ограниченное количество мишени. Нанесенная аминокислотная последовательность и аминокислотная последовательность в растворе конкурируют за связывание ограниченного количества молекулы-мишени. Планшет отмывают для удаления избытка мишени, которая не связалась с нанесенной аминокислотной последовательностью, а также для удаления второй аминокислотной последовательности в жидкой фазе, а также любых комплексов, сформированных между второй аминокислотной последовательностью в жидкой фазе и мишенью. Затем измеряют количество связанной мишени с использованием реагента, который подходит для детекции мишени. Аминокислотная последовательность в растворе, способная перекрестно блокировать нанесенную аминокислотную последовательность, может вызывать снижение количества молекул-мишеней, которые могут связываться с нанесенной аминокислотной последовательностью относительно количества молекул-мишеней, которые могут связываться с аминокислотной последовательностью в отсутствие второй аминокислотной последовательности в жидкой фазе. В случае, когда в качестве иммобилизованной аминокислотной последовательности выбрана первая аминокислотная последовательность, например Ab-X, ей покрывают лунки планшета для ELISA, после чего планшет блокируют подходящим блокирующим раствором для минимизации неспецифического связывания реагентов, которые добавляют потом. Затем в планшет для ELISA добавляют избыточное количество второй аминокислотной последовательности, т.е. Ab-Y, так, чтобы молей участков связывания мишени Ab-Y в лунке было по меньшей мере в 10 раз больше, чем молей участков связывания мишени Ab-X, которые использовали для лунки при покрытии планшета для ELISA. Затем добавляют мишень так, чтобы молей мишени, добавляемой в лунку, было по меньшей мере в 25 раз меньше, чем молей участков связывания мишени Ab-X, которые использовали для покрытия каждой лунки. После подходящего периода инкубации планшет для ELISA отмывают и добавляют реагент для детекции мишени для измерения количества мишени, специфически связанной нанесенной против[аминокислотной последовательностью-мишенью (в этом случае Ab-X). Фоновый сигнал в анализе определяют как сигнал, получаемый в лунках, с нанесенной аминокислотной последовательностью (в этом случае Ab-X), второй аминокислотной последовательностью в жидкой фазе (в этом случае Ab-Y), только с буфером для мишени (т.е. без мишени) и реагентами для детекции мишени. Сигнал положительного контроля для анализа определяют как сигнал, полученный в лунках с нанесенной аминокислотной последовательностью (в этом случае Ab-X), только с буфером для второй аминокислотной последовательности в жидкой фазе (т.е. без второй аминокислотной последовательности в жидкой фазе), мишенью и реагентами для детекции мишени. Анализ ELISA можно проводить таким способом так, чтобы положительный контрольный сигнал по меньшей мере в 6 раз превосходил фоновый сигнал. Во избежание каких-либо артефактов (например, значимо отличающейся аффинности у Ab-X и Ab-Y к мишени), являющихся результатом выбора того, какую аминокислотную последовательность использовать в качестве покрывающей аминокислотной последовательности, а какую использовать в качестве второй (конкурирующей) аминокислотной последовательности, анализ перекрестного блокирования можно проводить в двух форматах: 1) формат 1, где Ab-X представляет собой аминокислотную последовательность, которую наносят на планшет для ELISA, а Ab-Y представляет собой конкурирующую аминокислотную последовательность, которая находится в растворе, и 2) формат 2, где Ab-Y представляет собой аминокислотную последовательность, которую наносят на планшет для ELISA, а Ab-X представляет собой конкурирующую аминокислотную последовательность, которая находится в растворе. Ab-X и Ab-Y определяют как перекрестно блокирующие, если в любом из формата 1 или формата 2 аминокислотная последовательность против мишени в жидкой фазе способна вызывать снижение сигнала детекции мишени (т.е. количество мишени, связываемой нанесенной аминокислотной последовательностью) по сравнению с сигналом детекции мишени, получаемым в отсутствие аминокислотной последовательности против мишени в жидкой фазе (т.е. с лунками положительного контроля), в размере 60-100%, конкретно 70-100%, а более конкретно 80-100%;

t) аминокислотную последовательность называют "перекрестно реагирующей" с двумя различными антигенами или антигенными детерминантами (такими как сывороточный альбумин двух различных видов млекопитающих, такой как сывороточный альбумин человека и сывороточный альбумин яванского

макака), если она специфична (как определено в настоящем документе) для обоих этих различных антигенов или антигенных детерминант;

и) под связыванием, которое "по существу, не зависит от pH" в настоящем документе в основном подразумевают, что константа ассоциации (K_A) аминокислотной последовательности в отношении сывроточного белка (такого как сывроточный альбумин) при значении(ях) pH, которое существует в клетке организма животного или человека (как далее описано в настоящем документе), составляет по меньшей мере 5%, например по меньшей мере 10%, предпочтительно по меньшей мере 25%, более предпочтительно по меньшей мере 50%, даже более предпочтительно по меньшей мере 60%, например даже более предпочтительно по меньшей мере 70%, например по меньшей мере 80 или 90% или более (или даже более 100%, например более 110%, более 120% или даже 130% или более или даже более 150%, или даже более 200%) от константы ассоциации аминокислотной последовательности (K_A) в отношении того же сывроточного белка при значении(ях) pH, которое существует вне указанной клетки. Альтернативно, под связыванием, которое "по существу, не зависит от pH" в настоящем документе в основном подразумевают, что константа скорости обратной реакции аминокислотной последовательности k_{off} (измеряемая посредством Biacore) в отношении сывроточного белка (такого как сывроточный альбумин) при значении(ях) pH, которое существует в клетке организма животного или человека (как, например, далее описано в настоящем документе, например pH приблизительно 5,5, например 5,3-5,7) составляет по меньшей мере 5%, например по меньшей мере 10%, предпочтительно по меньшей мере 25%, более предпочтительно по меньшей мере 50%, даже более предпочтительно по меньшей мере 60%, например даже более предпочтительно по меньшей мере 70%, например по меньшей мере 80 или 90% или более (или даже более 100%, например более 110%, более 120% или даже 130% или более или даже более 150% или даже более 200%) от константы скорости обратной реакции аминокислотной последовательности k_{off} в отношении того же сывроточного белка при значении(ях) pH, которое существует вне указанной клетки, например pH 7,2-7,4. Под "значением(ями) pH, которые существуют в клетке организма животного или человека" подразумевают значение(я) pH, которые могут существовать внутри клетки и, в частности, внутри клетки, которая вовлечена в кругооборот сывроточного белка. В частности, под "значением(ями) pH, которые существуют в клетке организма животного или человека" подразумевают значение(я) pH, которые могут существовать в (суб)клеточном компартменте или везикуле, которые вовлечены в кругооборот сывроточного белка (например, в результате пиноцитоза, эндоцитоза, трансцитоза, экзоцитоза и фагоцитоза или подобного механизма захвата или интернализации в указанную клетку), например в эндосоме, лизосоме или пиносоме;

v) как далее описано в настоящем документе, общее количество аминокислотных остатков в нанотеле может находиться в диапазоне 110-120, предпочтительно 112-115, а наиболее предпочтительно составлять 113. Однако следует отметить, что части, фрагменты, аналоги или производные (как далее описано в настоящем документе) нанотел конкретно не ограничены по их длине и/или размеру, при условии, что такие части, фрагменты, аналоги или производные удовлетворяют дополнительным требованиям, приведенным в настоящем документе, а также предпочтительно подходят для целей, описываемых в настоящем документе;

w) как далее описано в разделе q) на стр. 58 и 59 WO 08/020079 (включенного в настоящий документ в качестве ссылки), аминокислотные остатки нанотел нумеруют в соответствии с общей нумерацией для доменов V_H , приводимой по Kabat et al. ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91), как применяют для доменов V_{HH} верблюдовых в статье Riechmann and Muyldermans, J. Immunol. Methods 2000 Jun 23; 240 (1-2): 185-195 (например, см. фиг. 2 в этой публикации). и, таким образом, FR1 нанотел содержит аминокислотные остатки в положениях 1-30, CDR1 нанотел содержит аминокислотные остатки в положениях 31-35, FR2 нанотел содержит аминокислоты в положениях 36-49, CDR2 нанотел содержит аминокислотные остатки в положениях 50-65, FR3 нанотел содержит аминокислотные остатки в положениях 66-94, CDR3 нанотел содержит аминокислотные остатки в положениях 95-102, и FR4 нанотел содержит аминокислотные остатки в положениях 103-113;

x) фигуры, список последовательностей и экспериментальная часть/примеры приведены только для дополнительной иллюстрации изобретения, и их не следует понимать или расценивать, как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения и/или приложенной формулы изобретения, если иное явно не указано в настоящем документе.

Для общего описания антител из тяжелых цепей и их переменных доменов ссылка в числе прочего приведена на известный уровень техники, приводимый в настоящем документе, а также на известный уровень техники, приводимый на стр. 59 WO 08/020079, и на список ссылок, приводимых на стр. 41-43 международной заявки WO 06/040153, где эти известный уровень техники и ссылки включены в настоящий документ в качестве ссылки.

В соответствии с терминологией, используемой в данной области (см. ссылки выше), переменные домены природных антител из тяжелых цепей также обозначают как "домены V_{HH} ", для различения их с переменными доменами тяжелых цепей, которые находятся в обычных 4-цепочечных антителах (которые ниже в настоящем документе обозначают как "домены V_H ") и от переменных доменов легких це-

пей, которые находятся в обычных 4-цепочечных антителах (которые ниже в настоящем документе обозначают как " V_L домены").

Как указано на известном уровне техники, указанном выше, домены V_{HH} обладают рядом уникальных структурных характеристик и функциональных свойств, которые делают отдельные домены V_{HH} (а также нанотела на их основе, которые разделяют эти структурные характеристики и функциональные свойства с природными доменами V_{HH}) и содержащие их белки очень удобными для применения в качестве функциональных антигенсвязывающих доменов или белков. В частности, и без ограничения этим, домены V_{HH} (которые от природы "сконструированы" для функционального связывания антигена без присутствия и без взаимодействия с переменным доменом легкой цепи) и нанотела могут функционировать в качестве одиночной, относительно небольшой функциональной антигенсвязывающей структурной единицы, домена или белка. Это отличает домены V_{HH} от доменов V_H и V_L обычных 4-цепочечных антител, которые, как правило, самостоятельно не подходят для практического применения в качестве одиночных антигенсвязывающих белков или доменов, но требующим для получения функциональной антигенсвязывающей единицы комбинирования в той или иной форме (например, как общепринятые фрагменты антител, такие как фрагменты Fab; фрагменты ScFv, которые состоят из домена V_H , ковалентно связанного с доменом V_L).

Вследствие этих уникальных свойств использование доменов V_{HH} и нанотел в качестве одиночных антигенсвязывающих белков или в качестве антигенсвязывающих доменов (т.е. в качестве части более крупного белка или полипептида) обеспечивает ряд существенных преимуществ по сравнению с использованием обычных доменов V_H и V_L , scFv или общепринятых фрагментов антител (таких как фрагменты Fab или $F(ab')_2$), включая преимущества, которые перечислены на стр. 60 и 61 WO 08/020079.

В конкретном и предпочтительном аспекте изобретение относится к нанотелам против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и, в частности, к нанотелам против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, теплокровных животных, а более конкретно к нанотелам против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, млекопитающих, и особенно к нанотелам против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания; а также к белкам и/или полипептидам, содержащим по меньшей мере одно такое нанотело.

В частности, изобретение относится к нанотелам против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и содержащим их белкам и/или полипептидам, которые обладают улучшенными терапевтическими и/или фармакологическими свойствами и/или другими полезными свойствами (например, такими как более простое получение и/или сниженная стоимость изделий) по сравнению с обычными антителами против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или их фрагментами по сравнению с конструкциями, которые можно получать на основе таких общепринятых антител или фрагментов антител (таких как фрагменты Fab', фрагменты $F(ab')_2$, конструкции ScFv, "диа-тела" и другие полиспецифические конструкции (например, см. обзор Holliger and Hudson, Nat Biotechnol. 2005 Sep; 23(9):1126-36)), а также по сравнению с так называемыми "dAb" или подобными (одно)доменными антителами, которые можно получать из переменных доменов обычных антител. Эти улучшенные и полезные свойства станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе, и например, в качестве неограничивающих примеров включают один или несколько из

увеличенной аффинности и/или авидности к любому из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, в одновалентном формате, в поливалентном формате (например, в двухвалентном формате) и/или в полиспецифическом формате (например, один из полиспецифических форматов, описываемых ниже в настоящем документе);

больше подходят для форматирования в поливалентный формат (например, в двухвалентный формат);

больше подходят для форматирования в полиспецифический формат (например, один из полиспецифических форматов, описываемых ниже в настоящем документе);

улучшенная пригодность или восприимчивость к "гуманизирующим" заменам (как определено в настоящем документе);

меньшая иммуногенность в одновалентном формате, в поливалентном формате (например, в двухвалентном формате) и/или в полиспецифическом формате (например, в одном из полиспецифических форматов, описываемых ниже в настоящем документе);

увеличенная стабильность в одновалентном формате, в поливалентном формате (например, в двухвалентном формате) и/или в полиспецифическом формате (например, одном из полиспецифических форматов, описываемых ниже в настоящем документе);

увеличенная специфичность в отношении любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, в одновалентном формате, в поливалентном формате (например, в двухвалентном формате) и/или в полиспецифическом формате (например, одном из полиспецифических форматов, описываемых ниже в настоящем документе);

сниженной или, где желательно, увеличенной перекрестной реактивности с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, других видов; и/или

одного или нескольких других улучшенных свойств, желательных для фармацевтического приме-

нения (включая профилактическое применение и/или терапевтическое применение) и/или для диагностического применения (включая в качестве неограничивающих примеров применение с целями визуализации) в одновалентном формате, в поливалентном формате (например, в двухвалентном формате) и/или в полиспецифическом формате (например, одном из полиспецифических форматов, описываемых ниже в настоящем документе).

Как в основном описано в настоящем документе для аминокислотных последовательностей по изобретению, нанотела по изобретению находятся предпочтительно по существу, в выделенной форме (как определено в настоящем документе) или формируют часть белка или полипептида по изобретению (как определено в настоящем документе), которые могут содержать или, по существу, состоят из одного или нескольких нанотел по изобретению и которые необязательно могут дополнительно содержать одну или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей (где все необязательно связаны посредством одного или нескольких подходящих линкеров). Например и без ограничения, в качестве связывающей единицы в таких белке или полипептиде можно использовать одну или несколько аминокислотных последовательностей (или ISV) по изобретению, где белок или полипептид могут необязательно содержать одну или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей (или ISV), которые могут служить в качестве связывающей единицы (т.е. против одной или нескольких мишеней, отличных от любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания) так, чтобы получить одновалентный, поливалентный или полиспецифический полипептид по изобретению, соответственно, все, как описано в настоящем документе. В частности, такие белок или полипептид могут содержать или, по существу, состоят из одного или нескольких нанотел (или ISV) по изобретению и необязательно одного или нескольких (других) нанотел (ISV), т.е. направленных против мишеней, отличных от любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, где все необязательно связаны одним или несколькими подходящими линкерами так, чтобы получить одновалентную, поливалентную или полиспецифическую конструкцию нанотела, соответственно, как далее описано в настоящем документе. Такие белки или полипептиды также могут находиться, по существу, в выделенной форме (как определено в настоящем документе).

В нанотеле (или ISV) по изобретению участок связывания для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, предпочтительно сформирован последовательностями CDR. Необязательно нанотело (или ISV) по изобретению также может, и в дополнение по меньшей мере к одному участку связывания для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, содержать один или несколько дополнительных участков связывания для связывания с другими антигенами, белками или мишенями. В отношении способов и положений для введения таких вторых участков связывания ссылка приведена, например, на Keck and Huston, *Biophysical Journal*, 71, October 1996, 2002-2011; EP 0640130 и WO 06/07260.

Как в основном описано в настоящем документе для аминокислотных последовательностей по изобретению, когда нанотело (или ISV) по изобретению (или содержащий его полипептид по изобретению) предназначено для введения индивидууму (например, с терапевтическими и/или диагностическими целями, как описано в настоящем документе), он предпочтительно направлен против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания; тогда как для ветеринарных целей он предпочтительно направлен против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, других подлежащих лечению видов. Так же, как и для аминокислотных последовательности по изобретению, нанотело (или ISV) по изобретению может или не может перекрестно реагировать (т.е. быть направленным против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F двух или более видов млекопитающих, включая их сочетания, например против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания, и любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, по меньшей мере одного из видов млекопитающих, указываемых в настоящем документе, включая их сочетания).

Кроме того, так же как, в основном, описано в настоящем документе для аминокислотных последовательностей по изобретению, нанотела (или ISV) по изобретению, как правило, могут быть направлены против любой антигенной детерминанты, эпитопа, части, домена, субъединицы или конформации (когда применимо) любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Однако в основном полагают и предпочтительно, чтобы нанотела (или ISV) по изобретению (и содержащие их полипептиды) были направлены против эпитопов по изобретению так, как описано в настоящем документе.

Как уже описано в настоящем документе, аминокислотную последовательность и структуру нанотел (или ISV) можно рассматривать, однако без ограничения этим, как состоящую из четырех каркасных областей или "FR" (или иногда также обозначаемых как "FW"), которые, как в данной области и в настоящем документе, обозначают как "каркасная область 1" или "FR1"; как "каркасная область 2" или "FR2"; как "каркасная область 3" или "FR3" и как "каркасная область 4" или "FR4" соответственно; где эти каркасные области прерываются тремя определяющими комплементарность областями или "CDR", которые, как в данной области обозначают, как "определяющую комплементарность область 1" или "CDR1"; как "определяющую комплементарность область 2" или "CDR2" и как "определяющую комплементарность область 3" или "CDR3" соответственно. Некоторые предпочтительные каркасные последовательности и CDR (и их сочетания), которые присутствуют в нанотелах (или ISV) по изобретению яв-

ляются такими, как описано в настоящем документе. Другие подходящие последовательности CDR можно получать способами, описываемыми в настоящем документе.

В соответствии с неограничивающим, но предпочтительным аспектом изобретения нанотела (или ISV) (последовательности CDR, присутствующие в них) по изобретению являются такими, что

нанотела (или ISV) могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, а предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л (т.е. с константой ассоциации (K_A) от 10^5 до 10^{12} л/моль или более, а предпочтительно от 10^7 до 10^{12} л/моль или более и более предпочтительно от 10^8 до 10^{12} л/моль); и/или такими, что

нанотела (или ISV) могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой скорости прямой реакции k_{on} от 10^2 до приблизительно $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, так как от 10^5 до $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$; и/или такими, что

нанотела (или ISV) могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой скорости обратной реакции k_{off} от 1 s^{-1} ($t_{1/2}=0,69 \text{ с}$) до 10^{-6} s^{-1} (обеспечивая почти необратимый комплекс с $t_{1/2}$ в пределах нескольких суток), предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6} s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6} s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6} s^{-1} .

Предпочтительно нанотела (или ISV) (присутствующие в них последовательности CDR) по изобретению являются такими, что: одновалентное нанотело (или ISV) по изобретению (или полипептид, который содержит только одно нанотело (или ISV) по изобретению), предпочтительно является таким, что оно связывается с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ.

Аффинность нанотел (или ISV) по изобретению против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, можно определять известным способом, например с использованием общих способов измерения K_D , K_A , k_{off} или k_{on} , указываемых в настоящем документе, а также некоторые из конкретных анализов, описываемых в настоящем документе.

Некоторые предпочтительные значения IC_{50} для связывания нанотел (или ISV) по изобретению (и содержащих их полипептидов) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, станут понятны из дальнейшего описания и примеров в настоящем документе.

В предпочтительном, но неограничивающем аспекте изобретение относится к нанотелу (или ISV) (как определено в настоящем документе) против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, которое состоит из 4 каркасных областей (от FR1 до FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (от CDR1 до CDR3 соответственно), в котором

CDR1 выбрана из группы, состоящей из

а) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

б) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

с) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267; и/или

CDR2 выбрана из группы, состоящей из

д) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

е) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

ф) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409; и/или

CDR3 выбрана из группы, состоящей из

г) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

х) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

и) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

или любого подходящего фрагмента таких аминокислотных последовательностей.

В частности, по этому предпочтительному, но неограничивающему аспекту изобретение относится к нанотелу (или ISV) (как определено в настоящем документе) против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, которое состоит из 4 каркасных областей (от FR1 до FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (от CDR1 до CDR3 соответственно), в котором

CDR1 выбрана из группы, состоящей из

а) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

б) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

с) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

CDR2 выбрана из группы, состоящей из

d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409; и

CDR3 выбрана из группы, состоящей из

g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

или любого подходящего фрагмента таких аминокислотных последовательностей.

Как в основном указано в настоящем документе для аминокислотных последовательностей по изобретению, когда нанотело (или ISV) по изобретению содержит одну или несколько последовательностей CDR1 в соответствии с b) и/или c),

i) любая замена аминокислоты в такой CDR в соответствии с b) и/или c) предпочтительно и по сравнению с соответствующей CDR в соответствии с a) является консервативной заменой аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

ii) CDR в соответствии с b) и/или c) предпочтительно содержит только замены аминокислот и не содержит делеций или вставок аминокислот по сравнению с соответствующей CDR в соответствии с a); и/или

iii) CDR в соответствии с b) и/или c) может представлять собой CDR, которую получают из CDR в соответствии с a) посредством созревания аффинности с использованием одного или нескольких известных способов созревания аффинности.

Подобным образом, когда нанотело (или ISV) по изобретению содержит одну или несколько последовательностей CDR2 в соответствии с e) и/или f),

i) любая замена аминокислоты в такой CDR в соответствии с e) и/или f) предпочтительно и по сравнению с соответствующей CDR в соответствии с d) является консервативной заменой аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

ii) CDR в соответствии с e) и/или f) предпочтительно содержит только замены аминокислот и не содержит делеций или вставок аминокислот по сравнению с соответствующей CDR в соответствии с d); и/или

iii) CDR в соответствии с e) и/или f) может представлять собой CDR, которую получают из CDR в соответствии с d) посредством созревания аффинности с использованием одного или нескольких известных способов созревания аффинности.

Также подобным образом, когда нанотело (или ISV) по изобретению содержит одну или несколько последовательностей CDR3 в соответствии с h) и/или i),

i) любая замена аминокислоты в такой CDR в соответствии с h) и/или i) предпочтительно и по сравнению с соответствующей CDR в соответствии с g) является консервативной заменой аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

ii) CDR в соответствии с h) и/или i) предпочтительно содержит только замены аминокислот и не содержит делеций или вставок аминокислот по сравнению с соответствующей CDR в соответствии с g); и/или

iii) CDR в соответствии с h) и/или i) может представлять собой CDR, которую получают из CDR в соответствии с g) посредством созревания аффинности с использованием одного или нескольких известных способов созревания аффинности.

Следует понимать, что последние три раздела в основном применимы к любому нанотелу (или ISV) по изобретению, которое содержит одну или несколько последовательностей CDR1, последовательностей CDR2 и/или последовательностей CDR3 в соответствии с b), c), e), f), h) или i) соответственно.

Из нанотел (или ISV) по изобретению особенно предпочтительными являются нанотела (или ISV) содержащие одну или несколько из CDR, явно перечисленных выше; еще более предпочтительными являются нанотела (или ISV), содержащие две или более из CDR, явно перечисленных выше; а наиболее предпочтительными являются нанотела (или ISV), содержащие три из CDR, явно перечисленных выше.

Некоторые особенно предпочтительные, но неограничивающие комбинации последовательностей CDR, а также предпочтительные комбинации последовательностей CDR и каркасных последовательностей приведены в табл. B-1 ниже, в которой перечислены последовательности CDR и каркасные последовательности, которые присутствуют в ряде предпочтительных (но неограничивающих) нанотел (или ISV) по изобретению. Как понятно специалисту, комбинации последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3, которые присутствуют в одном клоне (т.е. последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, которые в табл. B-1 указаны на одной строке), как правило, являются предпочтительными (хотя изобретение в своем самом широком смысле не ограничено этим, и также включает другие подходящие комбинации последователь-

ностей CDR, указанных в табл. В-1). Также, как правило, предпочтительными являются комбинации последовательностей CDR и каркасных последовательностей, которые существуют в одном клоне (т.е. последовательности CDR и каркасные последовательности, которые указаны на одной строке, например в одном ряду, в табл. В-1) (хотя изобретение в своем самом широком смысле не ограничено этим, а также включает другие подходящие комбинации последовательностей CDR и каркасных последовательностей, указанных в табл. В-1, например, из других рядов, а также комбинации таких последовательностей CDR и других подходящих каркасных последовательностей, например, как далее описано в настоящем документе).

Также в нуклеотидах (или ISV) по изобретению, которые содержат любую из комбинаций CDR, указанных в табл. В-1, каждую CDR можно заменять CDR, выбранной из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 99% идентичных по последовательности (как определено в настоящем документе) с указанными CDR; в которых

i) любая замена аминокислоты в такой CDR предпочтительно и по сравнению с соответствующей последовательностью CDR, указанной в табл. В-1, является консервативной заменой аминокислоты (как определено в настоящем документе); и/или

ii) любая такая последовательность CDR по сравнению с соответствующей последовательностью CDR, указанной в табл. В-1, предпочтительно содержит только замены аминокислот и не содержит делеций или вставок аминокислот; и/или

iii) любая такая последовательность CDR представляет собой CDR, которую получают известным способом созревания аффинности, и, в частности, начиная от соответствующей последовательности CDR, указанной в табл. В-1.

Однако как понятно специалисту, предпочтительными, как правило, являются последовательности CDR (их комбинации), а также последовательности CDR и каркасные последовательности (их комбинации), указанные в табл. В-1.

Таблица В-1

Предпочтительные комбинации последовательностей CDR, предпочтительные комбинации каркасных последовательностей и предпочтительные комбинации каркасных последовательностей и последовательностей CDR

("ID" относится к SEQ ID NO, как используют в настоящем документе)

	I D	FR1	I D	CDR1	I D	FR2	I D	CDR2	I D	FR3	I D	CDR3	I D	FR4
01D02	1	EVQLVESGGG	1		2		3		4	RFTISRDNKNTV	4		5	
	2	LVQAGGSLRL	9		6	WFRQAPG	3	AINWSGDNTHY	1	SLQMNSLKPEDT	8	QLGYESGY	5	WGQGT
	6	SCAASGLSFS	7	SYALG	8	KERDFVA	9	ADSVKG	0	AVYYCAA	1	SLTYDYDY	2	QVTVSS
01G03	1	EVQLVESGGG	1		2		3		4	RFTISRDNKNTM	4		5	
	2	LVQAGGSLRL	9		6	WFRQAPG	4	ADISWSALNTN	1	VYLQMNNLKPED	8	RRSGYASF	5	WGQGT
	7	SCAASERTIS	8	NYDMG	9	KERELIA	0	YADSVKG	1	TAVYYCAA	2	DN	3	QVTVSS
02E03	1	EVQLVESGGG	1		2	WARQAP	3		4	RFTISRDNKNTL	4	LSVFRSQLG	5	
	2	LVQPGGSLRL	9		7	GEGLEWV	4	DINSGGTRTTYA	1	YLQMNSLKPEDT	8	GKYYGGDY	5	RGQGT
	8	SCAASGFTFS	9	SYAMS	0	S	1	DSVKG	2	AVYVCAK	3	EN	4	QVTVSS
03B08	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFTISSDNKNTV	4		5	
	2	LVQAGGSLRL	0		7	WFRQAPG	4	CISSSDGSIIYA	1	YLQMNSLKPEDT	8	FGRTGWAE	5	WGQGT
	9	SCAASGFTFD	0	DYAIG	1	KEREGVS	2	DSVKG	3	AVYHCAK	4	ECVDYDY	5	QVTVSS
03E05	1	EVQLVESGGG	2		2	WFRQAPG	3	CISSSDGIPYYSD	4	RFTTSIDNAKNTV	4	GFGRLLCAE	5	WGQGT
	3	LVQAGGSLRL	0	DYSIG	7	KEREGVS	4	FVKG	1	YLQMNSLKPEDT	8	FDS	5	QVTVSS

	0	SCAASGVTFD	1		2		3		4	AVYYCAA	5		6	
01D06	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFTIARDDAKSTV	4		5	
	3	LVQAGGSLRL	0		7	WFRQVPG	4	HIPRSTYSPYYA	1	YLQMNSLKPEDT	8	FTGGTYTV	5	WGQGT
	1	SCAADGRFTS	2	TYGMT	3	KEREFVA	4	NSVKG	5	AVYYCAV	6	PTAYDY	7	QVTVSS
02A08	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFAISRDARTNTV	4		5	
	3	VVQPGGSLRL	0		7	WFRQAPG	4	AISATGDDTTY	1	YLQMNSLKPEDT	8	RVNFDGTV	5	WGQGT
	2	SCADSERSFS	3	FNAMG	4	KEREFVA	5	ADSVKG	6	AVYYCGA	7	SYTNDYAY	8	QVTVSS
02A10	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFTISTDSAKNTV	4		5	
	3	LVQPGGSLRL	0		7	WFRQAPG	4	CDSSSDGRTTY	1	YLQMNSLKPEDT	8		5	WGQGT
	3	SCAASGFALG	4	YYAIG	5	KEREGVS	6	GDSVKG	7	AVYYCAT	8	CTDFEYDY	9	QVTVSS
04B09	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFTISTDNGKNTV	4		5	
	3	LVQPGGSLRL	0		7	WFRQAPG	4	CDSSSDGDTYY	1	YLQMNSLKPEDT	8	CTDWNVD	6	WGQGT
	4	SCAASGFTLG	5	YYAIG	6	KEREGVS	7	ANSVKG	8	AVYYCAT	9	Y	0	QVTVSS
03C07	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFTISSDNAKNTV	4	GGGSYYT	5	
	3	LVQAGGSLRL	0		7	WFRQAPG	4	CFSSSDGSIYYA	1	YLQMNSLKPEDT	9	QLNYCYDM	6	WGKGT
	5	SCAASGFTFD	6	DYAIG	7	KEREAVS	8	DSVKG	9	AVYYCAG	0	DY	1	QVTVSS
04A02	1	EVQLVESGGG	2		2	WYRQAP	3		4	RFTISRDPENTVY	4		5	
	3	LVQPGGSLRL	0		7	GNQREL	4	AMTSDATTEYA	2	LQMNSLKPEDTA	9	KGIWDYLG	6	WGQGT
	6	SCAASRNINI	7	INYMA	8	A	9	DSVKG	0	VYYCNA	1	RRDFGDY	2	QVTVSS
04B10	1	EVQLVESGGG	2		2	WYRQAP	3		4	RFTISIDNAKNTVI	4		5	
	3	LVQAGGSQSL	0		7	GKQREL	5	LITSGGGTTYGD	2	LQMNSLEAEDTA	9	EIGYSSGGT	6	WGQGT
	7	SCVASGTIVN	8	INVMG	9	A	0	SVKG	1	VYYCAA	2	YFSSEAH	3	QVTVSS
04G01	1	EVQLVESGGG	2		2	WYRQAP	3		4	RFTISRDNKNTV	4		5	
	3	LVQAGGSQRL	0		8	GKQREL	5	LIFSGGSADYAD	2	YLEMNSLKAEDT	9	EIGYSSGGT	6	WGQGT
	8	SCTASGTIVN	9	IHVMG	0	A	1	SVKG	2	AVYYCAA	3	YYSSEAH	4	QVTVSS
04F09	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFTISRDNKNAV	4		5	
	3	LVQPGGSLRL	1		8	WFRQAPG	5	AIRWSDGSSFYA	2	YLSNSLKSSEDTA	9	DVEGPTAL	6	WGRGT
	9	SCAASGRFTS	0	THAMG	1	KERDFVA	2	DSVKG	3	VYVCYA	4	HKY	5	QVTVSS
09D10	1	EVQLVESGGG	2		2	WHRQAP	3		4	RFTISRDNKNTV	4		5	
	4	LVQAGGSLRL	1		8	GKQREFL	5	SIASGGTTNYAD	2	YLQMNSLKPEDT	9	NAESGPYT	6	WGLGT
	0	SCAASGSVFR	1	IDVMR	2	A	3	SVKG	4	AVYYCGA	5	Y	6	QVTVSS
09G10	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFTVSVDKVKNT	4		5	
	4	LVQAGGSLRL	1		8	WYRQPPG	5	IITSGGKTNAD	2	VTQMNSLKPED	9		6	WGQGT
	1	SCAASDSVFT	2	AKAVG	3	LQREWVA	4	SSVKG	5	TAVYYCYA	6	QWMGRDY	7	QVTVSS
11A06	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFTISRDNKNTV	4		5	
	4	LVQPGESLRL	1		8	WFRQAPG	5	CITSSDASAYYT	2	YLQMNSLKTEDT	9	ALLTCSSYY	6	WGQGT
	2	SCKASGFSLD	3	YYALG	4	KEREGIS	5	DSVKG	6	AIYYCAA	7	DAYTY	8	QVTVSS
06E11	1	EVQLVESGGG	2		2		3		4	RFTFSRDNAKNT	4		5	
	4	LVQAGGSLRL	1		8	WFRQAPG	5	VAHWSGAITSY	2	MNLQMNSLKPED	9	DSETSGNW	6	WGQGT
	3	SCPVSGRAFS	4	RGRLG	5	KEREFVA	6	ADSVKG	7	TAVYYCAA	8	VY	9	QVTVSS

07B09	1	EVQLVESGGG	2		2		3	RFTISRDKAKNTM	4		5
	4	LVQAGGSLRL	1		8	WFRQAPG	5	VLRWSDGHTAY	2	YLMSSLKPEDT	7
	4	SCGASGGTFS	5	SYATG	6	KEREFVA	7	ADSVKG	8	AIYYCTT	0
24G10	1	EVQLVESGGG	2		2		3	RFTISRDKAKNTL	5		5
	4	LVQAGGSLRL	1		8	WFRQAPG	5	VFRWSDSHTAY	2	YLMSSLKPEDT	7
	5	SCGAAGGTFS	6	SYATG	7	KEREFVA	8	ADSVKG	9	AIYYCTT	0
07B11	1	EVQLVESGGG	2		2		3	RFTISRDNKNTV	5		5
	4	LVQAGGSLRL	1		8	WFRQAPG	5	LIRWSDGITGYV	3	YLMNSLKPEDT	7
	6	SCVASGRAFS	7	SYVMG	8	MEREFVA	9	DSVKG	0	AVYYCAA	2
08A08	1	EVQLVESGGG	2		2		3	RFTISRDSAKNAV	5		5
	4	LVQAGGSLRL	1		8	WFRRAPG	6	LISWSSGRTSYA	3	YLMNDLKPEDT	7
	7	SCAASGRTRF	8	PYRMG	9	KAREFVT	0	DSVKG	1	AVYFCAV	3
08B07	1	EVQLVESGGG	2		2		3	RFTISRDNKNTV	5		5
	4	LVQPGGSLRL	1		9	WIRQAPG	6	TITVGGSTNYAD	3	YLMSSLKPEDT	7
	8	SCAASGRDRF	9	VKNVG	0	KQRELVA	1	SAKG	2	AVYYCNA	4
08H01	1	EVQLVESGGG	2		2		3	RFTISRDKAKNTV	5		5
	4	LVQAGGSLRL	2		9	WFRQAPG	6	VLRWSDSHTAY	3	YLMSSLKPEDT	7
	9	SCGASGGTFS	0	SYATG	1	KEREFVA	2	ADSVKG	3	AIYYCTT	5
12A09	1	EVQLVESGGG	2		2	WVRQAP	3	RFTISRDNKNTL	5		5
	5	LVQPGGSLRL	2		9	GKGLEW	6	STSTGGEMTNY	3	HLQMNSLKPEDT	7
	0	SCAASGFTFS	1	SYRMA	2	VS	3	ADSVKG	4	ALYYCAA	6
16A04	1	EVQLVESGGG	2		2		3	RFTISRDNKNTL	5		5
	5	LVQAGGSLRL	2		9	WFRQAPG	6	AISGSGDSIYYA	3	YLMSSLKAEDT	7
	1	SCAASGRTF	2	SYVVG	3	KEREFV	4	VSEKD	5	AVYYCTA	7
24B08	1	EVQLVESGGG	2		2		3	RFTVSRENTKNTV	5		5
	5	LVQAGGSLRL	2		9	WFRQAPG	6	RISTNGPTAYAE	3	YLMNSLNIEDT	7
	2	SCAVSGGTFS	3	TYKMG	4	KEREIVA	5	FVKG	6	AVYYCAA	8
01A01	1	EVQLVESGGG	2		2		3	RFTVSADNAKNT	5	VNTFDESA	5
	5	LVQAGGSLRL	2		9	WFRQAPG	6	CFTSSDGRTFYA	3	VYLMNSLPEDE	7
	3	SCAASGFTFD	4	DYDIG	5	KEREGVS	6	DSVKG	7	TAVYFCAA	9
09B09		EMQLVESGG									
	1	GLVQPGGSLR	2		2	WARQAP	3	RFTISRDNKNTL	5		5
	5	LSCAASGFTF	2	SYWM	9	GKGLEWI	6	ALAPGGDDEYY	3	YLMNSLKSDE	8
09E11	4	S	5	Y	6	S	7	ADSVNG	8	AVYYCAK	0
	1	EVQLVESGGG	2		2	WVRQAP	3	RFTISRDNKNTL	5		5
	5	LVQPGGSLRL	2	SYWM	9	GKGLEWI	6	ALAPGGDNRY	3	YLMNSLKSDE	8
10A04	5	SCAASGFTFS	6	Y	7	S	8	ADSVNG	9	AVYYCAK	1
	1	EVQLVESGGG	2		2	WVRQAP	3	RFTISRDNKNTL	5		5
	5	LVQPGGSLRL	2	SYWM	9	GKGLEWI	6	ALAPGGGNRY	4	YLMNSLKSDE	8
	6	SCAASGFTFS	7	Y	8	S	9	AESVNG	0	AVYYCAK	2

10A05	1	EVQLVESGGG	2		2	WVRQAP	3		4	RFTISRDN AENSL	5		5	
	5	LVQPGGSLRL	2	NYWM	9	GKGLEWI	7	ALAPGGDNRY	4	YLMNSLKS EDT	1	DHN VGYRT	8	GGQGT
	7	SCAASGFTFS	8	Y	9	S	0	ADSVNG	1	AVYYCAK	2	GEYDY	3	QVTVSS
10D11	1	EVQLVESGGG	2		3	WVRQAP	3		4	RFTISRDN AKNSL	5		5	
	5	LVQAGGSLRL	2	SYWM	0	GKGLEWI	7	ALAPGGEHRY	4	YLMNSLKS EDT	1	DHN VGYRT	8	GGQGT
	8	SCAASGFTFS	9	Y	0	S	1	ADSVNG	2	AVYYCAK	3	GEYDY	4	QVTVSS
10F02	1	EVQLVESGGG	2		3	WVRQAP	3		4	RFTISRDN AENLL	5		5	
	5	LVQPGGSLRL	3	SYWM	0	GKGLEWI	7	ALAPGGGNAY	4	YLMNSLKS EDT	1	DHN VGYRT	8	GGQGT
	9	SCAASGFTFS	0	Y	1	S	2	ADSVNG	3	AVYYCAK	4	GEYDY	5	QVTVSS
11A02	1	EVQLVESGGG	2		3	WYRAAP	3		4	RFTISRDS AKNAV	5		5	
	6	LVQAGGSLRL	3		0	GKQRELV	7	IIINGGSTNYAD	4	YLMNSLKP EDT	1		8	WGQGT
	0	SCAASGVIFR	1	LNAMG	2	A	3	VKG	4	AVYYCYY	5	NIPGDVY	6	QVTVSS
11A07	1	EVQLVESGGG	2		3	WYRAAP	3		4	RFTISRDS AKNAV	5		5	
	6	LVQAGGSLRL	3		0	GKQRELV	7	IIANGGSTNYAD	4	YLMNSLKP EDT	1		8	WGQGT
	1	SCAAPGVIFR	2	LNAMG	3	A	4	SVKG	5	AVYYCYY	6	NIPGDVY	7	RVTVSS
11C08	1	EVQLVESGGG	2		3	WYRAAP	3		4	RFTISRDS AKNAV	5		5	
	6	LVQAGGSLRL	3		0	GKQRELV	7	IIVNGGSTNYAD	4	YLMNSLKP EDT	1		8	WGQGT
	2	SCAASGVIFR	3	LNAMG	4	A	5	SVKG	6	AVYYCYY	7	NIPGDVY	8	QVTVSS
11C09	1	EVQLVESGGG	2		3	WYRAAP	3		4	RFTISRDS AKNAV	5		5	
	6	LVQAGGSLRL	3		0	GKQRELV	7	IIVNGGSTNYAD	4	YLMDSLKP EDT	1		8	WGQGT
	3	SCAASGVIFR	4	LNAMG	5	A	6	SVKG	7	AVYYCYY	8	NIPGDVY	9	QVTVSS
12H11	1	EVQLVESGGG	2		3	WYRAAP	3		4	RFTISRDN AKNAV	5		5	
	6	LVQPGGSLRL	3		0	GKQRELV	7	IIVNGGSTNYAD	4	YLMNSLKP EDT	1		9	WGQGT
	4	SCAASGVIFR	5	LNAMG	6	A	7	SVKG	8	AVYYCYY	9	NIPGDVY	0	QVTVSS
13B03	1	EVQLVESGGG	2		3		3		4	RFTISRDN AKNTV	5		5	
	6	SVQAGDSLRL	3		0	WFRQTPG	7	GIRWSDAYTEY	4	DLQMDSLK PEDT	2		9	WGQGT
	5	SCAASGRANS	6	INWFG	7	KEREFVA	8	ANSVKG	9	AVYYCVL	0	DLSTVRY	1	QVTVSS
13D05	1	EVQLVESGGG	2		3		3		4	RFTISRDN AKNTV	5		5	
	6	SVQAGDSLRL	3		0	WFRQTPG	7	GIRWTDAYTEY	5	GLQMDSLK PEDT	2		9	WGQGS
	6	SCAASGRANS	7	INWFG	8	KEREFVA	9	AASVKG	0	AVYYCVL	1	DLSTVRY	2	QVTVSS
13E02	1	EVQLVESGGG	2		3		3		4	RFTISKDN AGITM	5		5	
	6	LVQAGGSLRL	3		0	WLRQAPG	8	AISGSGDDTYA	5	YLMNSLKP EDT	2	RRGLYYVW	9	WGQGT
	7	SCAASGRTYD	8	AMG	9	KEREFVA	0	DSVKG	1	AVYYCAT	2	DSNDYEN	3	QVTVSS
01D08	1	EVQLVESGGG	2		3		3		4	RFTISKDN AGITM	5		5	
	6	LVQAGGSLRL	3		1	WLRQAPG	8	AISGSGDDTYA	5	YLEMNSLKP EDT	2	RRGRYYV	9	WGQGT
	8	SCAASGRTTY	9	AMG	0	KEREFVA	1	DSVKG	2	AVYYCAT	3	WDSNDYEN	4	QVTVSS
13E07	1	EVQLVESGGG	2		3		3		4	RFTISKDN AGITM	5		5	
	6	LVQAGGSLRL	4		1	WLRQAPG	8	AISGSGDDTYA	5	YLMNSLKP EDT	2	RRGLYYVW	9	WGQGT
	9	SCAASGRTTY	0	AMG	1	KEREFVA	2	DSVKG	3	AVYYCAT	4	DSNDYEN	5	QVTVSS
13G06	1	EVQLVESGGG	2		3		3		4	RFTISKDN AGITM	5		5	
	7	LVQAGGSLRL	4		1	WLRQAPG	8	AVSGSGDDTY	5	YLMNSLKP EDT	2	RRGLYYVW	9	WGQGT
	0	SCAASGRTYH	1	AMG	2	KEREFVA	3	ADSVKG	4	AVYYCAT	5	DSNDYEN	6	QVTVSS

13H05	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTCSKDNAKDT	5		5
	7	LVQAGGSLRL	4		1	WFRQAPG	8	AISGSGEDTYYA	5	MYLQMNSLKPED	9
	1	SCAASGRITYD	2	AMG	3	KEREFVA	4	DSVKG	5	TAVYYCAT	7
13E05	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTASRVNTKNT	5		5
	7	KVQAGDSLTL	4		1	WFRQAPG	8	VSIFRTGSITYTA	5	VYLQMNSLKPED	9
	2	SCVASGGTFS	3	NYAA	4	KDRRELV	5	DSVKG	6	TAVYYCAS	8
17B03	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTASRVNTKNT	5		5
	7	LVQAGGSLRL	4		1	WFRQGP	8	SIFRSGTITYTAD	5	VYLQMNSLKPED	9
	3	SCEASGGTFS	4	NYAA	5	KGRELTV	6	SVKG	7	TGIYYCAS	8
17D08	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTASRVNTKNT	5		6
	7	LVQAGDSLTL	4		1	WFRQAPG	8	VSIFRTGSITYTA	5	VYLQMNSLKPED	0
	4	SCVASGGTFS	5	NYAA	6	KDRRELV	7	DSVKG	8	TAVYYCAS	0
17E05	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTASRVNTKNT	5		6
	7	LVQAGDSLRL	4		1	WFRQGP	8	SIFRSGTITYTAD	5	VYLQMNSLKPED	0
	5	SCEASGGTFS	6	NYAA	7	KGRELTV	8	SVKG	9	TGIYYCAS	1
17G08	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTASRVNTKNT	5		6
	7	LVQAGGSLRL	4		1	WFRQGP	8	SIFRSGTITYTAD	6	VYLQMNSLKPED	0
	6	SCEASGGTFS	7	NYAA	8	KGRELTV	9	SVKG	0	TGIYYCAS	2
17H04	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTASRVNTKNT	5		6
	7	LVQAGDSLRL	4		1	WFRQAPG	9	SIFRSGSITYTAD	6	AYLQMNSLKPED	0
	7	SCVASGGTFS	8	NYAA	9	KGRELIL	0	SVKG	1	TAVYYCAS	3
17H07	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTASRVNTKNT	5		6
	7	LVQAGDSLTL	4		2	WFRQAPG	9	VSIFRTGSITYTA	6	VYLQMNSLKPED	0
	8	SCVASGGTFS	9	NYAA	0	KDRRELV	1	DSVKG	2	TAVYYCAS	4
01C09		EVQLVKSGG			3		3				
	1	GLVQAGGSL	2		3		3	RFTISRDDARNTV	5		6
	7	KLSCAASGRT	5		2	WFRQAPG	9	AISMSGEDTIYA	6	TLHMTSLKPEDT	0
01F10	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTISRDNARNTV	5		6
	8	LVQAGGSLRL	5		2	WFRQAPG	9	AISMSGEDAAY	6	YLHMTTLKPEDT	0
	0	SCAASGRTFT	1	TYPMG	2	KEREFVA	3	ATSVKG	4	AVYYCAA	6
02D02	1	EVQLVESGGG	2		3		3	RFTIVRDDDKNVT	5		6
	8	LVQAGGSLKL	5		2	WFRQAPG	9	AISMSGDDTAY	6	YLHMTSLKPEDT	0
	1	SCARSGRTFT	2	TYPMG	3	KEREFVA	4	ATFVKG	5	AVYYCAA	7
13A08	1	EVQLVESRGR	2		3		3	RFTISRDDARNTV	5		6
	8	LVQAGGSLRL	5		2	WFRQAPG	9	AISMSGDDAAY	6	YLHMTSLKPEDT	0
	2	SCAASGRTFT	3	SYPMG	4	KEREFVA	5	ADFVRG	6	AVYYCAA	8
13B05	1	EVQLVESGGR	2		3		3	RFTISRDDARNTV	5		6
	8	LVQAGGSLRL	5		2	WFRQAPG	9	AISMSGDDTAY	6	YLHMTSLKPEDT	0
	3	SCAASGRTFT	4	SYPMG	5	KEREFVA	6	TDFVRG	7	AVYYCAA	9

13C06	1	EVQLVESGGR	2		3		3	AISMSGDDAAY	4	RFTISRDDARNTV	5		6	
	8	LVQAGGSLRL	5		2	WFRQAPG	9	ADSVK	6	YLHMTSLKPEDT	3	RTSYDGRY	1	WGQGT
	4	SCAASGRTFT	5	SYPMG	6	KEREFVA	7	ADSVK	8	AVYYCAA	9	DYIDDYSY	0	QVTVSS
13E01	1	EVQLVESEGG	2		3		3	AISMSGDDTIYR	4	RFTISRDNARNTV	5		6	
	8	LVQAGGSLRL	5		2	WFRQAPG	9	DFVKG	6	YLHMTSLKPEDT	4	RTSYDGRY	1	WGQGT
	5	SCARSGHAFT	6	SYPMG	7	KEREFVA	8		9	AVYYCAA	0	DYIDDYSY	1	QVTVSS
13E03	1	EVQLVESGGG	2		3		3	AISMSGDDTAY	4	RFTISRDSARNTV	5		6	
	8	LVQAGGSLRL	5		2	WFRQAPG	9	ATFVKG	7	YLHMTSLKPEDT	4	RTSYDGRY	1	WGQGT
	6	SCAASGRTFT	7	TYPMG	8	KEREFVA	9		0	AVYSCAA	1	DYIDDYSY	2	QVTVSS
13E08	1	EVQLVESRGG	2		3		4	AISMSGDDTAV	4	RFTISRDNARNTV	5		6	
	8	LVQAGGSLRL	5		2	WFRQAPG	0	ATFVKG	7	YLHMTSLKPEDT	4	RTSYSGRY	1	WGQGT
	7	SCAGSGRTLY	8	SYPMG	9	KEREFVA	0		1	AVYHCAA	2	DYIDDYSY	3	QVTVSS
13G04	1	EVQLVESGGG	2		3		4	AISMSGDDTAV	4	RFTISRDNARNTV	5		6	
	8	LVQAGGSLRL	5		3	WFRQAPG	0	ATFVKG	7	YLHMTSLKPEDT	4	RTSYSGRY	1	WGQGT
	8	SCAASGRTLY	9	SYPMG	0	KEREFVA	1		2	AVYHCAA	3	DYIDDYSY	4	QVTVSS
13G05	1	EVQLVESGGG	2		3		4	AISMSGDDTAY	4	RFTISRDDDKNT	5		6	
	8	LVQAGGSLEL	6		3	WFRQAPG	0	ATFVKG	7	VYLHMTSLKPED	4	RTSYSGMY	1	WGQGT
	9	SCARSGRTFT	0	TYPMG	1	KEREFVA	2		3	TAVYYCAA	4	DYIHDYSY	5	QVTVSS
13G08	1	EVQLVESGGG	2		3		4	AISMSGDD SAY	4	RFTISRDNARNTV	5		6	
	9	LVQAGGSLRL	6		3	WFRQAPG	0	RDFVKG	7	YLHMTSLKPEDT	4	RTSYNGRY	1	WGQGT
	0	SCAASGRTFF	1	SYPMG	2	KEREFVA	3		4	AIYYCAA	5	DYIDDYSY	6	QVTVSS
13H03	1	EVQLVESGGG	2		3		4	AISMSGDDTAY	4	RFTISRDNARNTV	5		6	
	9	LVQAGGSLRL	6		3	WFRQAPG	0	ATFVKG	7	YLHMTSLKPEDT	4	RTSYDGRY	1	WGQGT
	1	SCAASGRTFT	2	TYPMG	3	KEREFVA	4		5	AVYSCAA	6	DYIDDYSY	7	QVTVSS
17C01	1	EVQLVESGGR	2		3		4	AISMSGDDAAY	4	RFTISRDDARNTV	5		6	
	9	LVQAGGSLRL	6		3	WFRQAPG	0	ADSVK	7	YLHMTSLKPEDT	4	RTSYDGRY	1	WGQGT
	2	PCAASGRTFT	3	SYPMG	4	KEREFVA	5		6	AVYYCAA	7	DYIDDYSY	8	QVTVSS
15A08	1	EVQLVESGGG	2		3		4	CVSSSDGRTAY	4	RFTISRDNARNTV	5		6	
	9	LVQPGGSLRL	6		3	WFRQAPG	0	ADSVK	7	YLQMNLSLKPEDT	4	VMEYGLGC	1	WGQGT
	3	SCAASGFTLD	4	YYAIG	5	KEREGVS	6		7	AVYYCAT	8	TTDVLDA	9	LVTVSS
13G02	1	EVQLVESRGG	2		3		4	GISWTGGTTY	4	RFTMSADNAKNT	5		6	
	9	LVQAGGSLRL	6		3	WFRQAPG	0	ADSVK	7	VYLQMNLSLKPED	4	DVGGGSDR	2	LGQGT
	4	SCAASGGTFS	5	VFAMR	6	KEREFVA	7		8	TAVYYCAV	9	Y	0	QVTVSS
17E02	1	EVQLVESRGG	2		3		4	GISWTGGTTY	4	RFTMSADNAKNT	5		6	
	9	LVQAGGSLRL	6		3	WFRQAPG	0	ADSVK	7	VYLQMNLSLKPED	5	DVGGGSDR	2	LGQGT
	5	SCAASGGTFS	6	VFAMR	7	KEREFVA	8		9	TAVYYCAV	0	Y	1	QVTVSS
18B05		EVQLVKSGG												
	1	GLVQPGGSLR	2		3		4	AIRWSGSSYY	4	RFTISRDNARNTV	5		6	
	9	LSCAASGGTF	6		3	WFREAPG	0	ADSVK	8	HLQSNLSKSEDTA	5	DVQGGGLHR	2	WGQGT
	6	S	7	LFAMG	8	KEREFVA	9		0	VYYCYA	1	Y	2	QVTVSS

Таким образом, в нанотелах (или ISV) по изобретению по меньшей мере одна из присутствующих последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 подходящим образом выбрана из группы, состоящей из последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 соответственно, перечисленных в табл. В-1; или из группы последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3, соответственно, по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 99% "идентичных по последовательности" (как определено в настоящем документе) по меньшей мере с одной из последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 соответственно, перечисленных в табл. В-1; и/или из группы, состоящей из последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 соответственно, содержащих только 3, 2 или 1 "отличие(я) по аминокислотам" (как определено в настоящем документе) по меньшей мере с одной из последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 соответственно, перечисленных в табл. В-1.

В этом контексте под "подходящим образом выбранными" подразумевают что, когда применимо, последовательность CDR1 выбирают из подходящих последовательностей CDR1 (т.е. как определено в настоящем документе), последовательность CDR2 выбирают из подходящих последовательностей CDR2 (т.е. как определено в настоящем документе), а последовательность CDR3 выбирают из подходящих последовательностей CDR3 (т.е. как определено в настоящем документе) соответственно. Более конкретно, последовательности CDR предпочтительно выбирают так, что нанотела (или ISV) по изобретению связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительного или кажущегося), значения

предпочтительно по меньшей мере на 95%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 99% идентичных по последовательности с последовательностями CDR1 и CDR2 соответственно, перечисленными в табл. В-1; и/или из группы, состоящей из последовательностей CDR1 и CDR2 соответственно, содержащих 3, 2 или только 1 отличие(я) по аминокислотам по меньшей мере с одной из последовательностей CDR1 и CDR2 соответственно, перечисленных в табл. В-1.

Даже более предпочтительно в нанотелах (или ISV) по изобретению по меньшей мере две из присутствующих последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 подходящим образом выбраны из группы, состоящей из последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3, соответственно, перечисленных в табл. В-1. Предпочтительно в этом аспекте оставшаяся присутствующая последовательность CDR подходящим образом выбрана из группы последовательностей CDR, по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 99% идентичных по последовательности по меньшей мере с одной из соответствующих последовательностей CDR, перечисленных в табл. В-1; и/или из группы, состоящей из последовательностей CDR, содержащих 3, 2 или только 1 отличие(я) по аминокислотам по меньшей мере с одной из подходящих последовательностей, перечисленных в табл. В-1.

В частности, в нанотелах (или ISV) по изобретению по меньшей мере последовательность CDR3 подходящим образом выбрана из группы, состоящей из последовательностей CDR3, перечисленных в табл. В-1, и любая из последовательности CDR1 или последовательности CDR2 подходящим образом выбрана из группы, состоящей из последовательностей CDR1 и CDR2 соответственно, перечисленных в табл. В-1. Предпочтительно в этом аспекте оставшаяся присутствующая последовательность CDR подходящим образом выбрана из группы последовательностей CDR, по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 99% идентичных по последовательности по меньшей мере с одной из соответствующих последовательностей CDR, перечисленных в табл. В-1; и/или из группы, состоящей из последовательностей CDR, содержащих 3, 2 или только 1 отличие(я) по аминокислотам с соответствующими последовательностями CDR, перечисленными в табл. В-1.

Даже более предпочтительно в нанотелах (или ISV) по изобретению каждая из присутствующих последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 подходящим образом выбраны из группы, состоящей из последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3, соответственно, перечисленных в табл. В-1.

Также, как правило, предпочтительны комбинации CDR, перечисленные в табл. В-1 (т.е. комбинации, указанные на одной строке, например на одном ряду, в табл. В-1). Таким образом, как правило, предпочтительно, чтобы когда CDR в нанотеле (или ISV) по изобретению представляет последовательность CDR, указанную в табл. В-1, или подходящим образом выбрана из группы последовательностей CDR, по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 99% идентичных по последовательности с последовательностями CDR, перечисленными в табл. В-1; и/или из группы, состоящей из последовательностей CDR, содержащих 3, 2 или только 1 отличие(я) по аминокислотам с последовательностями CDR, перечисленными в табл. В-1, по меньшей мере одна, а предпочтительно обе других CDR были подходящим образом выбраны из последовательностей CDR, которые в табл. В-1 принадлежат к одной комбинации (т.е. указаны на одной строке, например в ряду, в табл. В-1), или подходящим образом выбраны из группы последовательностей CDR, по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95%, даже более предпочтительно по меньшей мере на 99% идентичных по последовательности с последовательностью(ями) CDR, принадлежащей к той же комбинации, и/или из группы, состоящей из последовательностей CDR, содержащих 3, 2 или только 1 отличие(я) по аминокислотам с последовательностью(ями) CDR, принадлежащей к той же комбинации. К комбинациям CDR, указанным в табл. В-1, также применимы другие предпочтения, указанные в параграфах выше.

Таким образом, посредством неограничивающих примеров нанотело (или ISV) по изобретению может содержать, например, последовательность CDR1, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична одной из последовательностей CDR1, указанных в табл. В-1, последовательность CDR2, содержащую 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам с одной из последовательностей CDR2, указанных в табл. В-1 (но принадлежащих к другой комбинации, например, по меньшей мере, из другого ряда), и последовательность CDR3.

Некоторые предпочтительные нанотела (или ISV) по изобретению могут содержать, например (1) последовательность CDR1, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична одной из последовательностей CDR1, указанных в табл. В-1; последовательность CDR2, содержащую 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам с одной из последовательностей CDR2, указанных в табл. В-1 (но принадлежащих к другой комбинации, например, по меньшей мере, из другого ряда); и последовательность CDR3, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична одной из последовательностей CDR3, указанных в табл. В-1 (но принадлежащих к другой комбинации); или (2) последовательность CDR1, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична одной из последовательностей CDR1, указанных в табл. В-1; последовательность CDR2 и одну из последовательностей CDR3, перечисленных в табл. В-1; или (3) последова-

тельность CDR1; последовательность CDR2, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична одной из последовательностей CDR2, перечисленных в табл. В-1; и последовательность CDR3, которая содержит 3, 2 или 1 различия по аминокислотам с последовательностью CDR3, указанной в табл. В-1, которая принадлежит к той же комбинации, что и последовательность CDR2.

В этом контексте специалисту в данной области понятно, что "та же комбинация" относится к комбинации CDR1, CDR2 и CDR3, которая приведена в табл. В-1 в том же ряду (или на той же строке), и что "другая комбинация" относится к комбинации CDR1, CDR2 и CDR3, в которой по меньшей мере одна из CDR не приведена в том же ряду (или на той же строке) в табл. В-1, что и по меньшей мере одна из других CDR.

Некоторые особенно предпочтительные нанотела (или ISV) по изобретению могут содержать, например (1) последовательность CDR1, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична одной из последовательностей CDR1, указанных в табл. В-1; последовательность CDR2, содержащую 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам с последовательностью CDR2, указанной в табл. В-1, которая принадлежит к той же комбинации; и последовательность CDR3, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична последовательности CDR3, указанной в табл. В-1, которая принадлежит к той же комбинации; (2) последовательность CDR1; CDR2, перечисленные в табл. В-1, и последовательность CDR3, перечисленные в табл. В-1 (где последовательность CDR2 и последовательность CDR3 могут принадлежать к различным комбинациям).

Некоторые еще более предпочтительные нанотела (или ISV) по изобретению могут содержать, например (1) последовательность CDR1, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична одной из последовательностей CDR1, указанных в табл. В-1; последовательность CDR2, указанную в табл. В-1, которая принадлежит к той же комбинации; и последовательность CDR3, указанную в табл. В-1, которая принадлежит к другой комбинации; или (2) последовательность CDR1, указанную в табл. В-1; последовательность CDR2, которая содержит 3, 2 или 1 различия по аминокислотам с последовательностью CDR2, указанной в табл. В-1, которая принадлежит к той же комбинации; и последовательность CDR3, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична последовательности CDR3, указанной в табл. В-1, которая принадлежит к той же или к другой комбинации.

Особенно предпочтительные нанотела (или ISV) по изобретению могут содержать, например, последовательность CDR1, указанную в табл. В-1, последовательность CDR2, которая по меньшей мере более чем на 80% идентична последовательности CDR2, указанной в табл. В-1, которая принадлежит к той же комбинации; и последовательность CDR3, указанную в табл. В-1, которая принадлежит к той же комбинации.

В наиболее предпочтительных нанотелах (или ISV) по изобретению, присутствующие последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 подходящим образом выбраны из одной из комбинаций последовательностей CDR1, CDR2 и CDR3 соответственно, перечисленных в табл. В-1.

По другому предпочтительному, но неограничивающему аспекту изобретения (а) длина CDR1 составляет от 1 до 12 аминокислотных остатков и, как правило, от 2 до 9 аминокислотных остатков, например 5, 6 или 7 аминокислотных остатков; и/или (b) длина CDR2 составляет от 13 до 24 аминокислотных остатков и, как правило, от 15 до 21 аминокислотных остатков, например 16 и 17 аминокислотных остатков; и/или (c) длина CDR3 составляет от 2 до 35 аминокислотных остатков и, как правило, от 3 до 30 аминокислотных остатков, например от 6 до 23 аминокислотных остатков.

В другом предпочтительном, но неограничивающем аспекте изобретение относится к нанотелу (или ISV), в котором последовательности CDR (как определено в настоящем документе) более чем на 80%, предпочтительно более чем на 90%, более предпочтительно более чем на 95%, например на 99% или более идентичны по последовательности (как определено в настоящем документе) с последовательностями CDR по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. А-1).

Как правило, нанотела (или ISV) с указанными выше последовательностями CDR могут быть такими, как далее описано в настоящем документе, и предпочтительно содержат каркасные последовательности, которые также являются такими, как далее описано в настоящем документе. Таким образом, например, и как указано в настоящем документе, такие нанотела (или ISV) могут представлять собой природные нанотела (или ISV) (из любого подходящего вида), природные последовательности V_{HH} (т.е. любого подходящего вида верблюдовых) или синтетические или полусинтетические аминокислотные последовательности или нанотела (или ISV), включая в качестве неограничивающих примеров частично гуманизированные нанотела (или ISV) или последовательности V_{HH} , полностью гуманизированные нанотела (или ISV) или последовательности V_{HH} , последовательности камелизированных переменных доменов тяжелой цепи, а также нанотела (или ISV), которые получены способами, указываемыми в настоящем документе.

Таким образом, в одном конкретном, но неограничивающем аспекте изобретение относится к гуманизированному нанотелу (или ISV), которое состоит из 4 каркасных областей (FR1-FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (CDR1-CDR3 соответственно), в котором CDR1-CDR3 являются такими, как определено в настоящем документе, и в котором указанное гуманизированное нанотело (или ISV) содержит по меньшей мере одну гуманизирующую замену (как определено в настоя-

щем документе) и, в частности, по меньшей мере одну гуманизирующую замену по меньшей мере в одной из своих каркасных последовательностей (как определено в настоящем документе).

В другом предпочтительном, но неограничивающем аспекте изобретение относится к нанотелу (или ISV), в котором последовательности CDR содержат по меньшей мере 70% идентичных аминокислот, предпочтительно по меньшей мере 80% идентичных аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 90% идентичных аминокислот, например 95% идентичных аминокислот или более или даже, по существу, 100% идентичных аминокислот с последовательностями CDR по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1). Эту степень идентичности аминокислот можно определять, например, посредством определения степени идентичности аминокислот (способом, описываемым в настоящем документе) у указанного нанотела (или ISV) и одной или нескольких последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1), в которых аминокислотные остатки, которые формируют каркасные области, не учитывают. Такие нанотела (или ISV) могут быть такими, как далее описано в настоящем документе.

В другом предпочтительном, но неограничивающем аспекте изобретение относится к нанотелу (или ISV) с аминокислотной последовательностью, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1), или из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, которые более чем на 80%, предпочтительно более чем на 90%, более предпочтительно более чем на 95%, например на 99% или более идентичны по последовательности (как определено в настоящем документе) по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1).

Специалисту понятно, что нанотела (или ISV), которые указывают в настоящем документе как "предпочтительные" (или "более предпочтительные", "даже более предпочтительные" и т.д.) также являются предпочтительными (или более предпочтительными, или даже более предпочтительными и т.д.) для применения в полипептидах, описываемых в настоящем документе. Таким образом, полипептиды, которые содержат или, по существу, состоят из одного или нескольких "предпочтительных" нанотел (или ISV) по изобретению, как правило, являются предпочтительными, а полипептиды, которые содержат или, по существу, состоят из одного или нескольких "более предпочтительных" нанотел (или ISV) по изобретению, как правило, являются более предпочтительными и т.д.

Как правило, белки или полипептиды, которые содержат или, по существу, состоят из одиночного нанотела (или ISV) (такого как одиночное нанотело (или ISV) по изобретению) в настоящем документе обозначают как "одновалентные" белки или полипептиды или как "одновалентные конструкции". Белки и полипептиды, которые содержат или, по существу, состоят из двух или более нанотел (или ISV) (таких как по меньшей мере два нанотела (или ISV) по изобретению или по меньшей мере одно нанотело (или ISV) по изобретению и по меньшей мере одно другое нанотело (или ISV)) в настоящем документе обозначают как "поливалентные" белки или полипептиды или как "поливалентные конструкции", и они могут обеспечивать определенные преимущества по сравнению с соответствующими одновалентными нанотелами (или ISV) по изобретению. Некоторые неограничивающие примеры таких поливалентных конструкций станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

По одному из конкретных, но неограничивающих аспектов полипептид по изобретению содержит или, по существу, состоит по меньшей мере из двух нанотел (или ISV) по изобретению, например из двух или трех нанотел (или ISV) по изобретению. Как далее описано в настоящем документе, такие поливалентные конструкции могут обеспечивать определенные преимущества по сравнению с белком или полипептидом, содержащих или, по существу, состоящих из одиночного нанотела (или ISV) по изобретению, такие как намного увеличенная avidность к любому из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Такие поливалентные конструкции станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе.

По другому конкретному, но неограничивающему аспекту полипептид по изобретению содержит или, по существу, состоит по меньшей мере из одного нанотела (или ISV) по изобретению и по меньшей мере одной другой связывающей единицы (т.е. направленной против другого эпитопа, антигена, мишени, белка или полипептида), которая предпочтительно также представляет собой нанотело (или ISV). Так, белки или полипептиды в настоящем документе также обозначают как "полиспецифические" белки или полипептиды или как "полиспецифические конструкции", и они могут обеспечивать определенные преимущества по сравнению с соответствующими одновалентными нанотелами (или ISV) по изобретению (как станет понятно из дальнейшего описания в настоящем документе некоторых предпочтительных, но неограничивающих полиспецифических конструкций). Такие полиспецифические конструкции станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе.

По еще одному конкретному, но неограничивающему аспекту полипептид по изобретению содержит или, по существу, состоит по меньшей мере из одного нанотела (или ISV) по изобретению, необязательно одного или нескольких дополнительных нанотел (или ISV). и по меньшей мере одной другой аминокислотной последовательности (такой как белок или полипептид), придающей нанотелу (или ISV) по изобретению и/или получаемому в результате слитому белку по меньшей мере одно желаемое свойство. Кроме того, такие слитые белки могут обеспечивать определенные преимущества по сравнению с соответствующими одновалентными нанотелами (или ISV) по изобретению. Некоторые неограничи-

вающие примеры таких аминокислотных последовательностей и таких слитых конструкций станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Также возможно комбинировать два или более из указанных выше аспектов, например, с получением трехвалентной биспецифической конструкции, содержащей два нанотела (или ISV) по изобретению и одно другое нанотело (или ISV) и, необязательно, одну или несколько других аминокислотных последовательностей. Дополнительные неограничивающие примеры таких конструкций, а также некоторые конструкции, которые особенно предпочтительны в контексте настоящего изобретения, станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

В указанных выше конструкциях одно или несколько нанотел (или ISV) и/или другие аминокислотные последовательности могут быть непосредственно связаны друг с другом и/или подходящим образом связаны друг с другом посредством одной или нескольких линкерных последовательностей. Некоторые подходящие, но неограничивающие примеры таких линкеров станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

В одном конкретном аспекте изобретения нанотело (или ISV) по изобретению или соединение, конструкция или полипептид по изобретению, содержащие по меньшей мере одно нанотело (или ISV) по изобретению, могут обладать увеличенным временем полужизни по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью по изобретению. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких нанотел (или ISV), соединений и полипептидов станут понятны специалисту на основе дальнейшего описания в настоящем документе и, например, включают нанотела (или ISV), последовательности или полипептиды по изобретению, которые химически модифицированы так, чтобы увеличить их время полужизни (например, посредством пегилирования); аминокислотные последовательности по изобретению, которые содержат по меньшей мере один дополнительный участок связывания для связывания с сывороточным белком (таким как сывороточный альбумин, например, см. EP 0368684 B1, стр. 4); или полипептиды по изобретению, которые содержат по меньшей мере одно нанотело (или ISV) по изобретению, которое связано по меньшей мере с одной молекулой (и, в частности, по меньшей мере с одной аминокислотной последовательностью), которая увеличивает время полужизни нанотел (или ISV) по изобретению. Примеры полипептидов по изобретению, которые содержат такие продлевающие время полужизни молекулы или аминокислотные последовательности, станут понятны специалисту на основе дальнейшего описания в настоящем документе и, например, в качестве неограничивающих примеров включают полипептиды, в которых одно или несколько нанотел (или ISV) по изобретению подходящим образом связаны с одним или несколькими сывороточными белками или их фрагментами (такими как сывороточный альбумин или его подходящие фрагменты) или с одной или несколькими связывающими единицами, которые могут связываться с сывороточными белками (например, такими как нанотела (или ISV), или (одно)доменные антитела, которые могут связываться с сывороточными белками, такими как сывороточный альбумин, сывороточные иммуноглобулины, такие как IgG или трансферрином); полипептиды, в которых нанотело (или ISV) по изобретению связано с частью Fc (такой как Fc человека) или ее подходящими частью или фрагментом; или полипептиды, в которых одно или несколько нанотел (или ISV) по изобретению подходящим образом связаны с одним или несколькими малыми белками или пептидами, которые могут связываться с сывороточными белками (такими как, без ограничения, белки и пептиды, описанные в WO 91/01743, WO 01/45746, WO 02/076489 и в предварительной заявке США Ablynx N.V., озаглавленной "Peptides capable of binding to serum proteins" Ablynx N.V., зарегистрированной 5 декабря 2006 г. (также см. PCT/EP/2007/063348).

Кроме того, как понятно специалисту, такие нанотела (или ISV), соединения, конструкции или полипептиды могут содержать одну или несколько дополнительных групп, остатков, молекул или связывающих единиц, таких как одна или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей и, в частности, одно или несколько дополнительных нанотел (или ISV) (т.е. не направленных против какого-либо из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания) так, чтобы получить конструкцию три-или полиспецифического нанотела (или ISV).

Как правило, нанотела (или ISV) по изобретению (или содержащие их соединения, конструкции или полипептиды) с увеличенным временем полужизни предпочтительно обладают временем полужизни, которое по меньшей мере в 1,5 раза, предпочтительно по меньшей мере в 2 раза, например по меньшей мере в 5 раз, например по меньшей мере в 10 раз или более чем в 20 раз больше, чем время полужизни самой соответствующей аминокислотной последовательности по изобретению. Например, нанотела (или ISV), соединения, конструкции или полипептиды по изобретению с увеличенным временем полужизни могут обладать временем полужизни, которое по сравнению с самой соответствующей аминокислотной последовательностью по изобретению увеличено более чем на 1 ч, предпочтительно более чем на 2 ч, более предпочтительно более чем на 6 ч, например более чем на 12 ч или даже более чем на 24, 48 или 72 ч.

В предпочтительном, но неограничивающем аспекте изобретения такие нанотела (или ISV), соединения, конструкции или полипептиды по изобретению демонстрируют время полужизни в сыворотке человека по меньшей мере приблизительно 12 ч, предпочтительно по меньшей мере 24 ч, более предпочтительно по меньшей мере 48 ч, даже более предпочтительно по меньшей мере 72 ч или более. Напри-

мер, соединения или полипептиды по изобретению могут обладать временем полужизни по меньшей мере 5 суток (таким как приблизительно 5-10 суток), предпочтительно по меньшей мере 9 суток (таким как приблизительно 9-14 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10 суток (таким как приблизительно 10-15 суток) или по меньшей мере приблизительно 11 суток (таким как приблизительно 11-16 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 12 суток (таким как приблизительно 12-18 суток или более) или более 14 суток (таким как приблизительно 14-19 суток).

В еще одном из аспектов изобретения полипептид по изобретению содержит один или несколько (например, два или предпочтительно одно) нанотел (или ISV) по изобретению, связанных (необязательно посредством одной или нескольких подходящих линкерных последовательностей) с одной или несколькими (например, с двумя и предпочтительно одной) аминокислотной последовательностями, которые позволяют получаемому полипептиду по изобретению пересекать гематоэнцефалический барьер. В частности, указанные одна или несколько аминокислотных последовательностей, которые позволяют получаемым полипептидам по изобретению пересекать гематоэнцефалический барьер, могут представлять собой одно или несколько (например, два и предпочтительно одно) нанотел (или ISV), таких как нанотела (или ISV), описанные в WO 02/057445, из которых особенно предпочтительными являются FC44 (SEQ ID NO: 189 WO 06/040153) и FC5 (SEQ ID NO: 190 WO 06/040154).

В частности, полипептиды, содержащие одно или несколько нанотел (или ISV) по изобретению, предпочтительно являются такими, что они

связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, а предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее, более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л (т.е. с константой ассоциации (K_A) от 10^5 до 10^{12} л/моль или более, а предпочтительно от 10^7 до 10^{12} л/моль или более и более предпочтительно от 10^8 до 10^{12} л/моль);

и/или такими, что они

связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой скорости прямой реакции k_{on} от 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$;

и/или такими, что они

связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой скорости обратной реакции k_{off} от 1 s^{-1} ($t_{1/2}=0,69$ с) до $10^{-6}s^{-1}$ (обеспечивая почти необратимый комплекс с $t_{1/2}$ в пределах нескольких суток) предпочтительно от 10^{-2} до $10^{-6}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^{-3} до $10^{-6}s^{-1}$, например от 10^{-4} до $10^{-6}s^{-1}$.

Предпочтительно полипептид, который содержит только одну аминокислотную последовательность по изобретению, предпочтительно является таким, что он связывается с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, более предпочтительно менее 1 нМ, например менее 500 пМ. В этом отношении специалисту понятно, что полипептид, который содержит два или более нанотел (или ISV) по изобретению, по сравнению с полипептидом, который содержит только одну аминокислотную последовательность по изобретению, может связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с увеличенной avidностью.

Некоторые предпочтительные значения IC_{50} для связывания аминокислотных последовательностей или полипептидов по изобретению с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, станут понятны из дальнейшего описания и примеров в настоящем документе.

Другой аспект настоящего изобретения относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей аминокислотную последовательность по изобретению (такую как нанотело (или ISV) по изобретению) или содержащий ее полипептид по изобретению. Кроме того, как в основном описано в настоящем документе для нуклеиновой кислоты по изобретению, такая нуклеиновая кислота может находиться в форме генетической конструкции, как определено в настоящем документе.

В другом аспекте изобретение относится к хозяину или клетке-хозяину, которые экспрессируют или которые способны к экспрессии аминокислотной последовательности (такой как нанотело (или ISV)) по изобретению и/или содержащего ее полипептида по изобретению; и/или которые содержат нуклеиновую кислоту по изобретению. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких хозяев или клеток-хозяев станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Другой аспект изобретения относится к продукту или композиции, содержащим (или состоящим из) по меньшей мере одну аминокислотную последовательность по изобретению, по меньшей мере один полипептид по изобретению и/или по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту по изобретению и, необязательно, один или несколько дополнительных известных компонентов таких композиций, т.е. в зависимости от планируемого применения композиции. Такой продукт или композиция могут представлять собой, например, фармацевтическую композицию (как описано в настоящем документе), ветеринарную композицию или продукт или композицию для диагностического применения (как также описано в настоящем документе). Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких продуктов или композиций станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Кроме того, изобретение относится к способам получения или формирования аминокислотных по-

следовательностей, соединений, конструкций, полипептидов, нуклеиновых кислот, клеток-хозяев, продуктов и композиций, описываемых в настоящем документе. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких способов станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Кроме того, изобретение относится к приложениям и применениям аминокислотных последовательностей, соединений, конструкций, полипептидов, нуклеиновых кислот, клеток-хозяев, продуктов и композиций, описываемых в настоящем документе, а также к способам профилактики и/или лечения заболеваний и нарушений, связанных с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие приложения и применения станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе.

Другие аспекты, варианты осуществления, преимущества и приложения по изобретению также станут понятны из дальнейшего описания ниже в настоящем документе.

Как правило, следует отметить, что термин нанотело (или ISV), как его используют в настоящем документе, в своем самом широком смысле не ограничен конкретным биологическим источником или конкретным способом получения. Например, как будет подробно описано ниже, нанотела (или ISV) по изобретению в основном можно получать любым из способов (1)-(8), указанных на стр. 61 и 62 WO 08/020079, или любым другим подходящим известным способом. Один из предпочтительных классов нанотел (или ISV) соответствует доменам V_{HH} природных антител из тяжелых цепей, направленных против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Как далее описано в настоящем документе, такие последовательности V_{HH} в основном можно производить или получать посредством соответствующей иммунизацией видов верблюдовых любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания (т.е. так, чтобы индуцировать иммунный ответ и/или антитела из тяжелых цепей, направленные против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания), получая подходящий биологический образец у указанного верблюдового (такой как образец крови, образец сыворотки или образец В-клеток) и производя последовательности V_{HH} , направленные против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, начиная от указанного образца с использованием любого подходящего известного способа. Такие способы известны специалисту и/или описаны далее в настоящем документе.

Альтернативно, такие природные домены V_{HH} против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, можно получать из библиотеки наивных последовательностей V_{HH} верблюдовых, например, посредством скрининга такой библиотеки с использованием любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или по меньшей мере одной их части, фрагмента, антигенной детерминанты или эпитопа любыми одним или несколькими известными способами скрининга. Такие библиотеки и способы описаны, например, в WO 99/37681, WO 01/90190, WO 03/025020 и WO 03/035694. Альтернативно, можно использовать улучшенные синтетические или полусинтетические библиотеки, получаемые из библиотек наивных V_{HH} , такие как библиотеки V_{HH} , получаемые из библиотек наивных V_{HH} такими способами, как случайный мутагенез и/или перестановка CDR, как описано, например, в WO 00/43507.

Таким образом, в другом аспекте изобретение относится к способу получения нанотел (или ISV), направленных против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. В одном из аспектов указанный способ, по меньшей мере, включает стадии:

- a) предоставление набора, коллекции или библиотеки последовательностей нанотел (или ISV); и
- b) скрининг указанного набора, коллекции или библиотеки последовательностей нанотел (или ISV) на последовательности нанотел (или ISV), которые могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладают аффинностью к ним; и
- c) выделение нанотела (или ISV) или нанотел (или ISV), которые могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладают аффинностью к ним.

В таком способе набор, коллекция или библиотека последовательностей нанотел (или ISV) могут представлять собой набор, коллекцию или библиотеку последовательностей наивных нанотел (или ISV); набор, коллекцию или библиотеку синтетических или полусинтетических последовательностей нанотел (или ISV); и/или набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нанотел (или ISV), которые подвергали созреванию аффинности.

В предпочтительном аспекте этого способа набор, коллекция или библиотека последовательностей нанотел (или ISV) может представлять собой иммунный набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нанотел (или ISV) и, в частности, иммунный набор, коллекцию или библиотеку последовательностей V_{HH} , которые получены из видов верблюдовых, которых подходящим образом иммунизировали любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или подходящей антигенной детерминантой на их основе или полученной из них, например, антигенной частью, фрагментом, областью, доменом, петлей или другим их эпитопом. В одном из конкретных аспектов указанная антигенная детерминанта может представлять собой внеклеточную часть, область, домен, петлю или другой внеклеточный эпитоп(ы).

В указанных выше способах набор, коллекция или библиотека нанотел (или ISV) или последовательностей V_{HH} можно экспонировать на фаге, фагмиде, рибосоме или в подходящем микроорганизме

(таким как дрожжи), например, для облегчения скрининга. Подходящие способы, технологии и организмы-хозяева для экспонирования и скрининга (набора, коллекции или библиотеки) последовательностей нанотел (или ISV) станут понятны специалисту в данной области, например, на основе дальнейшего описания в настоящем документе. Также приведена ссылка на WO 03/054016 и на обзор Hoogenboom в *Nature Biotechnology*, 23, 9, 1105-1116 (2005).

В другом аспекте способ получения последовательностей нанотел (или ISV) включает, по меньшей мере, стадии:

а) предоставление коллекции или образца клеток, получаемых у видов верблюдовых, экспрессирующих последовательности иммуноглобулинов;

б) скрининг указанной коллекции или образца клеток на (i) клетки, которые экспрессируют последовательности иммуноглобулинов, которые могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладают аффинностью к ним; и (ii) клетки, которые экспрессируют антитела из тяжелых цепей, где подэтапы (i) и (ii) можно проводить, по существу, в виде одной стадии скрининга или в любом подходящем порядке в виде двух отдельных стадий скрининга так, чтобы получить по меньшей мере одну клетку, которая экспрессирует антитело из тяжелых цепей, которое может связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладает аффинностью к ним; и

с) или (i) выделение из указанной клетки последовательности V_{HH} , находящейся в указанном антителе из тяжелых цепей; или (ii) выделение из указанной клетки последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательность V_{HH} , находящуюся в указанном антителе из тяжелых цепей с последующей экспрессией указанного домена V_{HH} .

В способе по этому аспекту коллекция или образец клеток могут представлять собой, например, коллекцию или образец В-клеток. Также в этом способе образец клеток можно получать у верблюдового, которого подходящим образом иммунизировали любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или подходящей антигенной детерминантой на их основе или полученной из них, например, антигенной частью, фрагментом, областью, доменом, петлей или другим их эпитопом. В одном из конкретных аспектов указанная антигенная детерминанта может представлять собой внеклеточную часть, область, домен, петлю или другой внеклеточный эпитоп(ы).

Как понятно специалисту, указанный выше способ можно проводить любым подходящим образом. Ссылка приведена, например, на EP 0542810, WO 05/19824, WO 04/051268 и WO 04/106377. Скрининг на стадии б) предпочтительно проводят способом проточной цитометрии, такого как FACS. Для этого ссылка приведена, например, на Lieby et al., *Blood*, Vol. 97, No. 12, 3820. Конкретная ссылка приведена на так называемый способ "Nanoclone™", описанный в международной заявке WO 06/079372 Ablynx N.V.

В другом аспекте способ получения аминокислотной последовательности, направленной против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, может включать по меньшей мере стадии:

а) предоставление набора, коллекции или библиотеки последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих последовательности антител из тяжелых цепей или нанотел (или ISV);

б) скрининг указанного набора, коллекции или библиотеки последовательностей нуклеиновых кислот на последовательности нуклеиновых кислот, которые кодируют последовательность антитела из тяжелых цепей или нанотела (или ISV), которые могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладают аффинностью к ним; и

с) выделение указанной последовательности нуклеиновой кислоты с последующей экспрессией последовательности V_{HH} , присутствующей в указанном антителе из тяжелых цепей, или посредством экспрессии последовательности указанного нанотела (или ISV) соответственно.

В таком способе набор, коллекция или библиотека последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих антитела из тяжелых цепей или последовательности нанотел (или ISV), могут представлять собой, например, набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих набор, коллекцию или библиотеку наивных антител из тяжелых цепей или последовательности V_{HH} ; набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих набор, коллекцию или библиотеку синтетических или полусинтетических последовательностей нанотел (или ISV); и/или набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нанотел (или ISV), которые подвергали созреванию аффинности.

В предпочтительном аспекте этого способа набор, коллекция или библиотека последовательностей нуклеиновых кислот могут представлять собой иммунный набор, коллекцию или библиотеку последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих антитела из тяжелых цепей или последовательности V_{HH} , получаемые у верблюдового, которого подходящим образом иммунизировали любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или подходящей антигенной детерминантой на их основе или полученной из них, например, антигенной частью, фрагментом, областью, доменом, петлей или другим их эпитопом. В одном из конкретных аспектов указанная антигенная детерминанта может представлять собой внеклеточную часть, область, домен, петлю или другой внеклеточный эпитоп(ы).

В указанных выше способах набор, коллекцию или библиотеку нуклеотидных последовательностей можно экспонировать на фаге, фагмиде, рибосоме или подходящем микроорганизме (таком как дрожжи), например, для облегчения скрининга. Подходящие способы, технологии и организмы-хозяева для экспонирования и скрининга (набора, коллекции или библиотеки) нуклеотидных последовательностей, кодирующих аминокислотные последовательности, станут понятны специалисту в данной области, например, на основе дальнейшего описания в настоящем документе. Также приведена ссылка на WO 03/054016 и на обзор Hoogenboom в *Nature Biotechnology*, 23, 9, 1105-1116 (2005).

Как понятно специалисту, стадию скрининга способов, описываемых в настоящем документе, также можно проводить в качестве стадии отбора. Таким образом, термин "скрининг", как его используют в настоящем описании, может включать отбор, скрининг или любую подходящую комбинацию способов отбора и/или скрининга. Также, когда используют набор, коллекцию или библиотеку последовательностей, они могут содержать любое подходящее количество последовательностей, например 1, 2, 3 или приблизительно 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 или более последовательностей.

Также одну или несколько или все последовательности в указанных выше наборе, коллекции или библиотеке аминокислотных последовательностей можно получать или определять посредством логических или полуэмпирических подходов, таких как способы компьютерного моделирования или способы биостатистики или сбора данных.

Кроме того, так набор, коллекция или библиотека могут содержать одну, два или более последовательностей, которые представляют собой варианты один другого (например, со сконструированными точечными мутациями или со случайно измененными положениями), несколько консенсусных последовательностей, получаемых из многообразного набора различных по природе последовательностей (например, иммунной библиотеки) или любого другого источника различных последовательностей (как описано, например, в Hoogenboom et al., *Nat Biotechnol* 23:1105, 2005 и Binz et al., *Nat Biotechnol* 2005, 23:1247). Такие набор, коллекция или библиотека последовательностей можно экспонировать на поверхности фаговой частицы, рибосомы, бактерии, дрожжевой клетки, клетки млекопитающего и связывать с нуклеотидной последовательностью, кодирующей аминокислотные последовательности в этих носителях. Это делает такие набор, коллекцию или библиотеку поддающимися процедурам отбора для выделения желаемых аминокислотных последовательностей по изобретению. В более общем смысле, когда последовательность экспонирована на подходящем хозяине или клетке-хозяине, также возможно (и общепринято) сначала у указанного хозяина или клетки-хозяина выделять нуклеотидную последовательность, кодирующую желаемую последовательность, а затем получать желаемую последовательность посредством подходящей экспрессии указанной нуклеотидной последовательности в подходящем организме-хозяине. Кроме того, как понятно специалисту, это можно проводить любым известным подходящим способом.

Еще один способ получения последовательностей V_{HH} или последовательностей нанотел (или ISV), направленных против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, предусматривает соответствующую иммунизацию трансгенного млекопитающего, способного к экспрессии антител из тяжелых цепей (т.е. так, чтобы индуцировать иммунный ответ и/или антитела из тяжелых цепей, направленные против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания), получение у указанного трансгенного млекопитающего подходящего биологического образца, который содержит (последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие) указанные последовательности V_{HH} или последовательности нанотел (или ISV) (такого как образец крови, образец сыворотки или образец В-клеток), а затем получения последовательностей V_{HH} , направленных против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, начиная от указанного образца, с использованием любого известного подходящего способа (такого как любой из способов, описываемых в настоящем документе, или гибридный способ). Например, для этой цели можно использовать мышей, экспрессирующих антитела из тяжелых цепей, и дополнительные способы и технологии, описанные в WO 02/085945, WO 04/049794 и WO 06/008548 и Janssens et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006 Oct 10;103(41):15130-5. Например, такие мыши, экспрессирующие антитела из тяжелых цепей, могут экспрессировать антитела из тяжелых цепей с любым подходящим (одиночным) переменным доменом, таким как (одиночные) переменные домены из природных источников (например, (одиночные) переменные домены человека, (одиночные) переменные домены верблюдовых или (одиночные) переменные домены акулы), а также, например, синтетические или полусинтетические (одиночные) переменные домены.

Изобретение также относится к последовательностям V_{HH} или последовательностям нанотел (или ISV), которые получают указанными выше способами, или, альтернативно, способом, который включает один из указанных выше способов и, кроме того, по меньшей мере стадии определения нуклеотидной последовательности или аминокислотной последовательности указанных последовательности V_{HH} или последовательности нанотела (или ISV); и экспрессии или синтеза указанных последовательности V_{HH} или последовательности нанотела (или ISV) известным способом, таким как посредством экспрессии в подходящих клетке-хозяине или организме-хозяине или посредством химического синтеза.

Как указано в настоящем документе, особенно предпочтительный класс нанотел (или ISV) по изобретению включает нанотела (или ISV) с аминокислотной последовательностью, которая соответствует

аминокислотной последовательности природного домена V_{HH} , но которая была "гуманизирована", т.е. в которой в аминокислотной последовательности указанной природной последовательности V_{HH} (и, в частности, в каркасных последовательностях) заменены одна или несколько аминокислотных остатков на один или несколько аминокислотных остатков, которые находятся в соответствующих положениях в домене V_H обычного 4-цепочечного антитела человека (например, указанного выше), как дополнительно описано, и способами, указанными на стр. 63 WO 08/020079. Другой особенно предпочтительный класс нанотел (или ISV) по изобретению включает нанотела (или ISV) с аминокислотной последовательностью, которая соответствует аминокислотной последовательности природного домена V_H , но которая была "камелизирована", т.е. в которой в аминокислотной последовательности природного домена V_H общепринятого 4-цепочечного антитела заменены один или несколько аминокислотных остатков на один или несколько аминокислотных остатков, которые находятся в соответствующих положениях в домене V_{HH} антитела из тяжелых цепей, как дополнительно описано, и способами, указанными на стр. 63 WO 08/020079.

Специалисту очевидны другие подходящие способы и технологии получения нанотел (или ISV) по изобретению и/или кодирующих их нуклеиновых кислот, начиная от природных последовательностей V_H или предпочтительно последовательностей V_{HH} , и они могут включать, например, способы, указанные на стр. 64 WO 08/00279. Как указано в настоящем документе, нанотела (или ISV), в частности, можно охарактеризовать по присутствию одного или нескольких "характерных остатков" (как описано в настоящем документе) в одной или нескольких каркасных последовательностях.

Как правило, одиночные вариабельные домены иммуноглобулинов (в частности, последовательности V_{HH} и одиночные вариабельные домены иммуноглобулинов с оптимизированной последовательностью), в частности, можно охарактеризовать по присутствию одного или нескольких "характерных остатков" (как описано в настоящем документе) в одной или нескольких каркасных последовательностях (так же как далее описано в настоящем документе).

Таким образом, как правило, одиночный вариабельный домен иммуноглобулина можно определить как аминокислотную последовательность (общей) структуры

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4,

в которой FR1-FR4 относятся к каркасным областям 1-4 соответственно, и в которой CDR1-CDR3 относятся к определяющим комплементарность областям 1-3 соответственно.

В предпочтительном аспекте изобретение относится к полипептидам, содержащим, по меньшей мере, одиночный вариабельный домен иммуноглобулина, который представляет собой аминокислотную последовательность (общей) структуры

FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4,

в которой FR1-FR4 относятся к каркасным областям 1-4 соответственно, и в которой CDR1-CDR3 относятся к определяющим комплементарность областям 1-3 соответственно, и в которой

i) по меньшей мере один из аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбран из характерных остатков, указанных в табл. В-2 ниже; и в которой

ii) указанная аминокислотная последовательность по меньшей мере на 80%, более предпочтительно на 90%, даже более предпочтительно на 95% идентична по аминокислотам по меньшей мере с одним из одиночных вариабельных доменов иммуноглобулинов, как представлено в WO 2009/138519 (см. SEQ ID NO: 1-125 в настоящем документе или в WO 2009/138519), где с целью определения степени идентичности аминокислот аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR (указанные посредством X в последовательностях), не учитывают; и в которой

iii) последовательности CDR в основном определены далее в настоящем документе (например, CDR1, CDR2 и CDR3 в комбинации, как предоставлено в табл. В-2, следует отметить, что определения CDR рассчитаны по системе нумерации по Kabat).

Характерные остатки в V_{HH}

Положение	V_{H3} человека	Характерные остатки
11	L, V; преимущественно L	L, S, V, M, W, F, T, Q, E, A, R, G, K, Y, N, P, I; предпочтительно, L
37	V, I, F; , как правило, V	F ⁽¹⁾ , Y, V, L, A, H, S, I, W, C, N, G, D, T, P, предпочтительно, F ⁽¹⁾ или Y
44 ⁽⁸⁾	G	E ⁽³⁾ , Q ⁽³⁾ , G ⁽²⁾ , D, A, K, R, L, P, S, V, H, T, N, W, M, I; предпочтительно, G ⁽²⁾ , E ⁽³⁾ или Q ⁽³⁾ ; наиболее предпочтительно, G ⁽²⁾ или Q ⁽³⁾ .
45 ⁽⁸⁾	L	L ⁽²⁾ , R ⁽³⁾ , P, H, F, G, Q, S, E, T, Y, C, I, D, V; предпочтительно, L ⁽²⁾ или R ⁽³⁾
47 ⁽⁸⁾	W, Y	F ⁽¹⁾ , L ⁽¹⁾ или W ⁽²⁾ G, I, S, A, V, M, R, Y, E, P, T, C, H, K, Q, N, D; предпочтительно, W ⁽²⁾ , L ⁽¹⁾ или F ⁽¹⁾
83	R или K; , как правило, R	R, K ⁽⁵⁾ , T, E ⁽⁵⁾ , Q, N, S, I, V, G, M, L, A, D, Y, H; предпочтительно, K или R; наиболее предпочтительно, K
84	A, T, D; преимущественно A	P ⁽⁵⁾ , S, H, L, A, V, I, T, F, D, R, Y, N, Q, G, E; предпочтительно, P
103	W	W ⁽⁴⁾ , R ⁽⁶⁾ , G, S, K, A, M, Y, L, F,
		T, N, V, Q, P ⁽⁶⁾ , E, C; предпочтительно, W
104	G	G, A, S, T, D, P, N, E, C, L; предпочтительно, G
108	L, M или T; преимущественно L	Q, L ⁽⁷⁾ , R, P, E, K, S, T, M, A, H; предпочтительно, Q или L ⁽⁷⁾

Примечания:

- (1) в частности, но не исключительно, в комбинации с KERE или KQRE в положениях 43-46;
 (2) как правило, в виде GLEW в положениях 44-47;
 (3) как правило, в виде KERE или KQRE в положениях 43-46, например в виде KEREL, KEREf, KQREL, KQREF, KEREG, KQREW или KQREG в положениях 43-47. Альтернативно, также возможны такие последовательности, как TERE (например, TEREL), TQRE (например, TQREL), KECE (например, KECeL или KECER), KQCE (например, KQCeL), RERE (например, REREG), RQRE (например, RQREL, RQREF или RQREW), QERE (например, QEREG), QQRE, (например, QQREW, QQREL или QQREF), KGRE (например, KGREG), KDRE (например, KDREV). Некоторые другие возможные, но менее предпочтительные последовательности включают, например, DECKL и NVCEL;
 (4) с обеими GLEW в положениях 44-47 и KERE или KQRE в положениях 43-46;
 (5) часто в виде KP или EP в положениях 83-84 природных доменов V_{HH} ;
 (6) в частности, но не исключительно, в комбинации с GLEW в положениях 44-47;
 (7) при условии, что когда в положениях 44-47 находится GLEW, в положении 108 (негуманизированной) последовательности V_{HH} , которая также содержит W в 103, всегда находится Q;
 (8) группа GLEW также содержит последовательности, подобные GLEW, в положениях 44-47, таких как, например, GVEW, EPEW, GLER, DQEW, DLEW, GIEW, ELEW, GPEW, EWLP, GPER, GLER и ELEW.

Кроме того, такие одиночные переменные домены иммуноглобулинов можно получать любым подходящим способом и из любого подходящего источника, и они могут представлять собой, например, природные последовательности V_{HH} (т.е. подходящего вида верблюдовых, например ламы) или синтети-

ческие или полусинтетические V_H или V_L (например, человека). Такие одиночные вариабельные домены иммуноглобулинов могут включать "гуманизированные" или иным образом "оптимизированные по последовательности" V_{HH} , "камелизированные" последовательности иммуноглобулинов (и, в частности, последовательности камелизированных вариабельных доменов тяжелых цепей, т.е. камелизированные V_H), а также V_H человека, V_L человека, камелизированные V_{HH} , измененные такими способами, как созревание аффинности (например, начиная от синтетических, искусственных или природных последовательностей иммуноглобулинов), прививание CDR, винирование, комбинирование фрагментов, полученных из различных последовательностей иммуноглобулинов, сборка ПЦР с использованием перекрывающихся праймеров и подобные способам конструирования последовательностей иммуноглобулинов, хорошо известные специалисту; или любой подходящей комбинации любого из указанного выше, как далее описано в настоящем документе.

В другом предпочтительном, но неограничивающем аспекте изобретение относится к нанотелу (или ISV), как описано выше, в котором последовательности CDR содержат по меньшей мере 70% идентичных аминокислот, предпочтительно по меньшей мере 80% идентичных аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 90% идентичных аминокислот, например 95% идентичных аминокислот или более или даже, по существу, 100% идентичных аминокислот с последовательностями CDR по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1). Эту степень идентичности аминокислот можно определять, например, посредством определения степени идентичности аминокислот (способом, описываемым в настоящем документе) у указанного нанотела (или ISV) и одной или нескольких последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1), в которых аминокислотные остатки, которые формируют каркасные области, не учитывают. Такие нанотела (или ISV) могут быть такими, как далее описано в настоящем документе.

Как уже указано в настоящем документе, другой предпочтительный, но неограничивающий аспект изобретения относится к нанотелу (или ISV) с аминокислотной последовательностью, которая выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1), или из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей, которые более чем на 80%, предпочтительно более чем на 90%, более предпочтительно более чем на 95%, например, на 99% или более идентичны по последовательности (как определено в настоящем документе) по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1).

Также в указанных выше нанотелах (или ISV)

i) любая замена аминокислоты (когда она не является гуманизирующей заменой, как определено в настоящем документе) предпочтительно и по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1) является консервативной аминокислотной заменой (как определено в настоящем документе); и/или

ii) их аминокислотная последовательность предпочтительно содержит только замены аминокислот, или в ином случае, предпочтительно не более чем 5, предпочтительно не более чем 3 и более предпочтительно только 1 или 2 делеции или вставки аминокислот по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1); и/или

iii) CDR могут представлять собой CDR, которые получают посредством созревания аффинности, например, начиная от CDR соответствующей аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1).

Предпочтительно последовательности CDR и последовательности FR в нанотелах (или ISV) по изобретению являются такими, что нанотела (или ISV) по изобретению (и содержащие их полипептиды по изобретению)

связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, а предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л (т.е. с константой ассоциации (K_A) от 10^5 до 10^{12} л/моль или более, а предпочтительно от 10^7 до 10^{12} л/моль или более и более предпочтительно от 10^8 до 10^{12} л/моль); и/или такими, что они

связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой скорости прямой реакции k_{on} от 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$;

и/или такими, что они

связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой скорости обратной реакции k_{off} от 1 s^{-1} ($t_{1/2}=0,69$ с) до 10^{-6} s^{-1} (обеспечивая почти необратимый комплекс с $t_{1/2}$ в пределах нескольких суток) предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6} s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6} s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6} s^{-1} .

Предпочтительно последовательности CDR и последовательности FR, присутствующие в нанотелах (или ISV) по изобретению являются такими, что нанотела (или ISV) по изобретению связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью менее 500 nM, предпочтительно менее 200 nM, более предпочтительно менее 10 nM, например менее 500 pM.

По одному из неограничивающих аспектов изобретения нанотело (или ISV) может быть таким, как

определено в настоящем документе, но при условии, что оно содержит по меньшей мере "одну отличную аминокислоту" (как определено в настоящем документе) по меньшей мере в одной из каркасных областей по сравнению с соответствующей каркасной областью природного домена V_H человека и, в частности, по сравнению с соответствующей каркасной областью DP-47. Более конкретно по одному из неограничивающих аспектов изобретения нанотело (или ISV) может быть таким, как определено в настоящем документе, но при условии, что оно содержит по меньшей мере "одну отличную аминокислоту" (как определено в настоящем документе) по меньшей мере по одному из характерных остатков (включая остатки в положениях 108, 103 и/или 45) по сравнению с соответствующей каркасной областью природного домена V_H человека и, в частности, по сравнению с соответствующей каркасной областью DP-47. Как правило, нанотело (или ISV) содержит по меньшей мере одну такую отличную от природного домена V_H аминокислоту по меньшей мере в одной из FR2 и/или FR4 и, в частности, по меньшей мере по одному из характерных остатков в FR2 и/или FR4 (также включая остатки в положениях 108, 103 и/или 45).

Также гуманизированное нанотело (или ISV) по изобретению может быть таким, как определено в настоящем документе, но при условии, что оно содержит по меньшей мере "одну отличную аминокислоту" (как определено в настоящем документе) по меньшей мере в одной из каркасных областей по сравнению с соответствующей каркасной областью природного домена V_{HH} . Более конкретно по одному из неограничивающих аспектов изобретения гуманизированное нанотело (или ISV) может быть таким, как определено в настоящем документе, но при условии, что оно содержит по меньшей мере "одну отличную аминокислоту" (как определено в настоящем документе) по меньшей мере по одному из характерных остатков (включая остатки в положениях 108, 103 и/или 45) по сравнению с соответствующей каркасной областью природного домена V_{HH} . Как правило, гуманизированное нанотело (или ISV) содержит по меньшей мере одну такую отличную с природным доменом V_{HH} аминокислоту по меньшей мере в одной из FR2 и/или FR4 и, в частности, по меньшей мере по одному из характерных остатков в FR2 и/или FR4 (также включая остатки в положениях 108, 103 и/или 45).

Как понятно из описания в настоящем документе, также в объеме изобретения находится применение природных или синтетических аналогов, мутантов, вариантов, аллелей, гомологов и ортологов (в настоящем документе коллективно обозначаемых как "аналоги") нанотел (или ISV) по изобретению, как определено в настоящем документе, и, в частности, аналогов нанотел (или ISV) SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1). Таким образом, по одному из аспектов изобретения термин "нанотело (или ISV) по изобретению" в своем самом широком смысле также относится к таким аналогам.

Как правило, в таких аналогах по сравнению с нанотелами (или ISV) по изобретению, как определено в настоящем документе, могут быть замещены, удалены и/или добавлены один или несколько аминокислотных остатков. Такие замены, вставки или делеции можно производить в одной или нескольких каркасных областях и/или в одной или нескольких CDR. Когда такие замены, вставки или делеции производят в одной или нескольких каркасных областях, их можно производить по одному или нескольким характерным остаткам и/или в одном или нескольких других положениях каркасных остатков, хотя замены, вставки или делеции по характерным остаткам, как правило, являются менее предпочтительными (если они не являются подходящими гуманизирующими заменами, как описано в настоящем документе).

Посредством неограничивающих примеров замена может представлять собой, например, консервативную замену (как описано в настоящем документе) и/или аминокислотный остаток можно заменять на другой аминокислотный остаток, который в природе находится в том же положении в другом домене V_{HH} (в качестве некоторых неограничивающих примеров таких замен см. табл. с B-4 по B-7), хотя изобретение в основном не ограничено ими. Таким образом, в объем изобретения включены любые одна или несколько замен, делеции или вставки или любое их сочетание, которые улучшают свойства нанотел (или ISV) по изобретению или, по меньшей мере, сильно не ухудшают желаемые свойства или баланс или комбинацию желаемых свойств нанотел (или ISV) по изобретению (т.е. до той степени, что нанотело (или ISV) больше не подходит для заданного применения). Специалист в основном сможет определить и выбрать подходящие замены, делеции или вставки или их подходящие комбинации на основе описания в настоящем документе и необязательно после ограниченного объема общепринятого экспериментирования, которое может включать, например, введение ограниченного количества возможных замен и определение их влияния на свойства получаемых таким образом нанотел (или ISV).

Например, в зависимости от используемого для экспрессии нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению организма-хозяина, такие делеции и/или замены можно конструировать таким образом, что происходит удаление одного или нескольких участков посттрансляционной модификации (таких как один или несколько участков гликозилирования), что входит в компетенцию специалиста в данной области. Альтернативно, замены или вставки можно конструировать так, что происходит внесение одного или нескольких участков присоединения функциональных групп (как описано в настоящем документе), например, с обеспечением сайт-специфического пегилирования (так же как описано в настоящем документе).

Как можно видеть из данных об энтропии V_{HH} и вариабельности V_{HH} , приведенных в табл. от B-4 до B-7, некоторые аминокислотные остатки в каркасных областях являются более консервативными, чем другие. Как правило, хотя изобретение в своем самом широком смысле не ограничено этим, любые заме-

ны, делеции или вставки предпочтительно производят в положениях, которые являются менее консервативными. Также, как правило, замены аминокислот предпочтительнее делеции или вставок аминокислот.

Аналоги предпочтительно являются такими, что они могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно, измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительного или кажущегося), значения K_A (действительного или кажущегося), константы скорости прямой реакции k_{on} и/или константы скорости обратной реакции k_{off} или, альтернативно, в виде значения IC_{50} , как далее описано в настоящем документе), как определено в настоящем документе для нанотел (или ISV) по изобретению.

Также аналоги предпочтительно являются такими, что они сохраняют полезные свойства нанотел (или ISV), как описано в настоящем документе.

Также по одному предпочтительному аспекту степень идентичности последовательностей аналогов составляет по меньшей мере на 70%, предпочтительно по меньшей мере на 80%, более предпочтительно по меньшей мере на 90%, так как по меньшей мере на 95% или 99% или более; и/или предпочтительно они содержат максимум 20, предпочтительно максимум 10, даже более предпочтительно максимум 5, например 4, 3, 2 или только 1 различие по аминокислотам (как определено в настоящем документе) с одним из нанотел (или ISV) SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1).

Также каркасные последовательности и CDR аналогов предпочтительно являются такими, что они соответствуют предпочтительным аспектам, определенным в настоящем документе. В более общем смысле, как описано в настоящем документе, аналоги содержат (a) Q в положении 108; и/или (b) заряженную аминокислоту или остаток цистеина в положении 45 и предпочтительно E в положении 44, более предпочтительно E в положении 44 и R в положении 45; и/или (c) P, R или S в положении 103.

Один из предпочтительных классов аналогов нанотел (или ISV) по изобретению включает нанотела (или ISV), которые подвергли гуманизации (т.е. по сравнению с последовательностью природного нанотела (или ISV) по изобретению). Как указано на предшествующем уровне техники, приводимом в настоящем документе, такая гуманизация, как правило, включает замену одного или нескольких аминокислотных остатков в последовательности природного V_{HH} аминокислотными остатками, которые находятся в тех же положениях в домене V_H человека, таком как домен V_{H3} человека. Примеры возможных гуманизирующих замен или комбинаций гуманизирующих замен станут понятны специалисту, например, из таблиц в настоящем документе, из возможных гуманизирующих замен, указанных на предшествующем уровне техники, приводимом в настоящем документе, и/или из сравнения последовательностей нанотел (или ISV) и последовательности природного домена V_H человека.

Гуманизирующие замены следует выбирать так, чтобы получаемые в результате гуманизированные нанотела (или ISV) все еще сохраняли полезные свойства нанотел (или ISV), как определено в настоящем документе, а более предпочтительно так, чтобы они являлись такими, как описано для аналогов в предшествующем разделе. Специалист в основном может определить и выбрать подходящие гуманизирующие замены или подходящие комбинации гуманизирующих замен на основе описания в настоящем документе и необязательно после ограниченного объема общепринятого экспериментирования, которое может включать, например, введение ограниченного количества возможных гуманизирующих замен и определение их влияния на свойства полученных таким образом нанотел (или ISV).

Как правило, в результате гуманизации нанотела (или ISV) по изобретению могут становиться более "человекоподобными", при этом все еще сохраняя полезные свойства нанотел (или ISV) по изобретению, как описано в настоящем документе. В результате такие гуманизированные нанотела (или ISV) могут обладать определенными преимуществами, такими как сниженная иммуногенность по сравнению с соответствующими природными доменами V_{HH} . Кроме того, на основе описания в настоящем документе и необязательно после ограниченного объема общепринятого экспериментирования специалист сможет выбрать гуманизирующие замены или подходящие комбинации гуманизирующих замен, которые позволяют оптимизировать или достичь желаемого или подходящего баланса между полезными свойствами, обеспечиваемыми гуманизирующими заменами, с одной стороны, и полезными свойствами природных доменов V_{HH} , с другой стороны.

Нанотела (или ISV) по изобретению можно соответственно гуманизировать по любому каркасному остатку(ам), такому как один или несколько характерных остатков (как определено в настоящем документе), или один или несколько других каркасных остатков (т.е. нехарактерных остатков), или их любого подходящего сочетания. Одной из предпочтительных гуманизирующих замен для нанотел (или ISV) "группы P,R,S-103" или "группы KERE" является Q108 на L108. Нанотела (или ISV) "класса GLEW" также можно гуманизировать посредством замены Q108 на L108 при условии, что по меньшей мере один из других характерных остатков содержат верблюдовую (камелизирующую) замену (как определено в настоящем документе). Например, как указано выше, один особенно предпочтительный класс гуманизированных нанотел (или ISV) содержит последовательность GLEW или последовательность, подобную GLEW, в положениях 44-47; P, R или S (и, в частности, R) в положении 103, и L в положении 108.

Гуманизированные и другие аналоги и кодирующие их последовательности нуклеиновой кислоты можно получать любым известным способом, например одним или несколькими из способов, указанных на стр. 103 и 104 WO 08/020079.

Также в дополнение к гуманизирующим заменам, как описано в настоящем документе, аминокислотные последовательности по изобретению могут содержать одну или несколько других/дополнительных замен. Кроме того, некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких других/дополнительных замен станут понятны из дальнейшего описания в настоящем документе, и например, они могут включать (и предпочтительно, по существу, состоят из) одну или несколько из следующих замен:

- (a) одна или несколько консервативных аминокислотных замен; и/или
- (b) одна или несколько замен, в которых "верблюдовый" аминокислотный остаток в определенном положении заменен другим "верблюдовым" аминокислотным остатком, который находится в указанном положении, для которых приведена ссылка, например, на табл. с А-6 по А-9 РСТ/ЕР 2008/066365 (опубликованной 4 июня 2009 г. как WO 09/068627), где указаны различные остатки верблюдовых, которые находятся в каждом положении аминокислот в V_{HH} дикого типа. Такие замены могут даже включать подходящие замены аминокислотных остатков, которые находятся в характерных положениях, другими аминокислотными остатками, которые находятся в характерных положениях в V_{HH} дикого типа (для которых приведена ссылка, например, на табл. с А-6 по А-9 РСТ/ЕР 2008/066365); и/или
- (c) одна или несколько замен, которые улучшают (другие) свойства белка, такие как замены, которые улучшают долговременную стабильность белка и/или свойства белка при хранении. Они могут представлять собой, например, и без ограничения, замены, которые предотвращают или снижают окисление (например, остатков метионина); которые предотвращают или снижают формирование пироглутамата, и/или которые предотвращают или снижают изомеризацию или дезаминирование остатков аспарагиновой кислоты или остатков аспарагина (например, мотивов DG, DS, NG или NS). Для таких замен приведена ссылка, например, на международную заявку WO 09/095235, которая в основном относится к способам стабилизации одиночных переменных доменов иммуноглобулинов посредством таких замен и в которой также приведены некоторые конкретные примеры подходящих замен (например, см. стр. 4 и 5 и 10-15). Одним из примеров такой замены может быть замена мотива NS в положениях 82a и 82b мотивом NN (см. табл. В-6 настоящего описания);
- (d) одна или несколько замен, которые улучшают уровни экспрессии в заданных клетке-хозяине или организме-хозяине и/или другие свойства, которые важны для продукции/экспрессии в желаемых клетке-хозяине или организме-хозяине. Также они могут включать, например, замены, которые удаляют возможные сайты (нежелательных) посттрансляционных модификаций и/или которые иным образом снижают (нежелательные) посттрансляционные модификации (такие как, например, и без ограничения, возможное гликозилирование или фосфорилирование) в зависимости от клетки-хозяина или организма-хозяина, используемых для экспрессии/продукции; а также, например, удаляя участки, которые могут быть чувствительными к протеолитическому расщеплению (также в зависимости от используемых клетки-хозяина или организма-хозяина).

Некоторые конкретные, но неограничивающие примеры гуманизованных и/или содержащих оптимизированную последовательность аминокислотных последовательностей по изобретению приведены на фиг. 7 и в SEQ ID NO: 760-825, и каждый из них составляет дополнительный аспект настоящего изобретения. На основе дальнейшего описания в настоящем документе специалист сможет получать другие гуманизованные и/или содержащие оптимизированную последовательность аминокислотные последовательности по изобретению.

На фиг. 8 и в SEQ ID NO: 826-837 приведены некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры полипептидов по изобретению на основе гуманизованных и/или содержащих оптимизированную последовательность аминокислотных последовательностей по изобретению в качестве структурных элементов, и каждый из них составляет дополнительный аспект настоящего изобретения. На основе дальнейшего описания в настоящем документе специалист сможет получить другие соединения и/или полипептиды по изобретению, которые основаны на гуманизованных и/или содержащих оптимизированную последовательность аминокислотных последовательностях по изобретению.

Как там указано, специалисту также понятно, что нанотела (или ISV) по изобретению (включая их аналоги) можно конструировать и/или получать, начиная от последовательностей V_H человека (т.е. аминокислотных последовательностей или соответствующих нуклеотидных последовательностей), такие как, например, от последовательности V_{H3} человека, такие как DP-47, DP-51 или DP-29, т.е. внося одну или несколько камелизирующих замен (т.е. изменяя один или несколько аминокислотных остатков в аминокислотной последовательности указанного домена V_H человека на аминокислотные остатки, которые находятся в соответствующем положении домена V_{HH}) так, чтобы получить последовательность нанотела (или ISV) по изобретению и/или так, чтобы придать полезные свойства нанотела (или ISV) полученной таким образом последовательности. Кроме того, как правило, это можно проводить посредством различных способов и технологий, указываемых в предыдущем разделе, с использованием в качестве стартовой точки аминокислотной последовательности и/или нуклеотидной последовательности домена V_H человека.

Некоторые предпочтительные, но неограничивающие камелизирующие замены можно получить из табл. с В-4 по В-7. Также понятно, что камелизирующие замены по одному или нескольким характерным

остаткам, как правило, имеют больше влияние на желаемые свойства, чем замены по одному или нескольким другим положениям аминокислот, хотя и те, и другие и любое их подходящее сочетание включены в объем изобретения. Например, можно вносить одну или несколько камелизирующих замен, которые уже придают по меньшей мере некоторые желаемые свойства, а затем вносить дополнительные камелизирующие замены, которые дополнительно улучшают указанные свойства и/или придают дополнительные полезные свойства. Кроме того, специалист на основе описания в настоящем документе и необязательно после ограниченного объема общепринятого экспериментирования, которое может включать, например, введение ограниченного количества возможных камелизирующих замен и определение получения или улучшения полезных свойств нанотел (или ISV) (т.е. по сравнению с исходным доменом V_H), в основном может определить и выбрать подходящие камелизирующие замены или подходящие комбинации камелизирующих замен.

Однако, как правило, такие камелизирующие замены предпочтительно являются такими, что полученная аминокислотная последовательность, по меньшей мере, содержит (a) Q в положении 108; и/или (b) заряженную аминокислоту или остаток цистеина в положении 45 и предпочтительно также E в положении 4 и более предпочтительно E в положении 44 и R в положении 45; и/или (c) P, R или S в положении 103; и необязательно одну или несколько дополнительных камелизирующих замен. Более предпочтительно камелизирующие замены являются такими, что они позволяют получать нанотело (или ISV) по изобретению и/или его аналог (как определено в настоящем документе), такой как гуманизированный аналог и/или предпочтительно аналог, который является таким, как определено в предыдущих разделах.

Нанотела (или ISV) также можно получать из доменов V_H посредством введения замен, которые являются редкими в природе, но тем не менее структурно совместимы с укладкой домена V_H . Например, но без ограничения, эти замены могут включать одну или несколько из следующих: Gly в положении 35, Ser, Val или Thr в положении 37, Ser, Thr, Arg, Lys, His, Asp или Glu в положении 39, Glu или His в положении 45, Trp, Leu, Val, Ala, Thr или Glu в положении 47, S или R в положении 50 (Barthelemy et al. J. Biol. Chem. 2008 Feb 8; 283 (6):3639-54. Epub 2007 Nov 28).

Также как понятно из описания в настоящем документе, в объеме изобретения также находится использование частей или фрагментов или комбинаций двух или более частей или фрагментов нанотел (или ISV) по изобретению, как определено в настоящем документе, и, в частности, частей или фрагментов нанотел (или ISV) с SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1). Таким образом, по одному из аспектов изобретения термин "нанотело (или ISV) по изобретению" в своем самом широком смысле также включает такие части или фрагменты.

Как правило, такие части или фрагменты нанотел (или ISV) по изобретению (включая их аналоги) содержат аминокислотные последовательности, в которых по сравнению с аминокислотной последовательностью соответствующего полноразмерного нанотела (или ISV) по изобретению (или его аналога) один или несколько аминокислотных остатков на N-конце, один или несколько аминокислотных остатков на C-конце, один или несколько соседних внутренних аминокислотных остатков или любое их сочетание deletированы и/или удалены.

Части или фрагменты предпочтительно являются такими, что они могут связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительного или кажущегося), значения K_A (действительного или кажущегося), константы скорости прямой реакции k_{on} и/или константы скорости обратной реакции k_{off} или, альтернативно, в виде значения IC_{50} , как далее описано в настоящем документе), как определено в настоящем документе для нанотел (или ISV) по изобретению.

Любые часть или фрагмент предпочтительно являются такими, что они содержат по меньшей мере 10 соседних аминокислотных остатков, предпочтительно по меньшей мере 20 соседних аминокислотных остатков, более предпочтительно по меньшей мере 30 соседних аминокислотных остатков, например по меньшей мере 40 соседних аминокислотных остатков аминокислотной последовательности соответствующего полноразмерного нанотела (или ISV) по изобретению.

Также любые часть или фрагмент предпочтительно являются такими, что они содержат по меньшей мере одну из CDR1, CDR2 и/или CDR3 или по меньшей мере их части (и, в частности, по меньшей мере, CDR3 или по меньшей мере ее часть). Более предпочтительно любые часть или фрагмент являются такими, что они содержат по меньшей мере одну из CDR (и предпочтительно, по меньшей мере, CDR3 или ее часть) и по меньшей мере одну другую CDR (т.е. CDR1 или CDR2) или по меньшей мере ее часть, предпочтительно связанные подходящей каркасной последовательностью(ями) или по меньшей мере ее частью. Более предпочтительно любые часть или фрагмент являются такими, что они содержат по меньшей мере одну из CDR (и предпочтительно, по меньшей мере, CDR3 или ее часть) и по меньшей мере часть двух оставшихся CDR, также предпочтительно связанных подходящей каркасной последовательностью(ями) или по меньшей мере ее частью.

По другому особенно предпочтительному, но неограничивающему аспекту такие часть или фрагмент содержат, по меньшей мере, CDR3, например FR3, CDR3 и FR4 соответствующего полноразмерного нанотела (или ISV) по изобретению, т.е., например, как описано в международной заявке WO 03/050531 (Lasters et al.).

Как уже указано выше, также можно комбинировать две или более таких частей или фрагментов (т.е. из одинаковых или различных нанотел (или ISV) по изобретению), т.е. для получения аналога (как определено в настоящем документе) и/или получения дополнительных частей или фрагментов (как определено в настоящем документе) нанотел (или ISV) по изобретению. Также можно комбинировать одну или несколько частей или фрагментов нанотел (или ISV) по изобретению с одной или несколькими частями или фрагментами домена V_H человека.

По одному из предпочтительных аспектов идентичность последовательностей частей или фрагментов с одним из нанотел (или ISV) SEQ ID NO: 623-693 (см. табл. A-1) составляет по меньшей мере 50%, предпочтительно по меньшей мере 60%, более предпочтительно по меньшей мере 70%, даже более предпочтительно по меньшей мере 80%, например по меньшей мере 90, 95 или 99% или более.

Части и фрагменты и кодирующие их последовательности нуклеиновой кислоты можно получать и необязательно комбинировать любым известным способом. Например, такие части или фрагменты можно получать, вставляя стоп-кодон в нуклеиновую кислоту, кодирующую полноразмерное нанотело (или ISV) по изобретению, а затем известным способом экспрессируя полученную таким образом нуклеиновую кислоту (например, как описано в настоящем документе). Альтернативно, нуклеиновые кислоты, кодирующие такие части или фрагменты, можно получать, подходящим образом расщепляя нуклеиновую кислоту, кодирующую полноразмерное нанотело (или ISV) по изобретению, или известным способом синтезируя такую нуклеиновую кислоту. Части или фрагменты также можно получать известными способами пептидного синтеза.

Изобретение в своем самом широком смысле также включает производные нанотела (или ISV) по изобретению. Такие производные, как правило, можно получать посредством модификации и, в частности, посредством химической и/или биологической (например, ферментативной) модификации нанотел (или ISV) по изобретению и/или одного или нескольких аминокислотных остатков, которые формируют нанотело (или ISV) по изобретению.

Примеры таких модификаций, а также примеры аминокислотных остатков в последовательности нанотела (или ISV), которые можно модифицировать таким образом (т.е. на белковом каркасе, но предпочтительно на боковой цепи), способы и технологии, которые можно использовать для внесения таких модификаций, и потенциальные применения и преимущества таких модификаций понятны специалисту.

Например, такая модификация может включать введение (например, посредством ковалентного связывания или другим подходящим способом) одного или нескольких из функциональных групп, остатков или молекул в или на нанотело (или ISV) по изобретению, и, в частности, одного или нескольких из функциональных групп, остатков или молекул, которые придают нанотелу (или ISV) по изобретению одно или несколько желаемых свойств или видов функциональности. Примеры таких функциональных групп очевидны специалисту.

Например, такая модификация может включать введение (например, посредством ковалентного связывания или любым другим подходящим способом) одной или нескольких функциональных групп, которые увеличивают время полужизни, растворимость и/или всасывание нанотела (или ISV) по изобретению, которые снижают иммуногенность и/или токсичность нанотела (или ISV) по изобретению, которые устраняют или уменьшают любые нежелательные побочные эффекты нанотела (или ISV) по изобретению и/или которые придают другие полезные свойства и/или снижают нежелательные свойства нанотел (или ISV) и/или полипептидов по изобретению; или любую комбинацию двух или более из указанного выше. Примеры таких функциональных групп и способов их введения понятны специалисту и в основном могут включать все функциональные группы и способы, указанные на общем предшествующем уровне техники, приводимом в настоящем документе выше, а также функциональные группы и способы, известные для модификации фармацевтических белков и, в частности, для модификации антител или фрагментов антител (включая ScFv и однодоменные антитела), для которых приведена ссылка, например, на Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1980). Например, такие функциональные группы могут быть связаны с нанотелом (или ISV) по изобретению непосредственно (например, ковалентно) или необязательно посредством подходящего линкера или спейсера, что также понятно специалисту.

Один из наиболее используемых способов увеличения времени полужизни и/или снижения иммуногенности фармацевтических белков включает присоединение подходящего фармакологически приемлемого полимера, такого как поли(этиленгликоль) (PEG) или его производные (такие как метоксиполи(этиленгликоль) или mPEG). Как правило, можно использовать любую подходящую форму пегилирования, например пегилирование, используемое в данной области для антител и фрагментов антител (включая в качестве неограничивающих примеров (одно)доменные антитела и ScFv); ссылка приведена, например, на Chapman, Nat. Biotechnol., 54, 531-545 (2002); Veronese and Harris, Adv. Drug Deliv. Rev. 54, 453-456 (2003), Harris and Chess, Nat. Rev. Drug Discov., 2, (2003) и на WO 04/060965. Различные реагенты для пегилирования белков также коммерчески доступны, например, в Nektar Therapeutics, USA.

Предпочтительно используют сайт-специфическое пегилирование, в частности, посредством остатка цистеина (например, см. Yang et al., Protein Engineering, 16, 10, 761-770 (2003)). Например, с этой целью PEG можно связывать с остатком цистеина, который в природе находится в нанотеле (или ISV) по изобретению.

бретению, нанотело (или ISV) по изобретению можно модифицировать так, чтобы подходящим образом ввести один или несколько остатков цистеина для присоединения PEG, или с N- и/или С-концом нанотела (или ISV) по изобретению можно сливать аминокислотную последовательность, содержащую один или несколько остатков цистеина для присоединения PEG, где все используемые способы белковой инженерии известны специалисту.

Предпочтительно для нанотел (или ISV) и белков по изобретению используют PEG с молекулярной массой более 5000, например более 10000 и менее 200000, например менее 100000; например в диапазоне 20000-80000.

Другая, как правило, менее предпочтительная модификация включает N-связанное или О-связанное гликозилирование, как правило, в качестве части котрансляционной и/или посттрансляционной модификации в зависимости от используемой для экспрессии нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению клетки-хозяина.

Другая модификация может включать введение одной или нескольких детектируемых меток или других генерирующих сигнал групп или молекул в зависимости от предполагаемого применения меченого нанотела (или ISV). Подходящие метки и способы их связывания, использования и детекции очевидны специалисту и, например, в качестве неограничивающих примеров включают флуоресцентные метки, фосфоресцентные метки, хемилюминесцентные метки, биоломинесцентные метки, радиоактивные изотопы, металлы, металлохелаты, металлические катионы, хромофоры и ферменты, такие как указаны на стр. 109 WO 08/020079. Специалисту известны другие подходящие метки, и они включают, например, молекулы, которые можно детектировать с использованием ЯМР или ЭПР-спектроскопии.

Такие меченые нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно использовать, например, в анализах *in vitro*, *in vivo* или *in situ* (включая известные иммунологические анализы, такие как ELISA, RIA, EIA и др. "анализы по типу сэндвича" и т.д.), а также с целями диагностики или визуализации *in vivo* в зависимости от выбора конкретной метки.

Как понятно специалисту, другая модификация может включать введение хелатирующей молекулы, например, для хелатирования одного из металлов или катионов металлов, указанных выше. Подходящие хелатирующие молекулы в качестве неограничивающих примеров включают, например, диэтиленetriаминпентауксусную кислоту (ДТРА) или этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА).

Другая модификация может включать введение функциональной группы, которая представляет собой одну из частей пары специфического связывания, такой как связывающаяся пара биотин-(стрепт)авидин. Такую функциональную группу можно использовать для связывания нанотела (или ISV) по изобретению с другим белком, полипептидом или химическим соединением, которые связаны с другой половиной связывающейся пары, т.е. посредством образования связывающейся пары. Например, нанотело (или ISV) по изобретению можно конъюгировать с биотином и связывать с другим белком, полипептидом, соединением или носителем, конъюгированными с авидином или стрептавидином. Например, такое конъюгированное нанотело (или ISV) можно использовать в качестве репортера, например, в диагностической системе, где детектируемое продуцирующее сигнал средство конъюгировано с авидином или стрептавидином. Такие связывающиеся пары можно также использовать, например, для связывания нанотела (или ISV) по изобретению с носителем, включая носители, подходящие для фармацевтических целей. Одним из неограничивающих примеров являются липосомные составы, описанные Cao and Suresh, *Journal Drugs Targeting*, 8, 4, 257 (2000). Такие связывающиеся пары также можно использовать для связывания с нанотелом (или ISV) по изобретению терапевтически активного средства.

Для некоторых приложений, в частности, для тех приложений, которые предназначены для уничтожения клеток, экспрессирующих мишень, против которой направлены нанотела (или ISV) по изобретению (например, для лечения злокачественной опухоли), или для снижения или замедления роста и/или пролиферации таких клеток, нанотела (или ISV) по изобретению можно также связывать с токсином или токсическим остатком или молекулой. Примеры токсических молекул, соединений или остатков, которые можно связывать с нанотелом (или ISV) по изобретению для получения, например, цитотоксического соединения известны специалисту, и их можно найти, например, на известном уровне техники, приводимом выше и/или в дальнейшем описании в настоящем документе. Одним примером является так называемая технология ADEPT™, описанная в WO 03/055527.

Специалисту известны другие возможные химические и ферментативные модификации. Такие модификации можно проводить в исследовательских целях (например, для изучения зависимостей функции-активности). Ссылка приведена, например, на Lundblad and Bradshaw, *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 26, 143-151 (1997).

Предпочтительно производные являются такими, что они связываются с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью (соответственно измеряемой и/или выражаемой в виде значения K_D (действительного или кажущегося), значения K_A (действительного или кажущегося), константы скорости прямой реакции k_{on} и/или константы скорости обратной реакции k_{off} или, альтернативно, в виде значения IC_{50} , как далее описано в настоящем документе). как определено в настоящем документе для нанотел (или ISV) по изобретению.

Как указано выше, изобретение также относится к белкам или полипептидам, которые, по сущест-

ву, содержат или состоят по меньшей мере из одного нанотела (или ISV) по изобретению. Под "по существу, состоят из" подразумевают, что аминокислотная последовательность полипептида по изобретению или является точно такой же, как аминокислотная последовательность нанотела (или ISV) по изобретению, или соответствует аминокислотной последовательности нанотела (или ISV) по изобретению, которая содержит ограниченное количество добавленных на N-конце, С-конце или на N-конце и на С-конце аминокислотной последовательности нанотела (или ISV) аминокислотных остатков, такое как 1-20 аминокислотных остатков, например 1-10 аминокислотных остатков, а предпочтительно 1-6 аминокислотных остатков, например 1, 2, 3, 4, 5 или 6 аминокислотных остатков.

Указанные аминокислотные остатки могут изменять или могут не модифицировать, изменять или иным образом влиять на (биологические) свойства нанотел (или ISV) и могут или не могут добавлять нанотелу (или ISV) другую функциональность. Например, такие аминокислотные остатки

могут содержать N-концевой остаток Met, например, как результат экспрессии в гетерологичной клетке-хозяине или организме-хозяине;

могут формировать сигнальную последовательность или лидерную последовательность, которая при синтезе направляет секрецию нанотел (или ISV) из клетки-хозяина. Подходящие секреторные лидерные пептиды известны специалисту и могут быть такими, как далее описано в настоящем документе. Как правило, такая лидерная последовательность связана с N-концом нанотела (или ISV), хотя изобретение в своем самом широком смысле не ограничено этим;

могут формировать последовательность или сигнал, который позволяет направлять нанотело (или ISV) и/или позволяет нанотелу (или ISV) проникать или входить в конкретные органы, ткани, клетки или части или компартменты клеток и/или который позволяет нанотелу (или ISV) проникать или пересекать биологические барьеры, такие как клеточная мембрана, клеточный слой, такой как слой эпителиальных клеток, опухоль, включая солидные опухоли или гематоэнцефалический барьер. Примеры таких аминокислотных последовательностей известны специалисту и включают аминокислотные последовательности, указанные в разделе с) на стр. 112 WO 08/020079;

могут формировать "метку", например аминокислотную последовательность или остаток, которые обеспечивают или облегчают очистку нанотел (или ISV), например, с использованием аффинных способов, направленных на указанные последовательность или остаток. Затем указанную последовательность или остаток можно удалять (например, посредством химического или ферментативного расщепления) с получением последовательности нанотела (или ISV) (для этой цели метку необязательно можно связывать с последовательностью нанотела (или ISV) посредством расщепляемой линкерной последовательности, или она может содержать расщепляемый мотив). Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры таких остатков представляют собой несколько гистидиновых остатков, глутатионовые остатки и метку тус (например, см. SEQ ID NO: 31 WO 06/12282);

могут представлять собой один или несколько аминокислотных остатков, которые были функционализированы и/или которые могут служить в качестве участков присоединения функциональных групп. Подходящие аминокислотные остатки и функциональные группы известны специалисту и в качестве неограничивающих примеров включают аминокислотные остатки и функциональные группы, указываемые в настоящем документе для производных нанотел (или ISV) по изобретению.

По одному из вариантов осуществления полипептид по изобретению содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из любой из SEQ ID NO: 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837 и SEQ ID NO: 838), где аминокислотная последовательность может содержать до 6 одноаминокислотных замен, делеций и/или вставок и где полипептид предпочтительно специфически связывается с IL-17A и/или с IL-17F.

По другому варианту осуществления полипептид по изобретению содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из любой из SEQ ID NO: 623-693 и 826-838 (т.е. выбранной из SEQ ID NO: 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837 и SEQ ID NO: 838), где аминокислотная последовательность может содержать до 6 одноаминокислотных замен, делеций и/или вставок и где полипептид предпочтительно связывается с IL-17A и/или с IL-17F с K_d менее 5 нМ и наиболее предпочтительно с K_d менее 50 пМ.

По одному из вариантов осуществления полипептид по изобретению содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из любой из SEQ ID NO: 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837 и SEQ ID NO: 838), где аминокислотная последователь-

ность может содержать до 3 одноаминокислотных замен, делеций и/или вставок и где полипептид предпочтительно специфически связывается с IL-17A и/или с IL-17F.

По одному из вариантов осуществления полипептид по изобретению содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 836, где аминокислотная последовательность может содержать до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или до 10 одноаминокислотных замен, делеций и/или вставок и где полипептид предпочтительно специфически связывается с IL-17A и/или с IL-17F с K_d менее 5 нМ и наиболее предпочтительно с K_d менее 50 пМ.

По дополнительному варианту осуществления полипептид по изобретению содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из любой из SEQ ID NO: 623-693 и 826-838 (т.е. выбранной из SEQ ID NO: 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837 и SEQ ID NO: 838), где аминокислотная последовательность может содержать до 6 одноаминокислотных замен, делеций и/или вставок и где полипептид предпочтительно специфически связывается с SEQ ID NO: 839 и/или с SEQ ID NO: 840, предпочтительно с K_d менее 5 нМ и наиболее предпочтительно с K_d менее 50 пМ.

По дополнительному варианту осуществления полипептид по изобретению содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из любой из SEQ ID NO: 623-693 и 826-838 (т.е. выбранной из SEQ ID NO: 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837 и SEQ ID NO: 838), где аминокислотная последовательность может содержать до 3 одноаминокислотных замен, делеций и/или вставок и где полипептид предпочтительно специфически связывается с SEQ ID NO: 839 и/или с SEQ ID NO: 840, предпочтительно с K_d менее 5 нМ и наиболее предпочтительно с K_d менее 50 пМ.

Также предоставлен полипептид по изобретению, где полипептид содержит

(i) первую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 640-649 (т.е. выбранную из любой из SEQ ID NO: 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648 и 649), которая специфически связывается с IL-17F (SEQ ID NO: 840) и с гетеродимером IL-17A (SEQ ID NO: 839) и IL-17F (SEQ ID NO: 840), но не связывается специфически с IL-17A (SEQ ID NO: 839); и/или

(ii) вторую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 650-693 (т.е. выбранную из любой из SEQ ID NO: 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693), которая специфически связывается с IL-17A (SEQ ID NO: 839), с IL-17F (SEQ ID NO: 840) и с гетеродимером IL-17A (SEQ ID NO: 839) и IL-17F (SEQ ID NO: 840);

где первая и вторая аминокислотные последовательности в общей сложности могут содержать до 6 одноаминокислотных замен, делеций и/или вставок; и

где указанное специфическое связывание в каждом случае происходит с K_d менее 5 нМ.

По другому аспекту полипептид по изобретению содержит нанотело (или ISV) по изобретению, которое специфически связывается, по меньшей мере, с аминокислотами L74, Y85 и N88 IL-17A (SEQ ID NO: 839). Показано, что эти связывающиеся эпитопы имеют терапевтическое значение.

По другому аспекту полипептид по изобретению содержит нанотело (или ISV) по изобретению, которое специфически связывается, по меньшей мере, с аминокислотами R47, R73, I86 и N89 IL-17F (SEQ ID NO: 840). Показано, что эти связывающиеся эпитопы имеют терапевтическое значение.

Конечно, все указанные выше полипептиды также можно использовать, и они эффективны для лечения заболеваний, как описано в настоящем документе.

По другому аспекту полипептид по изобретению содержит нанотело (или ISV) по изобретению, которое на его N-конце, на его C-конце или на его N-конце и на его C-конце слито по меньшей мере с одной дополнительной аминокислотной последовательностью, т.е. так, чтобы получить слитый белок, содержащий указанное нанотело (или ISV) по изобретению и одну или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей. Такое слияние в настоящем документе также обозначают как "слияние с нанотелом (или ISV)".

Одна или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей могут представлять собой любые подходящие и/или желаемые аминокислотные последовательности.

Дополнительные аминокислотные последовательности могут или не могут модифицировать, изменять или иным образом влиять на (биологические) свойства нанотела (или ISV) и могут или не могут добавлять нанотелу (или ISV) или полипептиду по изобретению дополнительную функциональность. Предпочтительно дополнительная аминокислотная последовательность является такой, что она придает нанотелу (или ISV) или полипептиду по изобретению одно или несколько желаемых свойств или видов функциональности.

Например, дополнительная аминокислотная последовательность также может обеспечивать второй участок связывания, где этот участок связывания может быть направлен против любого желаемого белка, полипептида, антигена, антигенной детерминанты или эпитопа (в качестве неограничивающих примеров, включая те же белок, полипептид, антиген, антигенную детерминанту или эпитоп, против которых направлено нанотело (или ISV) по изобретению, или другие белок, полипептид, антиген, антигенную детерминанту или эпитоп).

Примеры таких аминокислотных последовательностей известны специалисту и в основном могут включать все аминокислотные последовательности, которые используют при слияниях пептидов на основе общепринятых антител и их фрагментов (включая в качестве неограничивающих примеров ScFv и однодоменные антитела). Ссылка приведена, например, на обзор Holliger and Hudson, *Nature Biotechnology*, 23, 9, 1126-1136 (2005).

Например, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность, которая увеличивает время полужизни, растворимость или всасывание, снижает иммуногенность или токсичность, устраняет или ослабляет нежелательные побочные эффекты и/или придает другие полезные свойства и/или снижает нежелательные свойства полипептидов по изобретению по сравнению с самим нанотелом (или ISV) по изобретению. Некоторые неограничивающие примеры таких аминокислотных последовательностей представляют собой сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека (например, см. WO 00/27435) или молекулы гаптен (например, гаптены, которые распознают циркулирующие антитела, например, см. WO 98/22141).

В частности, в данной области описано, что для увеличения времени полужизни можно использовать связывающиеся с сывороточным альбумином или с его фрагментами фрагменты иммуноглобулинов (такие как домены V_H). Приведена ссылка на WO 00/27435 и WO 01/077137). В соответствии с изобретением нанотело (или ISV) по изобретению предпочтительно связывают с сывороточным альбумином (или с его подходящим фрагментом) или непосредственно, или посредством подходящего линкера и, в частности, посредством подходящего пептида, связанного так, что полипептид по изобретению можно экспрессировать в виде генетического слияния (белка). По конкретному аспекту нанотело (или ISV) по изобретению можно связывать с фрагментом сывороточного альбумина, который содержит, по меньшей мере, домен III сывороточного альбумина или его часть. Ссылка приведена, например, на WO 07/112940 Ablynx N.V.

Альтернативно, дополнительная аминокислотная последовательность может обеспечивать второй участок связывания или связывающую единицу, которые направлены к сывороточному белку (например, такому как сывороточный альбумин человека или другой сывороточный белок, такой как IgG) так, чтобы обеспечить увеличенное время полужизни в сыворотке. Например, такие аминокислотные последовательности включают нанотела (или ISV), описанные ниже, а также малые пептиды и связывающие белки, описанные в WO 91/01743, WO 01/45746 и WO 02/076489, и dAb, описанные в WO 03/002609 и WO 04/003019. Также приведена ссылка на Harmsen et al., *Vaccine*, 23 (41); 4926-42, 2005, а также на EP 0368684, WO 08/028977, WO 08/043821, WO 08/043822 Ablynx N.V. и предварительную заявку США Ablynx N.V., озаглавленную "Peptides capable of binding to serum proteins", зарегистрированную 5 декабря 2006 г. (также см. PCT/EP 2007/063348).

В частности, такие аминокислотные последовательности могут быть направлены к сывороточному альбумину (и более конкретно к сывороточному альбумину человека) и/или к IgG (и более конкретно IgG человека). Например, такие аминокислотные последовательности могут представлять собой аминокислотные последовательности, направленные к сывороточному альбумину (человека), и аминокислотные последовательности, которые могут связываться с аминокислотными остатками в сывороточном альбумине (человека), которые не вовлечены в связывание сывороточного альбумина с FcRn (например, см. WO 06/0122787), и/или аминокислотные последовательности, которые способны к связыванию с аминокислотными остатками в сывороточном альбумине, которые не формируют часть домена III сывороточного альбумина (также см., например, WO 06/0122787); аминокислотные последовательности, которые обладают или могут обеспечивать увеличенное время полужизни (например, см. WO 08/028977 Ablynx N.V.); аминокислотные последовательности к сывороточному альбумину человека, которые перекрестно реагируют с сывороточным альбумином по меньшей мере одного вида млекопитающих и, в частности, по меньшей мере с одним видом приматов (таких как, без ограничения, обезьяны рода *Macaca* (такие как, в частности, яванские макаки (*Macaca fascicularis*) и/или макак-резус (*Macaca mulatta*)) и бабуин (*Papio ursinus*), ссылка снова приведена на WO 08/028977; аминокислотные последовательности, которые могут связываться с сывороточным альбумином независимым от pH образом (например, см. WO 08/043821 Ablynx N.V., озаглавленную "Amino acid sequences that bind to serum proteins in a manner that is essentially independent of the pH, compounds comprising the same, and uses thereof"), и/или аминокислотные последовательности, которые представляют собой условные связывающие средства (например, см. WO 08/043822 Ablynx N.V., озаглавленную "Amino acid sequences that bind to a desired molecule in a conditional manner").

По другому аспекту одна или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей могут содержать одну или несколько частей, фрагментов или доменов общепринятых 4-цепочечных ан-

тител (и, в частности, антител человека) и/или антител из тяжелых цепей. Например, хотя, как правило, менее предпочтительно нанотело (или ISV) по изобретению может быть связано с общепринятыми доменами V_H или V_L (предпочтительно человека) или с природным или синтетическим аналогом доменов V_H или V_L , также необязательно посредством линкерной последовательности (включая в качестве неограничивающих примеров другие (одно)доменные антитела, такие как dAb, описанные Ward et al.).

По меньшей мере одно нанотело (или ISV) также может быть связано с одним или несколькими доменами C_{H1} , C_{H2} и/или C_{H3} (предпочтительно человека), необязательно посредством линкерной последовательности. Например, нанотело (или ISV), связанное с подходящим доменом C_{H1} , можно использовать, например, вместе с подходящими легкими цепями для получения фрагментов/структур антител, аналогичным общепринятым фрагментам Fab или фрагментам $F(ab')_2$, но в которых один или (в случае фрагмента $F(ab')_2$) один или оба общепринятых домена V_H заменены нанотелом (или ISV) по изобретению. Также с доменом C_{H3} можно связывать (необязательно посредством линкера) два нанотела (или ISV) с получением конструкции с увеличенным временем полужизни *in vivo*.

По конкретному аспекту полипептида по изобретению одно или несколько нанотел (или ISV) по изобретению можно связывать (необязательно посредством подходящего линкера или шарнирной области) с одним или несколькими константными доменами (например, 2 или 3 константными доменами, которые можно использовать в качестве части/для формирования части Fc). с частью Fc и/или с одной или несколькими частями, фрагментами или доменами антител, которые придают полипептиду по изобретению одну или несколько эффекторных функций и/или могут придавать способность связываться с одним или несколькими рецепторами Fc. Например, для этой цели, и не ограничиваясь этим, одна или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей могут содержать один или несколько доменов C_{H2} и/или C_{H3} антитела, например из антитела из тяжелых цепей (как описано в настоящем документе), а более предпочтительно из общепринятого 4-цепочечного антитела человека; и/или могут формировать Fc-область (часть), например, из IgG (например, из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), из IgE или другого Ig человека, такого как IgA, IgD или IgM. Например, в WO 94/04678 описаны антитела из тяжелых цепей, содержащие домен V_{HH} верблюдовых или его гуманизированное производное (т.е. нанотело (или ISV)), в котором домены C_{H2} и/или C_{H3} верблюдовых замещены доменами C_{H2} и C_{H3} человека с получением иммуноглобулина, который состоит из 2 тяжелых цепей, где каждая содержит нанотело (или ISV) и домены C_{H2} и C_{H3} человека (но не домен C_{H1}), где этот иммуноглобулин обладает эффекторной функцией, обеспечиваемой доменами C_{H2} и C_{H3} , и где этот иммуноглобулин может функционировать без присутствия каких-либо легких цепей. Специалисту известны другие аминокислотные последовательности, которые можно подходящим образом связывать с нанотелами (или ISV) по изобретению так, чтобы обеспечить эффекторную функцию, и их можно выбирать на основании желаемой эффекторной функции(й). Ссылка приведена, например, на WO 04/058820, WO 99/42077, WO 02/056910 и WO 05/017148, а также обзор Holliger and Hudson, выше; и на предварительно не опубликованную предварительную заявку США Ablynx N.V., озаглавленную "Constructs comprising single variable domains and an Fc portion derived from IgE" с датой подачи 4 декабря 2007 г. Связывание нанотел (или ISV) по изобретению с частью Fc также может приводить к увеличенному времени полужизни по сравнению с соответствующим нанотелом (или ISV) по изобретению. Также для некоторых приложений подходящим или даже предпочтительным может быть использование части Fc и/или константных доменов (т.е. доменов C_{H2} и/или C_{H3}), которые обеспечивают увеличенное время полужизни без какой-либо биологически значимой эффекторной функции. Другие подходящие конструкции, содержащие одно или несколько нанотел (или ISV) и один или несколько константных доменов с увеличенным временем полужизни *in vivo* известны специалисту и могут содержать, например, два нанотела (или ISV), связанные доменом C_{H3} , необязательно посредством линкерной последовательности. Как правило, молекулярная масса любого слитого белка или производных с увеличенным временем полужизни предпочтительно составляет более 50 кДа, значение границы пропускания для абсорбции в почках.

В другом конкретном, но неограничивающем аспекте для получения полипептида по изобретению одну или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению можно связывать (необязательно посредством подходящего линкера или шарнирной области) с природными, синтетическими или полусинтетическими константными доменами (или их аналогами, вариантами, мутантами, частями или фрагментами), которые имеют сниженную (или, по существу, отсутствующую) тенденцию к самоассоциации в димеры (т.е. по сравнению с константными доменами, которые в природе присутствуют в обычных 4-цепочечных антителах). Такие мономерные (т.е. не самоассоциированные) варианты цепей Fc или их фрагменты, известны специалисту. Например, в Helm et al., J. Biol. Chem. 1996 271 7494, описаны мономерные варианты цепей Fc, которые можно использовать в полипептидных цепях по изобретению.

Также такие мономерные варианты цепей Fc предпочтительно являются такими, что они все еще способны к связыванию с комплементом или с соответствующим рецептором(ами) Fc (в зависимости от части Fc, из которых их получают), и/или такими, что они все еще обладают некоторыми или всеми эффекторными функциями части Fc, из которых они получены (или сниженным уровнем, все еще подходящим для планируемого применения). Альтернативно, в такой полипептидной цепи по изобретению мономерную Fc-цепь можно использовать для обеспечения увеличенного времени полужизни полипеп-

тидной цепи, в случае чего мономерная Fc-цепь также может не обладать или, по существу, не обладать эффекторными функциями.

Также двухвалентные/поливалентные, биспецифические/полиспецифические или бипаратопные/мультипаратопные полипептиды по изобретению могут связываться с частями Fc для получения полипептидных конструкций такого типа, как описан в предварительно не опубликованной предварительной заявке США 61/005331, озаглавленной "Immunoglobulin constructs", зарегистрированной 4 декабря 2007 г.

Дополнительные аминокислотные последовательности также могут формировать сигнальную последовательность или лидерную последовательность, направляющую секрецию нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению при синтезе из клетки-хозяина (например, с получением пре-, про- или препроформы полипептида по изобретению в зависимости от используемой для экспрессии полипептида по изобретению клетки-хозяина).

Дополнительная аминокислотная последовательность также может формировать последовательность или сигнал, которые позволяют направлять нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению и/или позволяют нанотелу (или ISV) или полипептиду проникать или водить в конкретные органы, ткани, клетки или части или компартменты клеток, и/или которые позволяют нанотелу (или ISV) или полипептиду по изобретению преодолевать или пересекать биологический барьер, такой как клеточная мембрана, клеточный слой, такой как слой эпителиальных клеток, опухоль, включая солидные опухоли или гематоэнцефалический барьер. Подходящие примеры таких аминокислотных последовательностей известны специалисту и, например, в качестве неограничивающих примеров включают аминокислотные последовательности, указанные на стр. 118 WO 08/020079. Для некоторых приложений, в частности для тех приложений, которые предназначены для уничтожения клеток, экспрессирующих мишень, против которой направлены нанотела (или ISV) по изобретению (например, для лечения злокачественной опухоли), или для снижения или замедления роста и/или пролиферации таких клеток, нанотела (или ISV) по изобретению можно также связывать с (cito)токсическим белком или полипептидом. Примеры таких токсических белков и полипептидов, которые можно связывать с нанотелом (или ISV) по изобретению для получения, например, цитотоксического полипептида по изобретению известны специалисту, и их можно найти, например, на известном уровне техники, приводимом выше и/или в дальнейшем описании в настоящем документе. Один из примеров представляет собой так называемую технологию ADEPT™, описанную в WO 03/055527.

По одному из предпочтительных, но неограничивающих аспектов указанные одна или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей содержат по меньшей мере одно дополнительное нанотело (или ISV) так, чтобы получить полипептид по изобретению, который содержит по меньшей мере два, такие как три, четыре, пять или более нанотел (или ISV). где эти указанные нанотела (или ISV) необязательно можно связывать посредством одной или нескольких линкерных последовательностей (как определено в настоящем документе). Как описано на стр. 119 и 120 WO 08/020079, полипептиды по изобретению, которые содержат два или более нанотел (или ISV). из которых по меньшей мере одно представляет собой нанотело (или ISV) по изобретению, также обозначают в настоящем документе как "поливалентные" полипептиды по изобретению, а нанотела (или ISV), находящиеся в таких полипептидах, также обозначают в настоящем документе как находящиеся в "поливалентном формате". Например, "двухвалентные" и "трехвалентные" полипептиды по изобретению могут быть такими, как дополнительно описано на стр. 119 и 120 WO 08/020079.

Полипептиды по изобретению, содержащие по меньшей мере два нанотела (или ISV), в которых по меньшей мере одно нанотело (или ISV) направлено против первого антигена (т.е. против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания) и по меньшей мере одно нанотело (или ISV) направлено против второго антигена (т.е. отличного от любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания), также обозначают как "полиспецифические" полипептиды по изобретению, а нанотела (или ISV), находящиеся в таких полипептидах, также обозначают в настоящем документе, как находящиеся в "полиспецифическом формате". Таким образом, например, "биспецифический" полипептид по изобретению представляет собой полипептид, который содержит по меньшей мере одно нанотело (или ISV), направленное против первого антигена (т.е. любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания) и по меньшей мере одно дополнительное нанотело (или ISV), направленное против второго антигена (т.е. отличного от любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания), тогда как "триспецифический" полипептид по изобретению представляет собой полипептид, который содержит по меньшей мере одно нанотело (или ISV), направленное против первого антигена (т.е. любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания), по меньшей мере одно дополнительное нанотело (или ISV), направленное против второго антигена (т.е. отличного от любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания) и по меньшей мере одно дополнительное нанотело (или ISV), направленное против третьего антигена (т.е. отличного от любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и второго антигена) и т.д.

Таким образом, в своей простейшей форме биспецифический полипептид по изобретению представляет собой двухвалентный полипептид по изобретению (как определено в настоящем документе),

содержащий первое нанотело (или ISV), направленное против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и второе нанотело (или ISV), направленное против второго антигена, в котором указанные первое и второе нанотела (или ISV) могут быть необязательно связаны посредством линкерной последовательности (как определено в настоящем документе); тогда как триспецифический полипептид по изобретению в своей простейшей форме представляет собой трехвалентный полипептид по изобретению (как определено в настоящем документе), содержащий первое нанотело (или ISV), направленное против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, второе нанотело (или ISV), направленное против второго антигена, и третье нанотело (или ISV), направленное против третьего антигена, в котором указанные первое, второе и третье нанотело (или ISV) могут быть необязательно связаны посредством одной или нескольких, и, в частности, одной и нескольких, в частности двух, линкерных последовательностей.

Однако как понятно из приведенного выше в настоящем документе описания, изобретение не ограничено ими в том смысле, что полиспецифический полипептид по изобретению может содержать по меньшей мере одно нанотело (или ISV) против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и любое количество нанотел (или ISV), направленных против одного или нескольких антигенов, отличных от любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Кроме того, хотя в объем изобретения включено, что конкретный порядок или расположение различных нанотел (или ISV) в полипептидах по изобретению может оказывать определенное влияние на свойства конечного полипептида по изобретению (включая в качестве неограничивающих примеров аффинность, специфичность или авидность к любому из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или в отношении одного или нескольких других антигенов), указанный порядок или расположение, как правило, не являются критичными, и их подходящим образом может выбирать специалист, необязательно, после определенных ограниченных обычных экспериментов на основе описания в настоящем документе. Таким образом, когда указан конкретный поливалентный или полиспецифический полипептид по изобретению, следует отметить, что это включает любой порядок или расположение соответствующих нанотел (или ISV), если явно не указано иначе.

В заключении, также в объеме изобретения находится то, что полипептиды по изобретению содержат два или более нанотел (или ISV) и одну или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей (как указано в настоящем документе).

Для поливалентных и полиспецифических полипептидов, содержащих один или несколько доменов V_{HH} и их получения, также приведены ссылки на Conrath et al., J. Biol. Chem., Vol. 276, 10. 7346-7350, 2001; Muyldermans, Reviews in Molecular Biotechnology 74 (2001), 277-302; а также, например, на WO 96/34103 и WO 99/23221. Некоторые другие примеры некоторых конкретных полиспецифических и/или поливалентных полипептидов по изобретению можно найти в приложениях к Ablynx N.V., указанных в настоящем документе.

Один из предпочтительных, но неограничивающих примеров полиспецифического полипептида по изобретению содержит по меньшей мере одно нанотело (или ISV) по изобретению и по меньшей мере одно нанотело (или ISV), обеспечивающее увеличенное время полужизни. Такие нанотела (или ISV) могут представлять собой, например, нанотела (или ISV), направленные к сывороточному белку, и, в частности, сывороточному белку человека, такому как сывороточный альбумин человека, тироксинсвязывающий белок, трансферрин (человека), фибриноген, иммуноглобулин, такой как IgG, IgE или IgM, или к одному из сывороточных белков, перечисленных в WO 04/003019. Из них особенно предпочтительными являются нанотела (или ISV), которые связываются с сывороточным альбумином (и, в частности, с сывороточным альбумином человека) или с IgG (и, в частности, с IgG человека, например, см. нанотело (или ISV) VH-1, описанное в обзоре Muyldermans, выше) (хотя, например, для экспериментов на мышах или приматах можно использовать нанотела (или ISV) к сывороточному альбумину мыши (MSA) или к сывороточному альбумину указанного примата или перекрестно реагирующие с ними, соответственно, однако для фармацевтического применения, как правило, предпочтительны нанотела (или ISV) к сывороточному альбумину человека или IgG человека). Нанотела (или ISV), которые обеспечивают увеличенное время полужизни и которые можно использовать в полипептидах по изобретению, включают нанотела (или ISV), направленные к сывороточному альбумину, которые описаны в WO 04/041865, в WO 06/122787 и в дополнительных патентных заявках Ablynx N.V., таких как заявки, указанные выше.

Например, некоторые предпочтительные нанотела (или ISV), которые обеспечивают увеличенное время полужизни, для применения в настоящем изобретении включают нанотела (или ISV), которые могут связываться с аминокислотными остатками в сывороточном альбумине (человека), которые не вовлечены в связывание сывороточного альбумина с FcRn (например, см. WO 06/0122787); нанотела (или ISV), которые способны к связыванию с аминокислотными остатками в сывороточном альбумине, которые не формируют часть домена III сывороточного альбумина (например, см. WO 06/0122787); нанотела (или ISV), которые обладают или могут обеспечивать увеличенное время полужизни (например, см. WO 08/028977 Ablynx N.V., указываемую в настоящем документе); нанотела (или ISV) к сывороточному альбумину человека, которые перекрестно реагируют с сывороточным альбумином по меньшей мере одного вида млекопитающих и, в частности, по меньшей мере с одним из видов приматов (таким как, без

ограничения, обезьяны рода *Macaca* (такие как, в частности, яванский макак (*Macaca fascicularis*) и/или макак-резус (*Macaca mulatta*)) и бабуин (*Papio ursinus*)) (например, см. WO 08/028977 Ablynx N.V.); нанотела (или ISV), которые могут связываться с сывороточным альбумином независимым от pH образом (например, см. WO 2008/043821 Ablynx N.V., указываемую в настоящем документе), и/или нанотела (или ISV), которые представляют собой условные связывающие средства (например, см. WO 08/043822 Ablynx N.V.).

Некоторые особенно предпочтительные нанотела (или ISV), которые обеспечивают увеличенное время полужизни и которые можно использовать в полипептидах по изобретению, включают нанотела (или ISV) от ALB-1 до ALB-10, описанные в WO 06/122787 (см. табл. II и III), из которых особенно предпочтительным является ALB-8 (SEQ ID NO: 62 в WO 06/122787).

По конкретному, но неограничивающему аспекту изобретения полипептиды по изобретению кроме одного или нескольких нанотел (или ISV) по изобретению содержат по меньшей мере одно нанотело (или ISV) к сывороточному альбумину человека.

Как правило, любой полипептид по изобретению с увеличенным временем полужизни, который содержит одно или несколько нанотел (или ISV) по изобретению и любые производные нанотел (или ISV) по изобретению или таких полипептидов, которые обладают увеличенным временем полужизни, предпочтительно имеет время полужизни, которое по меньшей мере в 1,5 раза, предпочтительно по меньшей мере в 2 раза, например по меньшей мере в 5 раз, например по меньшей мере в 10 раз или более чем в 20 раз больше, чем время полужизни самого соответствующего нанотела (или ISV) по изобретению. Например, такие производные или полипептиды с увеличенным временем полужизни могут иметь время полужизни, которое по сравнению с соответствующим нанотелом (или ISV) по изобретению увеличено более чем на 1 ч, предпочтительно более чем на 2 ч, более предпочтительно более чем на 6 ч, например более чем на 12 ч или даже более чем на 24, 48 или 72 ч.

В предпочтительном, но неограничивающем аспекте изобретения такие производные или полипептиды могут демонстрировать время полужизни в сыворотке у человека по меньшей мере приблизительно 12 ч, предпочтительно по меньшей мере 24 ч, более предпочтительно по меньшей мере 48 ч, даже более предпочтительно по меньшей мере 72 ч или более. Например, такие производные или полипептиды могут обладать временем полужизни по меньшей мере 5 суток (например, приблизительно от 5 до 10 суток), предпочтительно по меньшей мере 9 суток (например, приблизительно от 9 до 14 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10 суток (например, приблизительно от 10 до 15 суток) или по меньшей мере приблизительно 11 суток (например, приблизительно от 11 до 16 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 12 суток (например, приблизительно от 12 до 18 суток) или более 14 суток (например, приблизительно от 14 до 19 суток).

По одному из аспектов изобретения полипептиды способны к связыванию с одной или несколькими молекулами, которые могут увеличивать время полужизни полипептида *in vivo*. Полипептиды по изобретению стабилизированы *in vivo* и их время полужизни увеличено связыванием с молекулами, которые противостоят разрушению и/или выведению или секвестрации. Как правило, такие молекулы представляют собой природные белки, которые сами обладают длительным временем полужизни *in vivo*. Другой предпочтительный, но неограничивающий пример полиспецифического полипептида по изобретению содержит по меньшей мере одно нанотело (или ISV) по изобретению и по меньшей мере одно нанотело (или ISV), которое направляет полипептид по изобретению и/или которое обеспечивает проникновение или вхождение полипептида по изобретению в конкретные органы, ткани, клетки или части или компартменты клеток и/или которое обеспечивает прохождение или пересечение нанотелом (или ISV) биологического барьера, такого как клеточная мембрана, клеточный слой, такой как слой эпителиальных клеток, опухоль, включая солидные опухоли или гематоэнцефалический барьер. Примеры таких нанотел (или ISV) включают нанотела (или ISV), которые направлены к конкретным белкам, маркерам или эпитопам на клеточной поверхности желаемых органа, ткани или клетки (например, маркеры на клеточной поверхности, связанные с опухолевыми клетками), и однодоменные фрагменты антител, направленные к головному мозгу, описанные в WO 02/057445 и WO 06/040153, из которых предпочтительными примерами являются FC44 (SEQ ID NO: 189 WO 06/040153) и FC5 (SEQ ID NO: 190 WO 06/040154). В полипептидах по изобретению одно или несколько нанотел (или ISV) и один или несколько полипептидов могут быть связаны друг с другом напрямую (например, как описано в WO 99/23221) и/или могут быть связаны друг с другом посредством одного или нескольких подходящих спейсеров или линкеров или любого их сочетания.

Подходящие спейсеры или линкеры для применения в поливалентных и полиспецифических полипептидах понятны специалисту и в основном могут представлять собой любой линкер или спейсер, используемые в данной области для связывания аминокислотных последовательностей. Предпочтительно указанный линкер или спейсер подходит для использования в конструировании белков или полипептидов, которые предназначены для фармацевтического применения. Некоторые особенно предпочтительные спейсеры включают спейсеры и линкеры, которые используют в данной области для связывания фрагментов антител или доменов антител. Они включают линкеры, указанные на основном предшествующем уровне техники, приводимом выше, а также, например, линкеры, которые используют в данной

области для конструирования диател или фрагментов scFv (однако в этом отношении следует отметить, что, тогда как в диателах и во фрагментах scFv используемая линкерная последовательность должна иметь длину, степень гибкости и другие свойства, позволяющие соответствующим доменам V_H и V_L объединяться с формированием полного антигенсвязывающего участка, конкретных ограничений на длину и гибкость линкера, используемого в полипептиде по изобретению нет, так как каждое нанотело (или ISV) самостоятельно формирует полный антигенсвязывающий участок). Например, линкер может представлять собой подходящую аминокислотную последовательность и, в частности, аминокислотные последовательности из аминокислотных остатков в количестве от 1 до 50, предпочтительно 1-30, например 1-10. Некоторые предпочтительные примеры таких аминокислотных последовательностей включают линкеры gly-ser, например, типа (gly_xser_y)_z, такие как (например, (gly₄ser)₃ или (gly₃ser₂)₃, как описано в WO 99/42077 и линкеры GS30, GS15, GS9 и GS7, описанные в приложениях к Ablynx, указываемой в настоящем документе (например, см. WO 06/040153 и WO 06/122825), а также шарнироподобные области, такие как шарнирные области природных антител из тяжелых цепей или сходные последовательности (такие как описано в WO 94/04678). Некоторые другие особенно предпочтительные линкеры представляют собой полиаланин (например, AAA), а также линкеры GS30 (SEQ ID NO: 85 в WO 06/122825) и GS9 (SEQ ID NO: 84 в WO 06/122825). Другие подходящие линкеры, как правило, включают органические соединения или полимеры, в частности, органические соединения или полимеры, подходящие для использования в белках для фармацевтического применения. Например, для связывания доменов антител использовали молекулы поли(этиленгликоля), например, см. WO 04/081026. В объем изобретения входит, что длина, степень гибкости и/или другие свойства используемого линкера(ов) (хотя не критично, как это, как правило, характерно для линкеров, используемых во фрагментах scFv) могут иметь некоторое влияние на свойства конечного полипептида по изобретению, включая в качестве неограничивающих примеров аффинность, специфичность или avidность к любому из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, или к одному или нескольким другим антигенам. На основе описания в настоящем документе специалист может определить оптимальный линкер(ы) для применения в конкретном полипептиде по изобретению, необязательно, после некоторых ограниченных обычных экспериментов. Например, в поливалентных полипептидах по изобретению, которые содержат нанотела (или ISV), направленные против мультимерного антигена (такого как мультимерный рецептор или другой белок), длина и гибкость линкера предпочтительно являются такими, что они позволяют каждому нанотелу (или ISV) по изобретению, находящемуся в полипептиде, связываться с антигенной детерминантой на каждой из субъединиц мультимера. Подобным образом, в полиспецифическом полипептиде по изобретению, который содержит нанотела (или ISV), направленные против двух или более различных антигенных детерминант на одном и том же антигене (например, против различных эпитопов антигена и/или против различных субъединиц мультимерного рецептора, канала или белка), длина и гибкость линкера предпочтительно являются такими, что они позволяют каждому нанотелу (или ISV) связываться с его собственной антигенной детерминантой. Кроме того, на основе описания в настоящем документе специалист может определить оптимальный линкер(ы) для применения в конкретном полипептиде по изобретению, необязательно, после некоторых ограниченных обычных экспериментов. Также в объеме изобретения находится то, что используемый линкер(ы) придают одно или несколько других полезных свойств или видов функциональности полипептидам по изобретению и/или обеспечивают один или несколько участков для получения производных и/или для присоединения функциональных групп (например, как описано в настоящем документе для производных нанотел (или ISV) по изобретению). Например, линкеры, содержащие один или несколько заряженных аминокислотных остатков (см. табл. А-2 на стр. 48 международной заявки WO 08/020079), могут обеспечивать улучшенные гидрофильные свойства, тогда как линкеры, формирующие или содержащие небольшие эпитопы или метки, можно использовать с целью детекции, идентификации и/или очистки. Кроме того, на основе описания в настоящем документе специалист может определить оптимальные линкеры для применения в конкретном полипептиде по изобретению, необязательно, после некоторых ограниченных обычных экспериментов. В заключение, когда в полипептидах по изобретению используют два или более линкеров, эти линкеры могут быть одинаковыми или различными. Кроме того, на основе описания в настоящем документе специалист может определить оптимальные линкеры для применения в конкретном полипептиде по изобретению, необязательно, после некоторых ограниченных обычных экспериментов. Как правило, для простоты экспрессии или продукции полипептид по изобретению представляет собой линейный полипептид. Однако изобретение в своем самом широком смысле не ограничено ими. Например, когда полипептид по изобретению содержит три или более нанотел (или ISV) возможно связывать их с использованием линкера с тремя или более "плечами", где каждое "плечо" связывают с нанотелом (или ISV) так, чтобы получить "звездообразную" конструкцию. Также возможно, хотя, как правило, менее предпочтительно, использовать кольцевые конструкции. Изобретение также включает производные полипептидов по изобретению, которые, по существу, могут быть аналогичными производным нанотел (или ISV) по изобретению, т.е. как описано в настоящем документе. Изобретение также включает белки или полипептиды которые "по существу, состоят" из полипептида по изобретению (в котором выражение "по существу, состоят из" по существу имеет то же значение, как указано выше в настоящем документе).

По одному из аспектов изобретения полипептид по изобретению находится, по существу, в выделенной форме, как определено в настоящем документе. Аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV), полипептиды и нуклеиновые кислоты по изобретению можно получать известным способом, как станет понятно специалисту из дальнейшего описания в настоящем документе. Например, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно получать любым известным способом получения антител и, в частности, получения фрагментов антител (включая в качестве неограничивающих примеров (одно)доменные антитела и фрагменты scFv). Некоторые предпочтительные, но неограничивающие способы получения аминокислотных последовательностей, нанотел (или ISV), полипептидов и нуклеиновых кислот включают способы и технологии, описываемые в настоящем документе.

Как понятно специалисту, один из особенно подходящих способов получения аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) и/или полипептида по изобретению в основном включает следующие стадии:

i) экспрессия в подходящих клетке-хозяине или организме-хозяине (также обозначаемых в настоящем документе как "хозяин по изобретению") или в другой подходящей системе экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей указанные аминокислотную последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению (также обозначаемой в настоящем документе как "нуклеиновая кислота по изобретению"), необязательно с последующими

ii) выделением и/или очисткой полученных таким образом аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению,

в частности, такой способ может включать стадии:

i) культивирование и/или поддержание хозяина по изобретению в условиях, которые являются такими, что указанный хозяин по изобретению экспрессирует и/или продуцирует по меньшей мере одно из аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) и/или полипептида по изобретению; необязательно с последующими

ii) выделением и/или очисткой полученных таким образом аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению.

Нуклеиновая кислота по изобретению может находиться в форме одно- или двухцепочечной ДНК или РНК и предпочтительно находится в форме двухцепочечной ДНК. Например, нуклеотидные последовательности по изобретению могут представлять собой геномную ДНК, кДНК или синтетическую ДНК (такую как ДНК с использованием кодонов, которое соответствующим образом адаптировано для экспрессии в планируемых клетке-хозяине или организме-хозяине). По одному из аспектов изобретения нуклеиновая кислота по изобретению находится, по существу, в выделенной форме, как определено в настоящем документе. Также нуклеиновая кислота по изобретению может находиться в форме вектора, может находиться в векторе и/или являться частью вектора, например, такого как плаزمид, космид или YAC, которые также могут находиться, по существу, в выделенной форме. Нуклеиновые кислоты по изобретению можно получать известным способом на основе информации об аминокислотных последовательностях полипептидов по изобретению, приводимой в настоящем документе, и/или их можно выделять из подходящего природного источника. Для получения аналогов нуклеотидные последовательности, кодирующие природные домены V_{HH} , можно подвергать, например, сайт-специфическому мутагенезу так, чтобы получить нуклеиновую кислоту по изобретению, кодирующую указанный аналог. Также, как понятно специалисту, для получения нуклеиновой кислоты по изобретению, также можно подходящим образом соединять несколько нуклеотидных последовательностей, например по меньшей мере одну нуклеотидную последовательность, кодирующую нанотело (или ISV), и, например, нуклеиновые кислоты, кодирующие один или несколько линкеров. Способы получения нуклеиновых кислот по изобретению известны специалисту и в качестве неограничивающих примеров могут включать, например, автоматизированный синтез ДНК; сайт-специфический мутагенез; комбинацию двух или более природных и/или синтетических последовательностей (или двух или более их частей), внесение мутаций, которые приводят к экспрессии укороченного продукта экспрессии; внесение одного или нескольких участков рестрикции (например, с получением кассет и/или областей, которые можно легко расщеплять и/или лигировать с использованием подходящих рестрикционных ферментов), и/или внесение мутаций посредством реакции ПЦР с использованием одного или нескольких "несоответствующих" праймеров, например с использованием в качестве матрицы последовательности природной формы любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Эти и другие способы известны специалисту, и ссылка приведена на стандартные руководства, такие как Sambrook et al. и Ausubel et al., указанные ниже, а также на примеры ниже. Также, как понятно специалисту в данной области и как описано на стр. 131-134 WO 08/020079 (включенной в настоящий документ в качестве ссылки), нуклеиновая кислота по изобретению может находиться в форме генетической конструкции, находиться в генетической конструкции и/или являться ее частью. Такие генетические конструкции, как правило, содержат по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту по изобретению, которая необязательно связана с одним или несколькими известными элементами генетических конструкций, например, с такими как один или несколько подходящих регуляторных элементов (таких как подходящий промотор(ы), энхансер(ы), терминатор(ы) и т.д.) и дополнительные элементы генетических конструкций, указываемые в настоящем документе. Такие генетические конст-

рукции, содержащие по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту по изобретению, также в настоящем документе обозначают как "генетические конструкции по изобретению". Генетические конструкции по изобретению могут представлять собой ДНК или РНК и предпочтительно представляют собой двухцепочечную ДНК. Также генетические конструкции по изобретению могут находиться в форме, подходящей для трансформации желательных клеток-хозяев или организмов-хозяев, в форме, подходящей для интеграции в геномную ДНК желательных клеток-хозяев, или в форме, подходящей для независимой репликации, поддержания и/или наследования в желательном организме-хозяине. Например, генетические конструкции по изобретению могут находиться в форме вектора, например, такого как плазмида, космида, YAC, вирусный вектор или транспозон. В частности, вектор может представлять собой вектор экспрессии, т.е. вектор, который может обеспечивать экспрессию *in vitro* и/или *in vivo* (например, в подходящих клетке-хозяине, организме-хозяине и/или системе экспрессии).

В предпочтительном, но неограничивающем аспекте генетическая конструкция по изобретению содержит

- i) по меньшей мере одну нуклеиновую кислоту по изобретению, функционально связанную с
- ii) одним или несколькими регуляторными элементами, такими как промотор и, необязательно, подходящий терминатор;
- и также необязательно
- iii) с одним или несколькими дополнительными известными элементами генетических конструкций;

где термины "функционально соединенный" и "функционально связанный" имеют значение, приведенное на стр. 131-134 WO 08/020079; и где "регуляторные элементы", "промотор", "терминатор" и "дополнительные элементы" являются такими, как описано на стр. 131-134 WO 08/020079; и где генетические конструкции, кроме того, могут быть такими, как описано на стр. 131-134 WO 08/020079.

Нуклеиновые кислоты по изобретению и/или генетические конструкции по изобретению можно использовать для трансформации клетки-хозяина или организма-хозяина, т.е. для экспрессии и/или продукции аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению. Подходящие хозяева или клетки-хозяева известны специалисту и могут представлять собой, например, любые подходящие грибковые, прокариотические или эукариотические клетки или линии клеток или любые подходящие грибковые, прокариотические или эукариотические организмы, например, такие, как описано на стр. 134 и 135 WO 08/020079; а также все другие известные хозяева или клетки-хозяева для экспрессии и продукции антител и фрагментов антител (включая в качестве неограничивающих примеров (одно)доменные антитела и фрагменты scFv), которые известны специалисту. Также приведена ссылка на общий предшествующий уровень техники, приводимый выше в настоящем документе, а также, например, на WO 94/29457; WO 96/34103; WO 99/42077; Frenken et al., (1998), выше; Riechmann and Muyldermans, (1999), выше; van der Linden, (2000), выше; Thomassen et al., (2002), выше; Joosten et al., (2003), выше; Joosten et al., (2005), выше и на дополнительные ссылки, приводимые в настоящем документе.

Аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению также можно вводить и экспрессировать в одной или нескольких клетках, тканях или органах многоклеточного организма, например, с профилактическими и/или терапевтическими целями (например, в качестве генной терапии), как дополнительно описано на стр. 135 и 136 WO 08/020079 и в дополнительных ссылках, приводимых в WO 08/020079.

Для экспрессии нанотел (или ISV) в клетках, их также можно экспрессировать в виде так называемых "интрател", например, как описано в WO 94/02610, WO 95/22618 и US-A-7004940; WO 03/014960; в Cattaneo, A. & Biocca, S. (1997) Intracellular Antibodies: Development and Applications. Landes and Springer-Verlag; и в Kontermann, Methods 34, (2004), 163-170.

Также аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно получать, например, в молоке трансгенных млекопитающих, например в молоке кроликов, коров, коз или овец (например, для получения основных руководств для введения трансгенов млекопитающим см. US-A-6741957, US-A-6304489 и US-A-6849992), в растениях или частях растений, включая в качестве неограничивающих примеров их листья, цветы, плоды, семена, корни или клубни (например, в табаке, кукурузе, сое или люцерне) или, например, в куколках тутового шелкопряда *Bombix mori*.

Кроме того, аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению также можно экспрессировать и/или продуцировать в бесклеточных системах экспрессии, и подходящие примеры таких систем известны специалисту. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие примеры включают экспрессию в системе зародыша пшеницы; в лизатах ретикулоцитов кролика или в системе *E. coli* Zubay.

Как указано выше, одним из преимуществ использования нанотел (или ISV) является то, что полипептиды на их основе можно получать посредством экспрессии в подходящей бактериальной системе, и подходящие бактериальные экспрессирующие системы, векторы, клетки-хозяева, регуляторные элементы и т.д. будут понятны специалисту, например, из приводимых выше ссылок. Однако следует отметить, что изобретение в своем самом широком смысле не ограничено экспрессией в бактериальных системах.

Предпочтительно в изобретении используют системы экспрессии (*in vivo* или *in vitro*), такие как бактериальная система экспрессии, которые позволяют получать полипептиды по изобретению в форме, которая подходит для фармацевтического применения, и такие системы экспрессии также известны специалисту. Также, как понятно специалисту, полипептиды по изобретению, подходящие для фармацевтического применения, можно получать способами пептидного синтеза.

Для получения в промышленном масштабе предпочтительные гетерологичные хозяева для (промышленного) производства нанотел (или ISV) или содержащих белки нанотел (или ISV) терапевтических средств включают штаммы *E. coli*, *Pichia pastoris*, *S. cerevisiae*, которые подходят для крупномасштабной экспрессии/продукции/ферментации и, в частности, для крупномасштабной фармацевтической (т.е. степени GMP) экспрессии/продукции/ферментации. Подходящие примеры таких штаммов известны специалисту. Такие штаммы и системы продукции/экспрессии также доступны в таких компаниях, как Biovitrum (Uppsala, Sweden).

Альтернативно, для крупномасштабной экспрессии/продукции/ферментации и, в частности, для крупномасштабной фармацевтической экспрессии/продукции/ферментации можно использовать линии клеток млекопитающих, в частности клетки яичника китайского хомяка (CHO). Кроме того, такие системы экспрессии/продукции также доступны в некоторых указанных выше компаниях. Выбор конкретной системы экспрессии частично зависит от оборудования для определенной посттрансляционной модификации, более конкретно гликозилирования. Продукция содержащего нанотело (или ISV) рекомбинантного белка, для которого желательно или необходимо гликозилирование, делает необходимым использование экспрессирующих хозяев-млекопитающих, у которых существует способность гликозилировать экспрессируемый белок. В этом отношении специалисту понятно, что получаемый профиль гликозилирования (т.е. характер, количество и положение присоединяемых остатков) зависит от клетки или линии клеток, которые используют для экспрессии. Предпочтительно используют клетку или линию клеток человека (т.е. получая в результате белок, по существу, с профилем гликозилирования человека) или линию клеток других млекопитающих, которая может обеспечить профиль гликозилирования, который по существу и/или функционально является таким же, как гликозилирование у человека, или по меньшей мере имитирует гликозилирование у человека. Как правило, прокариотические хозяева, такие как *E. coli* не обладают способностью гликозилировать белки и использование низших эукариот, таких как дрожжи, как правило, приводит к профилю гликозилирования, который отличается от гликозилирования человека. Однако следует понимать, что в изобретении можно использовать все указанные выше клетки-хозяева и системы экспрессии в зависимости от желательных для получения аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида. Таким образом, по одному из неограничивающих аспектов изобретения аминокислотная последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению являются гликозилированными. По другому неограничивающему аспекту изобретения аминокислотная последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению являются негликозилированными. По одному из предпочтительных, но неограничивающих аспектов изобретения аминокислотную последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению получают в бактериальных клетках, в частности в бактериальных клетках, подходящих для крупномасштабного фармацевтического получения, таких как клетки указанных выше штаммов. По другому предпочтительному, но неограничивающему аспекту изобретения аминокислотную последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению получают в дрожжевых клетках, в частности в дрожжевых клетках, подходящих для крупномасштабного фармацевтического получения, таких как клетки указанных выше видов. По другому предпочтительному, но неограничивающему аспекту изобретения аминокислотную последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению получают в клетках млекопитающих, в частности в клетках человека или в клетках линии клеток человека и более конкретно в клетках человека или в клетках линии клеток человека, которые подходят для крупномасштабного фармацевтического получения, таких как линии клеток, указанные в настоящем документе выше. Как дополнительно описано на стр. 138 и 139 WO 08/020079, когда для получения аминокислотных последовательностей, нанотел (или ISV) и полипептидов по изобретению используют экспрессию в клетках-хозяевах, аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно получать внутриклеточно (например, в цитозоле, в периплазме или в тельцах включения), а затем выделять из клеток-хозяев и, необязательно, дополнительно очищать; или можно получать внеклеточно (например, в среде, в которой культивируют клетки-хозяева), а затем выделять из среды для культивирования и, необязательно, дополнительно очищать. Таким образом, по одному из неограничивающих аспектов изобретения аминокислотная последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению представляют собой аминокислотную последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид, которые получают внутриклеточно и которые выделяют из клеток-хозяев и, в частности, из бактериальных клеток или из телец включения в бактериальных клетках. По другому неограничивающему аспекту изобретения аминокислотная последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению представляют собой аминокислотную последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид, которые получают внеклеточно и которые выделяют из среды, в которой культивируют клетки-хозяева. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие промоторы для использования в этих клетках-хозяевах включают промо-

торы, указываемые на стр. 139 и 140 WO 08/020079. Некоторые предпочтительные, но неограничивающие секреторные последовательности для использования в этих клетках-хозяевах включают секреторные последовательности, указанные на стр. 140 WO 08/020079. Подходящие способы трансформации хозяина или клетки-хозяина по изобретению известны специалисту и могут зависеть от планируемых клетки-хозяина/организма-хозяина и используемой генетической конструкции. Также приведена ссылка на руководства и патентные заявки, указанные выше. После трансформации можно проводить стадию детекции и отбора клеток-хозяев или организмов-хозяев, которые успешно трансформированы нуклеотидной последовательностью/генетической конструкцией по изобретению. Она может представлять собой, например, стадию отбора на основе селективного маркера, присутствующего в генетической конструкции по изобретению, или стадию, включающую детекцию аминокислотной последовательности по изобретению, например, с использованием специфических антител. Трансформированные клетки-хозяева (которые могут находиться в форме или могут представлять собой линию клеток) или организмы-хозяева (которые могут находиться в форме стабильной мутантной линии или штамма) составляют дополнительные аспекты настоящего изобретения. Предпочтительно эти клетки-хозяева или организмы-хозяева являются такими, что они экспрессируют или (по меньшей мере) способны к экспрессии (например, в подходящих условиях) аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению (а в случае организма-хозяина: по меньшей мере одна его клетка, часть, ткань или орган). Изобретение также включает дальнейшие поколения и/или потомство клетки-хозяина или организма-хозяина по изобретению, которые можно получать, например, посредством деления клеток или посредством полового или бесполого воспроизведения. Для осуществления/получения экспрессии аминокислотных последовательностей по изобретению трансформированные клетки-хозяева или трансформированные организмы-хозяева, как правило, можно содержать, поддерживать и/или культивировать в таких условиях, в которых экспрессируются/продуцируются (желаемые) аминокислотная последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению. Подходящие условия известны специалисту и, как правило, зависят от используемых клетки-хозяина/организма-хозяина, а также от регуляторных элементов, контролирующих экспрессию (соответствующей) нуклеотидной последовательности по изобретению. Кроме того, приведена ссылка на руководства и патентные заявки, указанные выше в разделах о генетических конструкциях по изобретению. Как правило, подходящие условия могут включать использование подходящей среды, наличие подходящего источника питания и/или подходящих питательных веществ, использования подходящей температуры и, необязательно, наличие подходящих индуцирующих факторов или соединений (например, когда нуклеотидные последовательности по изобретению находятся под контролем индуцибельного промотора); которые все может выбирать специалист. Кроме того, в таких условиях аминокислотные последовательности по изобретению можно экспрессировать конститутивно, транзитивно или только при соответствующей индукции.

Специалисту также понятно, что аминокислотную последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению можно (сначала) получать в незрелой форме (как указано выше), которую затем можно подвергать посттрансляционной модификации в зависимости от используемых клетки-хозяина/организма-хозяина. Также аминокислотная последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению могут быть гликозилированными, также в зависимости от используемых клетки-хозяина/организма-хозяина. Затем аминокислотную последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению можно выделять из клетки-хозяина/организма-хозяина и/или из среды, в которой культивируют указанные клетка-хозяин или организм-хозяин с использованием известных способов выделения и/или очистки белка, таких как способы (препаративной) хроматографии и/или электрофореза, способы дифференциального осаждения, аффинные способы (например, с использованием специфических, отщепляемых аминокислотных последовательностей, слитых с аминокислотной последовательностью, нанотелом (или ISV) или полипептидом по изобретению) и/или препаративные иммунологические способы (т.е. с использованием антител к выделяемой аминокислотной последовательности). Как правило, для фармацевтического применения полипептиды по изобретению можно формулировать в качестве фармацевтического препарата или композиции, содержащих по меньшей мере один полипептид по изобретению и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или эксципиент и/или вспомогательное средство и, необязательно, один или несколько дополнительных фармацевтически активных полипептидов и/или соединений. Посредством неограничивающих примеров, такой состав может находиться в форме, подходящей для перорального введения, для парентерального введения (такого как посредством внутривенной, внутримышечной или подкожной инъекции или внутривенной инфузии), для местного введения, для введения посредством ингаляции, посредством кожного пластыря, посредством имплантата, посредством суппозитория и т.д. Такие подходящие для введения формы, которые могут быть твердыми, полутвердыми или жидкими, в зависимости от способа введения, а также способы и носители для применения в их получении, известны специалисту и дополнительно описаны в настоящем документе. Таким образом, в дополнительном аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одну аминокислоту по изобретению, по меньшей мере одно нанотело (или ISV) по изобретению или по меньшей мере один полипептид по изобретению и по меньшей мере один подходящий носитель, разбавитель или эксципиент (т.е. подходящий для фармацев-

тического применения) и, необязательно, одно или несколько дополнительных активных веществ. Как правило, аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно формулировать и вводить любым известным подходящим способом, для которого приведена ссылка, например, на общий предшествующий уровень техники, приводимый выше (и, в частности, на WO 04/041862, WO 04/041863, WO 04/041865, WO 04/041867 и WO 08/020079), а также на стандартные руководства, такие как Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Mack Publishing Company, USA (1990), Remington, the Science and Practice of Pharmacy, 21th Edition, Lippincott Williams and Wilkins (2005); или the Handbook of Therapeutic Antibodies (S. Dubel, Ed.), Wiley, Weinheim, 2007 (например, см. стр. 252-255). Например, аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно формулировать и вводить любым известным для обычных антител и фрагментов антител (включая ScFv и диатела) и других фармацевтически активных белков способом. Такие составы и способы их получения известны специалисту и включают, например, препараты, подходящие для парентерального введения (например, внутривенного, интраперитонеального, подкожного, внутримышечного, интравенозного, интравенного или интратекального введения) или для местного (т.е. трансдермального или интродермального) введения. Препараты для парентерального введения могут представлять собой, например, стерильные растворы, суспензии, дисперсии или эмульсии, которые подходят для инфузии или инъекции. Например, подходящие для препаратов носители или разбавители в качестве неограничивающих примеров включают носители или разбавители, указанные на стр. 143 WO 08/020079. Как правило, предпочтительными являются водные растворы или суспензии. Аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению также можно вводить способами доставки для генной терапии. См., например, патент США № 5399346, который полностью включен в качестве ссылки. С использованием способа доставки для генной терапии первичные клетки, трансфицированные геном, кодирующим аминокислотную последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению, можно дополнительно трансфицировать тканеспецифическими промоторами для направления к конкретным органам, тканям, трансплантатам, опухолям или клеткам и можно дополнительно трансфицировать сигнальными и стабилизирующими последовательностями для внутриклеточной локализованной экспрессии. Таким образом, аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно вводить системно, например перорально, в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем, таким как инертный разбавитель или усваиваемый пищевой носитель. Их можно заключать в твердые или мягкие желатиновые капсулы, можно прессовать в таблетки или можно непосредственно добавлять в пищу пациента. Для перорального терапевтического введения аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно комбинировать с одним или несколькими эксципиентами и использовать в форме глотаемых таблеток, буккальных таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов, вафель и т.п. Такие композиции и препараты должны содержать по меньшей мере 0,1% аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению. Понятно, что их процентное содержание в композициях и препаратах может варьировать и соответственно может составлять приблизительно от 2 до приблизительно 60% от массы данной стандартной лекарственной формы. Количество аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению в таких терапевтически подходящих композициях является таким, чтобы получать эффективный уровень дозирования.

Таблетки, пастилки, пилюли, капсулы, и т.п. также могут содержать связывающие средства, эксципиенты, дезинтегрирующие средства, смазочные средства и подсластители или ароматизаторы, например, указанные на стр. 143-144 WO 08/020079. Когда стандартная лекарственная форма представляет собой капсулу, она в дополнение к веществам указанного выше типа может содержать жидкий носитель, такой как растительное масло или полиэтиленгликоль. В качестве покрытий или для другой модификации физической формы твердой стандартной лекарственной формы могут присутствовать различные другие вещества. Например, таблетки, пилюли или капсулы можно покрывать желатином, воском, шеллаком или сахаром и т.п. Сироп или эликсир могут содержать аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению, сахарозу или фруктозу в качестве подсластителя, метил- и пропилпарабены в качестве консервантов, краситель и ароматизатор, такие как вишневая или апельсиновая вкусоароматические добавки. Понятно, что любое вещество, используемое при получении любой стандартной лекарственной формы, должно быть фармацевтически приемлемым и, по существу, нетоксическим в применяемых количествах. Кроме того, аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно помещать в препараты и устройства с длительным высвобождением.

Препараты и составы для перорального введения также можно предоставлять с растворяющимся в кишечнике покрытием, которое позволяет конструкциям по изобретению противостоять среде желудка и проходить в кишечник. В более общем смысле, препараты и составы для перорального введения можно подходящим образом формулировать для доставки в любую желаемую часть желудочно-кишечного тракта. Кроме того, для доставки в желудочно-кишечный тракт можно использовать подходящие суппозитории.

Аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению также

можно вводить внутривенно или интраперитонеально посредством инфузии или инъекции, как дополнительно описано на стр. 144 и 145 WO 08/020079. Для местного введения аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно наносить в чистой форме, т.е. когда они являются жидкостями. Однако, как правило, их желательно наносить на кожу в виде композиций или составов, в комбинации с дерматологически приемлемым носителем, который может быть твердым или жидким, как дополнительно описано на стр. 145 WO 08/020079.

Как правило, концентрация аминокислотных последовательностей, нанотел (или ISV) и полипептидов по изобретению в жидкой композиции, такой как лосьон, составляет приблизительно 0,1-25 мас.%, предпочтительно приблизительно 0,5-10 мас.%. Концентрация в полутвердой или твердой композиции, такой как гель или порошок, составляет приблизительно 0,1-5 мас.%, предпочтительно приблизительно 0,5-2,5 мас.%. Количество аминокислотных последовательностей, нанотел (или ISV) и полипептидов по изобретению, необходимое для применения в лечении варьирует не только в зависимости от выбранных аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида, но также и от маршрута введения, характера состояния, подлежащего лечению, и возраста и состояния пациента и, в конечном счете, зависит от решения лечащего врача или клинициста. Также дозировки аминокислотных последовательностей, нанотел (или ISV) и полипептидов по изобретению варьируют в зависимости от клетки-мишени, опухоли, ткани, трансплантата или органа. Желаемую дозу можно подходящим образом предоставлять в однократной дозе или в виде дробных доз, вводимых с подходящими интервалами, например в виде двух, трех, четырех или более частей дозы в сутки. Саму часть дозы можно дополнительно разделять на ряд отдельных неточно разнесенных в пространстве введений, таких как несколько ингаляций из инсультатора или закапывание нескольких капель в глаз. Схема введения может включать длительное ежедневное лечение. Под "длительным" подразумевают длительность по меньшей мере две недели, а предпочтительно несколько недель, месяцев или лет. Необходимые модификации в этом диапазоне доз может определять специалист в данной области с использованием общепринятого экспериментирования, описанного в указаниях в настоящем документе. См. Remington's Pharmaceutical Sciences (Martin, E.W., ed. 4), Mack Publishing Co., Easton, PA. Дозу также может регулировать лечащий врач в случае любого осложнения.

В другом аспекте изобретение относится к способу профилактики и/или лечения по меньшей мере одного из иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму фармацевтически активного количества аминокислотной последовательности по изобретению, нанотела (или ISV) по изобретению, полипептида по изобретению и/или содержащих их фармацевтических композиций. В контексте настоящего изобретения термин "профилактика и/или лечение" не только включает профилактику и/или лечение заболевания, но также, как правило, включает предотвращение начала заболевания, замедление или обращение прогресса заболевания, предотвращение или замедление начала одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием, снижение и/или облегчение одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием, снижение тяжести и/или длительности заболевания и/или любых симптомов, связанных с этим, и/или предотвращение дальнейшего увеличения тяжести заболевания и/или любых симптомов, связанных с этим, предотвращение, снижение или обращение любого физиологического повреждения, вызываемого заболеванием, и, в широком смысле, любое фармакологическое действие, которое благоприятно для подвергаемого лечению пациента. Подлежащий лечению индивидуум может представлять собой любое теплокровное животное, но, в частности, представляет собой млекопитающее, а более конкретно человека. Как понятно специалисту, подлежащий лечению индивидуум, в частности, представляет собой индивидуума, страдающего заболеванием и нарушением, указываемым в настоящем документе, или подверженного риску этих заболевания или нарушения. Изобретение относится к способу профилактики и/или лечения по меньшей мере одного заболевания или нарушения, связанных с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с их биологической или фармакологической активностью и/или с биологическими путями или передачей сигнала в которых участвует любой из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму фармацевтически активного количества аминокислотной последовательности по изобретению, нанотела (или ISV) по изобретению, полипептида по изобретению и/или содержащих их фармацевтических композиций. В частности, изобретение относится к способу профилактики и/или лечения по меньшей мере одного заболевания или нарушения, которые можно лечить посредством модуляции любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, их биологической или фармакологической активности и/или биологических путей или передачи сигнала, в которых участвует любой из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму фармацевтически активного количества аминокислотной последовательности по изобретению, нанотела (или ISV) по изобретению, полипептида по изобретению и/или содержащих их фармацевтических композиций. В частности, указанное фармацевтически эффективное количество может представлять собой количество, которого достаточно для модуляции любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, их биологической или фармакологической активности и/или биологических путей или передачи сигнала, в которых участвует любой из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

ния; и/или количество, которое обеспечивает такой уровень аминокислотной последовательности по изобретению, нанотела (или ISV) по изобретению, полипептида по изобретению в кровотоке, которого достаточно для модуляции любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, их биологической или фармакологической активности и/или биологических путей или передачи сигнала, в которых участвует любой из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Кроме того, изобретение относится к способу профилактики и/или лечения по меньшей мере одного заболевания или нарушения, которые можно предотвратить и/или лечить введением пациенту аминокислотной последовательности по изобретению, нанотела (или ISV) по изобретению или полипептида по изобретению, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму фармацевтически активного количества аминокислотной последовательности по изобретению, нанотела (или ISV) по изобретению, полипептида по изобретению и/или содержащих их фармацевтических композиций. Более конкретно, изобретение относится к способу профилактики и/или лечения по меньшей мере одного заболевания или нарушения, выбранных из группы, состоящей из заболеваний и нарушений, перечисленных в настоящем документе, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму фармацевтически активного количества аминокислотной последовательности по изобретению, нанотела (или ISV) по изобретению, полипептида по изобретению и/или содержащих их фармацевтических композиций. Примеры иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе и, например, включают следующие заболевания и нарушения: системная красная волчанка, ревматоидный артрит, остеоартрит, юношеский хронический артрит, спондилоартропатии, системный склероз, идиопатические воспалительные миопатии, синдром Шегрена, системный васкулит, саркоидоз, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунная тромбоцитопения, тиреоидит, сахарный диабет, иммуноопосредованное заболевание почек, демиелинизирующие заболевания центральной и периферической нервной системы, такие как рассеянный склероз, идиопатическая демиелинизирующая полинейропатия или синдром Гийена-Барре и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезни желчи и желчных путей, такие как инфекционный аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительные заболевания кишечника, глютенчувствительная энтеропатия и болезнь Уиппла, аутоиммунные или иммуноопосредованные заболевания кожи, включающие буллезные заболевания кожи, полиморфную эритему и контактный дерматит, псориаз, аллергические заболевания, такие как астма, аллергический ринит, атопический дерматит, гиперчувствительность к пище и крапивница, иммунологические заболевания легких, такие как эозинофильная пневмония, идиопатический легочный фиброз и гиперчувствительный пневмонит, связанные с трансплантацией заболевания, включающие отторжение трансплантата и реакцию "трансплантат против хозяина".

В указанных выше способах аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и/или полипептиды по изобретению и/или содержащие их композиции можно вводить любым подходящим способом в зависимости от конкретных используемых фармацевтического состава или композиции. Таким образом, аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и/или полипептиды по изобретению и/или содержащие их композиции можно вводить, например, перорально, интраперитонеально (например, внутривенно, подкожно, внутримышечно или посредством любого другого маршрута введения, который преодолевает желудочно-кишечный тракт), интраназально, трансдермально, местно, посредством суппозитория, посредством ингаляции, также в зависимости от конкретных используемых фармацевтического состава или композиции. Клиницист может выбирать подходящий маршрут введения и подходящие фармацевтический состав или композицию для использования в таком введении в зависимости от заболевания или нарушения, нуждающихся в профилактике или лечении, и других факторов, хорошо известных клиницисту.

Аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и/или полипептиды по изобретению и/или содержащие их композиции вводят в соответствии со схемой лечения, который подходит для профилактики и/или лечения заболевания или нарушения, нуждающихся в профилактике или лечении. Клиницист в основном может определить подходящую схему лечения в зависимости от таких факторов, как заболевание или нарушение, нуждающиеся в профилактике или лечении, тяжесть заболевания, нуждающегося в лечении, и/или тяжесть его симптомов, конкретные используемые аминокислотная последовательность, нанотело (или ISV) или полипептид по изобретению, конкретный маршрут введения и используемые фармацевтические состав или композиция, возраст, пол, масса, режим питания, общее состояние пациента и подобные факторы, хорошо известные клиницисту.

Как правило, схема лечения включает введение одной или нескольких аминокислотных последовательностей, нанотел (или ISV) и/или полипептидов по изобретению или одной или нескольких содержащих их композиций в одном или нескольких фармацевтически эффективных количествах или дозах. Конкретное количество(а) или дозы для введения может определять клиницист, также на основе приведенных выше факторов.

Как правило, для профилактики и/или лечения заболеваний и нарушений, указываемых в настоящем документе, и в зависимости от конкретного заболевания или нарушения, нуждающихся в лечении, активности конкретных используемых аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) и поли-

пептида по изобретению, конкретного маршрута введения и конкретных используемых фармацевтического состава или композиции, аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению, как правило, вводят в количестве от 1 г до 0,01 мкг на 1 кг массы тела в сутки, предпочтительно от 0,1 г до 0,1 мкг на 1 кг массы тела в сутки, например приблизительно 1, 10, 100 или 1000 мкг на 1 кг массы тела в сутки, непрерывно (например, посредством инфузии), в качестве однократной суточной дозы или в виде нескольких дробных доз в течение суток. Клиницист в основном может определить подходящую суточную дозу в зависимости от факторов, указываемых в настоящем документе. Также понятно, что в конкретных случаях клиницист может выбирать отклониться от этих количеств, например, на основании факторов, приводимых выше, и его экспертной оценки. Как правило, некоторые руководства по количеству для введения можно получить из количеств, как правило, вводимых для сравнимых общепринятых антител или фрагментов антител против такой же мишени, вводимых, по существу, тем же маршрутом, однако учитывая различия в аффинности/авидности, эффективности, биораспределении, времени полужизни и подобные факторы, хорошо известные специалисту.

Как правило, в указанном выше способе используют одно из аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению. Однако в объеме изобретения находится использование двух или более аминокислотных последовательностей, нанотел (или ISV) и/или полипептидов по изобретению в комбинации.

Нанотела (или ISV), аминокислотные последовательности и полипептиды по изобретению также можно использовать в комбинации с одним или несколькими дополнительными фармацевтически активными соединениями или средствами, т.е. в качестве комбинированной схемы лечения, которая может или не может приводить к синергическому действию. Кроме того, клиницист может выбирать такие дополнительные соединения или средства, а также подходящую комбинированную схему лечения на основании факторов, приводимых выше, и его экспертной оценки. В частности, аминокислотные последовательности, нанотела (или ISV) и полипептиды по изобретению можно использовать в комбинации с другими фармацевтически активными соединениями или средствами, которые используют или можно использовать для профилактики и/или лечения заболеваний и нарушений, указываемых в настоящем документе, в результате чего можно получить или не получить синергическое действие. Примеры таких соединений и средств, а также маршрутов, способов и фармацевтических составов или композиций для их введения, известны клиницисту.

Когда необходимо использовать два или более вещества или средства как часть комбинированной схемы лечения, их можно вводить одним и тем же маршрутом введения или посредством разных маршрутов введения, по существу, в одно время или в разное время (например, по существу, одновременно, последовательно или по разным схемам). Когда вещества или средства вводят одновременно посредством одного и того же маршрута введения, их можно вводить в различных фармацевтических составах или композициях или как часть комбинированного фармацевтического состава или композиции, как понятно специалисту.

Также, когда два или более активных вещества или средства необходимо использовать как часть комбинированной схемы лечения, каждое из веществ или средств можно вводить в тех же количествах и по той же схеме лечения, которые используют, когда соединение или средство используют самостоятельно, и такое комбинированное использование может приводить или может не приводить к синергическому действию. Однако, когда комбинированное использование двух или более активных веществ или средств приводит к синергическому действию, также можно снижать количество одного, нескольких или всех вводимых веществ или средств, все еще обеспечивая желаемое терапевтическое действие. Это может быть полезным, например, для недопущения, ограничения или снижения любых нежелательных побочных эффектов, которые связаны с использованием одного или нескольких веществ или средств, когда их используют в их обычных количествах, при этом все еще получая желаемое фармацевтическое или терапевтическое действие.

Эффективность используемой по изобретению схемы лечения можно определять и/или ей можно следовать любым известным для рассматриваемых заболевания или нарушения способом, как понятно клиницисту. Клиницист при необходимости и в каждом отдельном случае также может изменять или модифицировать конкретную схему лечения так, чтобы достигать желаемого терапевтического эффекта, не допускать, ограничивать или снижать нежелательные побочные эффекты и/или достигать подходящего баланса между достижением желаемого терапевтического эффекта, с одной стороны, и недопущением, ограничением или снижением нежелательных побочных эффектов, с другой стороны. Как правило, схеме лечения следуют, пока не будет достигнут желаемый терапевтический эффект и/или настолько долго, пока необходимо поддерживать желаемый терапевтический эффект. Кроме того, это может определять клиницист.

В другом аспекте изобретение относится к применению аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению при получении фармацевтической композиции для профилактики и/или лечения по меньшей мере одного из иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению и/или для применения в одном или нескольких из способов лечения, указываемых в настоящем документе.

Подлежащий лечению индивидуум может представлять собой любое теплокровное животное, но, в частности, оно представляет собой млекопитающее, а более конкретно человека. Например, выявлено, что большинство нанотел (или ISV) по изобретению преимущественно индуцированных против IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F человека (или их сочетаний), перекрестно реагируют с IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F мартышки (или их сочетаниями). Как понятно специалисту, подлежащий лечению индивидуум, в частности, может представлять собой индивидуума, страдающего заболеваниями и нарушениями, указываемыми в настоящем документе, или подвергающегося риску этих заболеваний и нарушений.

Изобретение также относится к применению аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению в получении фармацевтической композиции для профилактики и/или лечения по меньшей мере одного заболевания или нарушения, которые можно предотвращать и/или лечить посредством введения пациенту аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению.

Более конкретно изобретение относится к применению аминокислотной последовательности, нанотела (или ISV) или полипептида по изобретению в получении фармацевтической композиции для профилактики и/или лечения иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению и, в частности, для профилактики и лечения одного или нескольких заболеваний и нарушений, перечисленных в настоящем документе. Кроме того, в такой фармацевтической композиции одно или несколько из аминокислотных последовательностей, нанотел (или ISV) или полипептидов по изобретению также можно подходящим образом комбинировать с одним или несколькими другими активными средствами, такими как средства, указываемые в настоящем документе. В заключение, хотя использование нанотел (или ISV) по изобретению (как определено в настоящем документе) и полипептидов по изобретению является более предпочтительным, понятно, что на основании описания в настоящем документе специалист сможет аналогичным способом сконструировать и/или получить другие аминокислотные последовательности и, в частности, (одно)доменные антитела против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, а также полипептиды, содержащие такие (одно)доменные антитела. Например, специалисту также понятно, что одну или несколько из CDR, указанных выше, для нанотел (или ISV) по изобретению можно "прививать" на такие (одно)доменные антитела или другие белковые каркасы, включая в качестве неограничивающих примеров каркасы человека или неиммуноглобулиновые каркасы. Подходящие каркасы и способы такого прививания CDR понятны специалисту и хорошо известны в данной области, например, см. способы, указанные в WO 08/020079. Например, способы, известные для прививания CDR мыши или крысы на основу и каркасы человека, можно аналогичным образом использовать для получения химерных белков, содержащих одну или несколько из CDR нанотел (или ISV) по изобретению и одну или несколько каркасных областей или последовательностей человека. Также следует отметить, что когда нанотела (или ISV) по изобретению содержат одну или несколько других последовательностей CDR, отличных от предпочтительных последовательностей CDR, указанных выше, эти последовательности CDR можно получать любым известным способом, например одним или несколькими из способов, описанных в WO 08/020079. Дополнительные применения аминокислотных последовательностей, нанотел (или ISV), полипептидов, нуклеиновых кислот, генетических конструкций и хозяев и клеток-хозяев по изобретению станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе. Например и без ограничения, аминокислотные последовательности по изобретению можно связывать с подходящим носителем или твердой подложкой так, чтобы получить носитель, который можно известным способом использовать для очистки любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, от содержащих их композиций и препаратов. Производные аминокислотных последовательностей по изобретению, которые содержат подходящую детектируемую метку также можно использовать как маркеры для определения (качественного или количественного) присутствия любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, в композиции или препарате или в качестве маркера для селективной детекции присутствия любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, на поверхности клетки или ткани (например, в комбинации с подходящими способами сортировки клеток).

Некоторые самые предпочтительные аспекты изобретения представляют собой аминокислотную последовательность, которая направлена против и/или которая может специфически связываться с любым из IL-17A человека, IL-17F человека и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания;

соответствующую аминокислотную последовательность со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 10^{-4} до 10^{-6} с^{-1} ;

соответствующую аминокислотную последовательность с аффинностью к IL-17A человека, IL-17F человека и/или IL-17A/F человека, включая их сочетания, менее 1 нМ;

соответствующую аминокислотную последовательность, которая содержит иммуноглобулиновую укладку;

соответствующую аминокислотную последовательность, которая представляет собой последовательность иммуноглобулина;

соответствующую аминокислотную последовательность, которая, по существу, состоит из последовательности переменного домена легкой цепи (например, последовательности V_L) или последователь-

ности варибельного домена тяжелой цепи (например, последовательности V_H);

соответствующую аминокислотную последовательность, которая, по существу, состоит из нанотела;

соответствующую аминокислотную последовательность, которая, по существу, состоит из полипептида, который по меньшей мере на 80% идентичен по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR; и в котором предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2;

соответствующую аминокислотную последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A человека;

соответствующую аминокислотную последовательность по любому из предшествующих пунктов, которая может специфически связываться с IL-17A человека и IL-17A/F человека;

соответствующую аминокислотную последовательность, которая может специфически связываться с IL-17F человека;

соответствующую аминокислотную последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека;

аминокислотную последовательность, которая направлена против и/или может специфически связываться с IL-17A и IL-17A/F человека (класс 2), характеризующуюся тем, что аминокислотная последовательность связывается с мутантом IL-17A по L74A, или Y85A, или H54A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17A дикого типа аффинностью;

аминокислотную последовательность, которая направлена против и/или может специфически связываться с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека (класс 4), характеризующуюся тем, что аминокислотная последовательность связывается с мутантом IL-17A по L74A, или Y85A, или N88A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17A дикого типа аффинностью;

Аминокислотную последовательность, которая направлена против и/или может специфически связываться с IL-17F человека, характеризующуюся тем, что аминокислотная последовательность связывается с мутантом IL-17F по R47A, или R73A, или I86A, или N89A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17F дикого типа аффинностью;

первую аминокислотную последовательность, конкурирующую за связывание с IL-17A и/или IL-17A/F человека со второй аминокислотной последовательностью, где эта вторая аминокислотная последовательность специфически связывается с IL-17A и IL-17A/F человека (класс 2), и где эта вторая аминокислотная последовательность связывается с мутантом IL-17A по L74A, или Y85A, или H54A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17A дикого типа аффинностью, где первая аминокислотная последовательность не является IL-17A, IL-17 A/F и/или IL-17F;

первую аминокислотную последовательность, конкурирующую за связывание с IL-17A, IL-17A/F и/или IL-17F человека со второй аминокислотной последовательностью, где эта вторая аминокислотная последовательность специфически связывается с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека (класс 4), и где эта вторая аминокислотная последовательность связывается с мутантом IL-17A по L74A, или Y85A, или N88A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17A дикого типа аффинностью, где первая аминокислотная последовательность не является IL-17A, IL-17 A/F и/или IL-17F;

первую аминокислотную последовательность, конкурирующую за связывание с IL-17F человека со второй аминокислотной последовательностью, где эта вторая аминокислотная последовательность, специфически связывается с IL-17F человека, и где эта вторая аминокислотная последовательность связывается с мутантом IL-17F по R47A, или R73A, или I86A, или N89A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17F дикого типа аффинностью, где первая аминокислотная последовательность не является IL-17A, IL-17A/F и/или IL-17F;

полипептид, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную последовательность по изобретению;

применение аминокислотной последовательности и/или полипептида по изобретению для лечения заболеваний;

применение аминокислотной последовательности и/или полипептида по изобретению для лечения системной красной волчанки, ревматоидного артрита, остеоартрита, юношеского хронического артрита, спондилоартропатий, системного склероза, идиопатических воспалительных миопатий, синдрома Шегрена, системного васкулита, саркоидоза, аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунной тромбоцитопении, тиреоидита, сахарного диабета, иммуноопосредованных заболеваний почек, демиелинизирующих заболеваний центральной и периферической нервной системы, таких как рассеянный склероз, идиопатическая демиелинизирующая полинейропатия или синдром Гийена-Барре и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезней желчи и желчных путей, таких как инфекционный аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительного заболевания кишечника, глютенчувствительной

энтеропатии и болезни Уиппла, аутоиммунных или иммуноопосредованных заболеваний кожи, включающих буллезные заболевания кожи, полиморфную эритему и контактный дерматит, псориаза, аллергических заболеваний, таких как астма, аллергический ринит, атопический дерматит, гиперчувствительность к пище и крапивница, иммунологических заболеваний легких, таких как эозинофильная пневмония, идиопатический легочный фиброз и гиперчувствительный пневмонит, связанных с трансплантацией заболеваний, включающих отторжение трансплантата и реакцию "трансплантат против хозяина"; или фармацевтической композиции, содержащей полипептид и/или аминокислотную последовательность по изобретению и фармацевтически приемлемый эксципиент для лечения системной красной волчанки, ревматоидного артрита, остеоартрита, юношеского хронического артрита, спондилоартропатий, системного склероза, идиопатических воспалительных миопатий, синдрома Шегрена, системного васкулита, саркоидоза, аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунной тромбоцитопении, тиреоидита, сахарного диабета, иммуноопосредованных заболеваний почек, демиелинизирующих заболеваний центральной и периферической нервной системы, таких как рассеянный склероз, идиопатическая демиелинизирующая полинейропатия или синдром Гийена-Барре и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезней желчи и желчных путей, таких как инфекционный аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительного заболевания кишечника, глютенчувствительной энтеропатии и болезни Уиппла, аутоиммунных или иммуноопосредованных заболеваний кожи, включающих буллезные заболевания кожи, полиморфную эритему и контактный дерматит, псориаза, аллергических заболеваний, таких как астма, аллергический ринит, атопический дерматит, гиперчувствительность к пище и крапивница, иммунологических заболеваний легких, таких как эозинофильная пневмония, идиопатический легочный фиброз и гиперчувствительный пневмонит, связанных с трансплантацией заболеваний, включающих отторжение трансплантата и реакцию "трансплантат против хозяина"; или способа лечения нуждающегося в этом пациента посредством введения эффективного количества полипептида и/или аминокислотной последовательности по пп.1-13, где способ подходит для лечения системной красной волчанки, ревматоидного артрита, остеоартрита, юношеского хронического артрита, спондилоартропатий, системного склероза, идиопатических воспалительных миопатий, синдрома Шегрена, системного васкулита, саркоидоза, аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунной тромбоцитопении, тиреоидита, сахарного диабета, иммуноопосредованных заболеваний почек, демиелинизирующих заболеваний центральной и периферической нервной системы, таких как рассеянный склероз, идиопатическая демиелинизирующая полинейропатия или синдром Гийена-Барре и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезней желчи и желчных путей, таких как инфекционный аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительного заболевания кишечника, глютенчувствительной энтеропатии и болезни Уиппла, аутоиммунных или иммуноопосредованных заболеваний кожи, включающих буллезные заболевания кожи, полиморфную эритему и контактный дерматит, псориаза, аллергических заболеваний, таких как астма, аллергический ринит, атопический дерматит, гиперчувствительность к пище и крапивница, иммунологических заболеваний легких, таких как эозинофильная пневмония, идиопатический легочный фиброз и гиперчувствительный пневмонит, связанных с трансплантацией заболеваний, включающих отторжение трансплантата и реакцию "трансплантат против хозяина";

фармацевтическую композицию, содержащую аминокислотную последовательность и/или полипептид по изобретению и фармацевтически приемлемый эксципиент.

Ниже перечислены некоторые предпочтительные, но неограничивающие аспекты изобретения. Другие аспекты и варианты осуществления изобретения станут понятны специалисту на основе описания в настоящем документе.

Аспект А-1. Аминокислотная последовательность, которая направлена против и/или которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, где предпочтительно указанная аминокислотная последовательность функционирует в качестве связывающей единицы.

Аспект А-2. Аминокислотная последовательность в соответствии с аспектом А-1, которая находится, по существу, в выделенной форме.

Аспект А-3. Аминокислотная последовательность в соответствии с аспектом А-1 или А-2 для введения индивидууму, где указанная аминокислотная последовательность не присутствует в норме у указанного индивидуума.

Аспект А-4. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее, более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-5. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от $10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ до приблизительно $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7

$\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до $10^7 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, например от 10^5 до $10^7 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-6. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до 10^{-6}s^{-1} , предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6}s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6}s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6}s^{-1} . В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-7. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-8. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из полипептида, который

i) по меньшей мере на 80% идентичен по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-9. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из нанотела, которое

i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-10. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая в дополнение по меньшей мере к одному участку связывания для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, содержит один или несколько дополнительных участков связывания для связывания с другими антигенами, белками или мишенями.

Аспект А-11. Аминокислотная последовательность, которая направлена против и/или которая может специфически связываться с любым из IL-17A.

Аспект А-12. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с любым из IL-17A с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-13. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с любым из IL-17A со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от $10^2 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ до приблизительно $10^7 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до $10^7 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до $10^7 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$, например от 10^5 до $10^7 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-14. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с любым из IL-17A со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до 10^{-6}s^{-1} , предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6}s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6}s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6}s^{-1} . В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-15. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с любым из IL-17A с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-16. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из полипептида, который

(i) по меньшей мере на 80% идентичен по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

кислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-627, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

(ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-17. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из нанотела, которое

(i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-627, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

(ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-18. Аминокислотная последовательность, которая направлена против и/или которая может специфически связываться с любым из IL-17A и IL-17A/F.

Аспект А-19. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A и IL-17A/F с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-20. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A и IL-17A/F со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-21. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A и IL-17A/F со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до 10^{-6} s^{-1} , предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6} s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6} s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6} s^{-1} . В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-22. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A и IL-17A/F с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-23. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из полипептида, который (i) по меньшей мере на 80% идентичен по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 628-639, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

(ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-24. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из нанотела, которое (i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 628-339, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

(ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-25. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая в дополнение по меньшей мере к одному участку связывания для связывания с IL-17A и IL-17A/F, содержит один или несколько дополнительных участков связывания для связывания с другими антигенами, белками или мишенями.

Аспект А-26. Аминокислотная последовательность, которая направлена против и/или может специфически связываться с IL-17F.

Аспект А-27. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-

17F с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-28. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17F со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-29. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17F со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до 10^{-6} s^{-1} , предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6} s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6} s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6} s^{-1} . В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-30. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17F с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-31. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из полипептида, который

(i) по меньшей мере на 80% идентичен по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 640-649, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

(ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-32. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из нанотела, которое

(i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 640-649, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

(ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-33. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая в дополнение по меньшей мере к одному участку связывания для связывания с IL-17F, содержит один или несколько дополнительных участков связывания для связывания с другими антигенами, белками или мишенями.

Аспект А-34. Аминокислотная последовательность, которая направлена против и/или может специфически связываться с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F.

Аспект А-35. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-36. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-37. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до 10^{-6} s^{-1} , предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6} s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6} s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6} s^{-1} . В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

Аспект А-38. Аминокислотная последовательность, которая может специфически связываться с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов.

вующих аспектов.

Аспект А-39. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая представляет собой природную аминокислотную последовательность (любого подходящего вида, в частности млекопитающего, такого как человек или мартышка) или синтетическую или полусинтетическую аминокислотную последовательность.

Аспект А-40. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая содержит иммуноглобулиновую укладку или которая в подходящих условиях способна формировать иммуноглобулиновую укладку.

Аспект А-41. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из 4 каркасных областей (от FR1 до FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (от CDR1 до CDR3 соответственно).

Аспект А-42. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая представляет собой последовательность иммуноглобулина.

Аспект А-43. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая представляет собой природную последовательность иммуноглобулина (любого подходящего вида) или синтетическую или полусинтетическую последовательность иммуноглобулина.

Аспект А-44. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая представляет собой гуманизованную последовательность иммуноглобулина, камелизованную последовательность иммуноглобулина или последовательность иммуноглобулина, которая получена такими способами, как созревание аффинности.

Аспект А-45. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из последовательности переменного домена легкой цепи (например, последовательности V_L) или последовательности переменного домена тяжелой цепи (например, последовательности V_H).

Аспект А-46. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из последовательности переменного домена тяжелой цепи, которую получают из обычного четырехцепочечного антитела, или которая, по существу, состоит из последовательности переменного домена тяжелой цепи, которую получают из антитела из тяжелых цепей.

Аспект А-47. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из доменного антитела (или аминокислотной последовательности, которая подходит для использования в качестве доменного антитела), однодоменного антитела (или аминокислотной последовательности, которая подходит для использования в качестве однодоменного антитела), "dAb" (или аминокислотной последовательности, которая подходит для использования в качестве dAb) или нанотела (включая в качестве неограничивающих примеров последовательность V_{HH}).

Аспект А-48. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая по существу состоит из нанотела.

Аспект А-49. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из нанотела, которое

i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-22, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-50. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из полипептида, который

(i) по меньшей мере на 80% идентичен по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 650-693, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

(ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-51. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из нанотела, которое

(i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 650-693, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

(ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47,

83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект А-52. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая, по существу, состоит из гуманизированного нанотела.

Аспект А-53. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая в дополнение по меньшей мере к одному участку связывания для связывания с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F содержит один или несколько дополнительных участков связывания для связывания с другими антигенами, белками или мишенями.

Аспект А-54. Аминокислотная последовательность в соответствии с каждым и любым из предшествующих аспектов от А-1 до А-53, в которых указанная аминокислотная последовательность представляет собой ISV (как определено в настоящем документе) и функционирует в качестве связывающей единицы.

Аспекты на основе CDR

Аспект В-1. Аминокислотная последовательность, которая направлена против и/или которая может специфически связываться (например, связывающая единица) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и, которая содержит один или несколько фрагментов из аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из

- a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

или их любого подходящего сочетания.

В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54.

Аспект В-2. Аминокислотная последовательность в соответствии с аспектом В-1, в которой по меньшей мере один из указанных фрагментов из аминокислотных остатков формирует часть антигенсвязывающего участка для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект В-3. Аминокислотная последовательность, которая направлена против и/или которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и которая содержит два или более фрагментов из аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из

- a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

так, что (i) когда первый фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с a), b) или c), второй фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с d), e), f), g), h) или i); (ii) когда первый фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с d), e) или f), второй фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с a), b), c), g), h) или i); или (iii) когда первый фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последователь-

ностей в соответствии с g), h) или i), второй фрагмент из аминокислотных остатков соответствует одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с a), b), c), d), e) или f).

В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, B-1 или B-2.

Аспект В-4. Аминокислотная последовательность в соответствии с аспектом В-3, в которой по меньшей мере два фрагмента из аминокислотных остатков формируют часть антигенсвязывающего участка для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект В-5. Аминокислотная последовательность, которая направлена против и/или которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и которая содержит три или более фрагментов из аминокислотных остатков, в которой первый фрагмент из аминокислотных остатков выбран из группы, состоящей из

- a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- второй фрагмент из аминокислотных остатков выбран из группы, состоящей из
- d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- и третий фрагмент из аминокислотных остатков выбран из группы, состоящей из
- g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;
- i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551.

В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54 и/или от B-1 до B-4.

Аспект В-6. Аминокислотная последовательность в соответствии с аспектом В-5, в которой по меньшей мере три фрагмента из аминокислотных остатков формируют часть антигенсвязывающего участка для связывания с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект В-7. Аминокислотная последовательность, которая направлена против и/или которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, в которой последовательности CDR указанной аминокислотной последовательности содержат по меньшей мере 70% идентичных аминокислот, предпочтительно по меньшей мере 80% идентичных аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 90% идентичных аминокислот, например 95% идентичных аминокислот или более или даже, по существу, 100% идентичных аминокислот с последовательностями CDR по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54 и/или от B-1 до B-6.

Аспект В-8. Аминокислотная последовательность в соответствии с каждым и любым из предшествующих аспектов от В-1 до В-7, в которых указанная аминокислотная последовательность представляет собой ISV (как определено в настоящем документе).

Аспект С-1. Аминокислотная последовательность, которая направлена против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и которая перекрестно блокирует связывание (например, связывающая единица) по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54 и/или в соответствии с аспектами от В-1 до В-8. Также предпочтительно такая аминокислотная последовательность способна к специфическому связыванию с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект С-2. Аминокислотная последовательность, которая направлена против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и связывание которой с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, перекрестно заблокировано по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693. В частности, такая аминокислотная последовательность может представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54 и/или в соответствии с аспектами от В-1 до В-8. Также предпочтительно такая аминокислотная последовательность способна к специфическому связыванию с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект С-3. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов С-1 или С-2,

где способность указанной аминокислотной последовательности к перекрестному блокированию или быть перекрестно блокируемой детектируют в анализе *Biascore*.

Аспект С-4. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов С-1 до С-3, где способность указанной аминокислотной последовательности к перекрестному блокированию или быть перекрестно блокируемой детектируют в анализе *ELISA*.

Аспект С-5. Аминокислотная последовательность в соответствии с каждым и любым из предшествующих аспектов С-1 до С-4, в которых указанная аминокислотная последовательность представляет собой ISV (как определено в настоящем документе) и предпочтительно функционирует в качестве связывающей единицы.

Аспект D-1. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8 или С-1 до С-5, которая находится, по существу, в выделенной форме.

Аспект D-2. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5 и/или D1 для введения индивидууму, где указанная аминокислотная последовательность не присутствует в норме у указанного индивидуума.

Аспект D-3. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5 и/или от D-1 до D-2, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л.

Аспект D-4. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5 и/или от D-1 до D-3, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$.

Аспект D-5. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5 и/или от D-1 до D-4, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до 10^{-6} s^{-1} , предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6} s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6} s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6} s^{-1} .

Аспект D-6. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5 и/или от D-1 до D-5, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ.

Аспект D-7. Аминокислотная последовательность в соответствии с каждым и любым из предшествующих аспектов от D-1 до D-6, в которых указанная аминокислотная последовательность представляет собой ISV (как определено в настоящем документе) и предпочтительно функционирует в качестве связывающей единицы.

Аминокислотные последовательности в соответствии с аспектами от D-1 до D-7, в частности, могут представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54.

Аспект E-1. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5 и/или от D-1 до D-7, которая представляет собой природную аминокислотную последовательность (любого подходящего вида) или синтетическую или полусинтетическую аминокислотную последовательность.

Аспект E-2. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7 и/или E-1, которая содержит иммуноглобулиновую укладку или которая в подходящих условиях способна формировать иммуноглобулиновую укладку.

Аспект E-3. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7 и/или E-1 или E-2, которая представляет собой последовательность иммуноглобулина.

Аспект E-4. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-3, которая представляет собой природную последовательность иммуноглобулина (любого подходящего вида) или синтетическую или полусинтетическую последовательность иммуноглобулина.

Аспект E-5. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-4, которая представляет собой гуманизированную последовательность иммуноглобулина, камелизированную последовательность иммуноглобулина или последовательность иммуноглобулина, которая получена такими способами, как созревание аффинности.

Аспект E-6. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-5, которая, по существу, состоит из последовательности вариабельного домена легкой цепи (например, последовательности V_L) или последовательности вариабельного домена тяжелой цепи (например, последовательности V_H).

Аспект E-7. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от В-1 до В-

8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-6, которая, по существу, состоит из последовательности вариабельного домена тяжелой цепи, которую получают из обычного четырехцепочечного антитела, или которая, по существу, состоит из последовательности вариабельного домена тяжелой цепи, которую получают из антитела из тяжелых цепей.

Аспект E-8. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-7, которая, по существу, состоит из доменного антитела (или аминокислотной последовательности, которая подходит для использования в качестве доменного антитела), однодоменного антитела (или аминокислотной последовательности, которая подходит для использования в качестве однодоменного антитела), из "dAb" (или аминокислотной последовательности, которая подходит для использования в качестве dAb) или из нанотела (включая в качестве неограничивающих примеров последовательность V_{HH}).

Аспект E-9. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-8, которая, по существу, состоит из нанотела.

Аспект E-10. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-9, которая, по существу, состоит из нанотела, которое

- i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-22, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

- ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. B-2.

Аспект E-11. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-10, которая, по существу, состоит из нанотела, которое

- i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

- ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. B-2.

Аспект E-12. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-11, которая, по существу, состоит из гуманизованного нанотела.

Аспект E-13. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-11, которая в дополнение по меньшей мере к одному участку связывания сформированному последовательностями CDR, содержит один или несколько дополнительных участков связывания для связывания с другими антигенами, белками или мишенями.

Аспект E-14. Аминокислотная последовательность в соответствии с каждым и любым из предшествующих аспектов от E-1 до E-13, в которых указанная аминокислотная последовательность представляет собой ISV (как определено в настоящем документе) и предпочтительно функционирует в качестве связывающей единицы.

Аминокислотные последовательности в соответствии с аспектами от E-1 до E-14, в частности, могут представлять собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54.

Аспекты в отношении каркаса + CDR

Аспект F-1. Аминокислотная последовательность, которая, по существу, состоит из 4 каркасных областей (FR1-FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (CDR1-CDR3 соответственно), в которой CDR1 выбрана из группы, состоящей из

- a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;
- c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267; и/или CDR2 выбрана из группы, состоящей из
- d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;
- f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409; и/или CDR3 выбрана из группы, состоящей из

g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551.

Такая аминокислотная последовательность представляет собой аминокислотную последовательность, предпочтительно направленную против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или аминокислотную последовательность, которая может специфически связываться (например, в качестве связывающей единицы) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Также такая аминокислотная последовательность предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-14.

Аспект F-2. Аминокислотная последовательность, которая, по существу, состоит из 4 каркасных областей (от FR1 до FR4 соответственно) и 3 определяющих комплементарность областей (от CDR1 до CDR3 соответственно), в которой

CDR1 выбрана из группы, состоящей из

a) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

b) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267;

c) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 197-267; и

CDR2 выбрана из группы, состоящей из

d) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

e) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409;

f) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 339-409; и

CDR3 выбрана из группы, состоящей из

g) аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

h) аминокислотных последовательностей, которые содержат по меньшей мере 80% идентичных аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551;

i) аминокислотных последовательностей, которые содержат 3, 2 или 1 отличия по аминокислотам по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 481-551.

Такая аминокислотная последовательность предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность, направленную против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или аминокислотную последовательность, которая может специфически связываться (например, в качестве связывающей единицы) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Также такая аминокислотная последовательность предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-14.

Аспект F-3. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов F-1 и F-2, в которой последовательности CDR указанной аминокислотной последовательности содержат по меньшей мере 70% идентичных аминокислот, предпочтительно по меньшей мере 80% идентичных аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 90% идентичных аминокислот, например 95% идентичных аминокислот или более или даже, по существу, 100% идентичных аминокислот с последовательностями CDR по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693.

Такая аминокислотная последовательность предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность, направленную против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или аминокислотную последовательность, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания. Также такая аминокислотная последовательность предпочтительно представляет собой аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7 и/или от E-1 до E-14.

Аспект F-4. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-3, которая направлена против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и которая перекрестно блокирует связывание по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с любым из аспектов аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693.

Аспект F-5. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-3, которая направлена против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и связывание которой с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, перекрестно заблокировано по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693.

Аспект F-6. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов F-4 или F-5, где способность указанной аминокислотной последовательности к перекрестному блокированию или

быть перекрестно блокируемой детектируют в анализе Вiasoge.

Аспект F-7. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов F4 или F-5, где способность указанной аминокислотной последовательности к перекрестному блокированию или быть перекрестно блокируемой детектируют в анализе ELISA.

Аспект F-8. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-7, которая находится, по существу, в выделенной форме.

Аспект F-9. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-8 для введения индивидууму, где указанная аминокислотная последовательность не присутствует в норме у указанного индивидуума.

Аспект F-10. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-9, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л.

Аспект F-11. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-10, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$.

Аспект F-12. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-11, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до 10^{-6} s^{-1} , предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6} s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6} s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6} s^{-1} .

Аспект F-13. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-12, которая может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ.

Аспект F-14. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-13, которая представляет собой природную аминокислотную последовательность (любого подходящего вида) или синтетическую или полусинтетическую аминокислотную последовательность.

Аспект F-15. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-14, которая содержит иммуноглобулиновую укладку или которая в подходящих условиях способна формировать иммуноглобулиновую укладку.

Аспект F-16. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-15, которая представляет собой последовательность иммуноглобулина и, в частности, ISV.

Аспект F-17. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-16, которая представляет собой природную последовательность иммуноглобулина (любого подходящего вида) или синтетическую или полусинтетическую последовательность иммуноглобулина.

Аспект F-18. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-17, которая представляет собой гуманизованную последовательность иммуноглобулина, камелизованную последовательность иммуноглобулина или последовательность иммуноглобулина, которая получена такими способами, как созревание аффинности.

Аспект F-19. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-18, которая, по существу, состоит из последовательности переменного домена легкой цепи (например, последовательности V_L) или последовательности переменного домена тяжелой цепи (например, последовательности V_H).

Аспект F-20. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-19, которая, по существу, состоит из последовательности переменного домена тяжелой цепи, которую получают из обычного четырехцепочечного антитела, или которая, по существу, состоит из последовательности переменного домена тяжелой цепи, которую получают из антитела из тяжелых цепей.

Аспект F-21. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-20, которая, по существу, состоит из доменного антитела (или аминокислотной последовательности, которая подходит для использования в качестве доменного антитела), однодоменного антитела (или аминокислотной последовательности, которая подходит для использования в качестве однодоменного антитела), из "dAb" (или аминокислотной последовательности, которая подходит для использования в качестве dAb) или нанотела (включая в качестве неограничивающих примеров последовательность V_{HH}).

Аспект F-22. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-21, которая, по существу, состоит из нанотела.

Аспект F-23. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-22, которая, по существу, состоит из нанотела, которое

i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-22, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект F-24. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-23, которая, по существу, состоит из нанотела, которое

i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект F-25. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от F-1 до F-24, которая, по существу, состоит из гуманизированного нанотела.

Аспект G-1. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из предшествующих аспектов, которая в дополнение по меньшей мере к одному участку связывания, сформированному последовательностями CDR, содержит один или несколько дополнительных участков связывания (например, в качестве связывающих единиц) для связывания с другим антигеном, белком или мишенью.

Аспект H-1. Нанотело, которое направлено против и/или которое может специфически связываться (например, в качестве связывающей единицы) с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект H-2. Нанотело в соответствии с аспектом H-1, которое находится, по существу, в выделенной форме.

Аспект H-3. Нанотело в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-2, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л.

Аспект H-4. Нанотело в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-3, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$.

Аспект H-5. Нанотело в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-4, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до 10^{-6} s^{-1} , предпочтительно от 10^{-2} до 10^{-6} s^{-1} , более предпочтительно от 10^{-3} до 10^{-6} s^{-1} , например от 10^{-4} до 10^{-6} s^{-1} .

Аспект H-6. Нанотело в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-5, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с аффинностью менее 500 нМ, предпочтительно менее 200 нМ, более предпочтительно менее 10 нМ, например менее 500 пМ.

Аспект H-7. Нанотело в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-6, которое представляет собой природное нанотело (из любого подходящего вида) или синтетическое или полусинтетическое нанотело.

Аспект H-8. Нанотело в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-7, которое представляет собой последовательность V_{HH} , частично гуманизированную последовательность V_{HH} , полностью гуманизированную последовательность V_{HH} , камелизированный вариабельный домен тяжелой цепи или нанотело, которое получено такими способами, как созревание аффинности.

Аспект H-9. Нанотело в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-8, которое

i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-22, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных в табл. В-2.

Аспект H-10. Нанотело в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-9, которое

i) по меньшей мере на 80% идентично по составу аминокислот по меньшей мере с одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693, где с целью определения степени идентичности аминокислот не учитывают аминокислотные остатки, формирующие последовательности CDR;

и в котором

ii) предпочтительно один или несколько аминокислотных остатков в положениях 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 и 108 в соответствии с нумерацией по Kabat выбраны из характерных остатков, указанных

группы, состоящей из SEQ ID NO: 623-693.

Аспект Н-19. Нанотело, направленное против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, которое перекрестно блокирует связывание по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693 с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект Н-20. Нанотело, направленное против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, связывание которого с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, перекрестно заблокировано по меньшей мере одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 623-693.

Аспект Н-21. Нанотело в соответствии с любым из аспектов Н-19 или Н-20, где способность указанного нанотела к перекрестному блокированию или быть перекрестно блокируемым детектируют в анализе Biacore.

Аспект Н-22: нанотело в соответствии с любым из аспектов от Н-19 до Н-21, где способность указанного нанотела к перекрестному блокированию или быть перекрестно блокируемым детектируют в анализе ELISA.

Полипептиды

Аспект К-1. Полипептид, который содержит или, по существу, состоит из одной или нескольких аминокислотных последовательностей в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 и/или из одного или нескольких нанотел в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22 и необязательно дополнительно содержит один или несколько пептидных линкеров и/или одну или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц.

Аспект К-2. Полипептид в соответствии с аспектом К-1, в котором указанные одна или несколько связывающих единиц представляют собой последовательности иммуноглобулинов и, в частности, ISV.

Аспект К-3. Полипептид в соответствии с любым из аспектов К-1 или К-2, в котором указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц выбраны из группы, состоящей из доменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве доменного антитела, однодоменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве однодоменного антитела, "dAb", аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве dAb, или нанотел.

Аспект К-4. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-3, в котором указанные одна или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению представляют собой последовательности иммуноглобулинов.

Аспект К-5: Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-4, в котором указанные одна или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению выбраны из группы, состоящей из доменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве доменного антитела, однодоменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве однодоменного антитела, "dAb", аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве dAb, или нанотел.

Аспект К-6. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-5, который содержит или, по существу, состоит из одного или нескольких нанотел в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22 и в котором указанные одна или несколько других связывающих единиц представляют собой нанотела.

Аспект К-7. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-6, где по меньшей мере одна связывающая единица представляет собой поливалентную конструкцию.

Аспект К-8. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-8, где по меньшей мере одна связывающая единица представляет собой мультипаратопную конструкцию.

Аспект К-9. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-8, где по меньшей мере одна связывающая единица представляет собой полиспецифическую конструкцию.

Аспект К-10. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-9 с увеличенным временем полужизни по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотелом в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22 соответственно.

Аспект К-11. Полипептид в соответствии с аспектом К-10, в котором указанные одна или несколько других связывающих единиц позволяют получать полипептид с увеличенным временем полужизни по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотелом в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22 соответственно.

Аспект К-12. Полипептид в соответствии с аспектом К-10 или К-11, в котором указанные одна или несколько других связывающих единиц, которые позволяют получать полипептид с увеличенным временем полужизни, выбраны из группы, состоящей из сывороточных белков или их фрагментов, связывающих единиц, которые могут связываться с сывороточными белками, части Fc и малых белков или пепти-

дов, которые могут связываться с сывороточными белками.

Аспект К-13. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-10 до К-12, в котором указанные одна или несколько других связывающих единиц, которые позволяют получать полипептид с увеличенным временем полужизни, выбраны из группы, состоящей из сывороточного альбумина человека или его фрагментов.

Аспект К-14. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-10 до К-13, в котором указанные одна или несколько других связывающих единиц, которые позволяют получать полипептид с увеличенным временем полужизни, выбраны из группы, состоящей из связывающих единиц, которые могут связываться с сывороточным альбумином (таким как сывороточный альбумин человека) или сывороточным иммуноглобулином (таким как IgG).

Аспект К-15. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-10 до К-14, в котором указанные одна или несколько других связывающих единиц, которые позволяют получать полипептид с увеличенным временем полужизни, выбраны из группы, состоящей из доменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве доменного антитела, однодоменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве dAb, или нанотел, которые могут связываться с сывороточным альбумином (таким как сывороточный альбумин человека) или сывороточным иммуноглобулином (таким как IgG).

Аспект К-16. Полипептид в соответствии с аспектом от К-10 до К-15, в котором указанные одна или несколько других связывающих единиц, которые позволяют получать полипептид с увеличенным временем полужизни, представляют собой нанотело, которое может связываться с сывороточным альбумином (таким как сывороточный альбумин человека) или сывороточным иммуноглобулином (таким как IgG).

Аспект К-17. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-10 до К-16 со временем полужизни в сыворотке, которое по меньшей мере в 1,5 раза, предпочтительно по меньшей мере в 2 раза, например по меньшей мере в 5 раз, например по меньшей мере в 10 раз или более чем в 20 раз больше, чем время полужизни соответствующей аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотела в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22 соответственно.

Аспект К-18. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-10 до К-17 со временем полужизни в сыворотке, которое по сравнению с соответствующими аминокислотной последовательностью в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотелом в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, соответственно, увеличено более чем на 1 ч, предпочтительно более чем на 2 ч, более предпочтительно более чем на 6 ч, например более чем на 12 ч или даже более чем на 24, 48 или 72 ч.

Аспект К-19. Полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-18 со временем полужизни в сыворотке у человека по меньшей мере приблизительно 12 ч, предпочтительно по меньшей мере 24 ч, более предпочтительно по меньшей мере 48 ч, даже более предпочтительно по меньшей мере 72 ч или более; например по меньшей мере 5 суток (например, приблизительно от 5 до 10 суток), предпочтительно по меньшей мере 9 суток (например, приблизительно от 9 до 14 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10 суток (например, приблизительно от 10 до 15 суток) или по меньшей мере приблизительно 11 суток (например, приблизительно от 11 до 16 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 12 суток (например, приблизительно от 12 до 18 суток или более) или более 14 суток (например, приблизительно от 14 до 19 суток).

Соединение или конструкция

Аспект L-1. Соединение или конструкция, которые содержат или, по существу, состоят из одной или нескольких аминокислотных последовательностей в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 и/или одного или нескольких нанотел в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, и, необязательно, дополнительно содержат одну или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, необязательно связанных посредством одного или нескольких линкеров.

Аспект L-2. Соединение или конструкция в соответствии с аспектами L-1, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц представляют собой аминокислотные последовательности.

Аспект L-3. Соединение или конструкция в соответствии с аспектом L-1 или L-2, в которых указанные один или несколько линкеров, если присутствуют, представляют собой одну или несколько аминокислотных последовательностей.

Аспект L-4. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-3, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц представляют собой последовательности иммуноглобулинов и, в частности, ISV.

Аспект L-5. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-4, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц выбра-

ны из группы, состоящей из доменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве доменного антитела, однодоменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве однодоменного антитела, "dAb", аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве dAb, или нанотел.

Аспект L-6. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-5, в которых указанные одна или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению представляют собой последовательности иммуноглобулинов.

Аспект L-7. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-6, в которых указанные одна или несколько аминокислотных последовательностей по изобретению выбраны из группы, состоящей из доменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве доменного антитела, однодоменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве однодоменного антитела, "dAb", аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве dAb, или нанотел.

Аспект L-8. Соединение или конструкция, которые содержат или, по существу, состоят из одного или нескольких нанотел в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22 и в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц представляют собой нанотела.

Аспект L-9. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-9, которые представляют собой поливалентные конструкции.

Аспект L-10. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-10, которые представляют собой полиспецифические конструкции.

Аспект L-11. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-10 с увеличенным временем полужизни по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотелом в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22 соответственно.

Аспект L-12. Соединение или конструкция в соответствии с аспектом от L-1 до L-11, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц позволяют получать соединение или конструкцию с увеличенным временем полужизни по сравнению с соответствующей аминокислотной последовательностью в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотелом в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22 соответственно.

Аспект L-13. Соединение или конструкция в соответствии с аспектом L-12, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, которые позволяют получать соединение или конструкцию с увеличенным временем полужизни, выбраны из группы, состоящей из сывороточных белков или их фрагментов, связывающих единиц, которые могут связываться с сывороточными белками, части Fc и малых белков или пептидов, которые могут связываться с сывороточными белками.

Аспект L-14. Соединение или конструкция в соответствии с аспектом L-12 или L-13, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, которые позволяют получать соединение или конструкцию с увеличенным временем полужизни, выбраны из группы, состоящей из сывороточного альбумина человека или его фрагментов.

Аспект L-15. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-12 до L-14, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, которые позволяют получать соединение или конструкцию с увеличенным временем полужизни, выбраны из группы, состоящей из связывающих единиц, которые могут связываться с сывороточным альбумином (таким как сывороточный альбумин человека) или сывороточным иммуноглобулином (таким как IgG).

Аспект L-16. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-12 до L-14, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, которые позволяют получать соединение или конструкцию с увеличенным временем полужизни, выбраны из группы, состоящей из доменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве доменного антитела, однодоменных антител, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве однодоменного антитела, "dAb", аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве dAb, или нанотел, которые могут связываться с сывороточным альбумином (таким как сывороточный альбумин человека) или сывороточным иммуноглобулином (таким как IgG).

Аспект L-17. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-12 до L-14, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, которые позволяют получать соединение или конструкцию с увеличенным временем полужизни, представляют собой нанотело, которое может связываться с сывороточным альбумином (таким как сывороточный альбумин человека) или сывороточным иммуноглобулином (таким как IgG).

Аспект L-18. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-12 до L-17 со временем полужизни в сыворотке, которое по меньшей мере в 1,5 раза, предпочтительно по меньшей

мере в 2 раза, например по меньшей мере в 5 раз, например по меньшей мере в 10 раз или более чем в 20 раз больше, чем время полужизни соответствующей аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотела в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22 соответственно.

Аспект L-19. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-12 до L-18 со временем полужизни в сыворотке, которое по сравнению с соответствующими аминокислотной последовательностью в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотелом в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, соответственно увеличено более чем на 1 ч, предпочтительно более чем на 2 ч, более предпочтительно более чем на 6 ч, например более чем на 12 ч или даже более чем на 24, 48 или 72 ч.

Аспект L-20. Соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-12 до L-19 со временем полужизни в сыворотке человека по меньшей мере приблизительно 12 ч, предпочтительно по меньшей мере 24 ч, более предпочтительно по меньшей мере 48 ч, даже более предпочтительно по меньшей мере 72 ч или более; например по меньшей мере 5 суток (например, приблизительно от 5 до 10 суток), предпочтительно по меньшей мере 9 суток (например, приблизительно от 9 до 14 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10 суток (например, приблизительно от 10 до 15 суток) или по меньшей мере приблизительно 11 суток (например, приблизительно от 11 до 16 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 12 суток (например, приблизительно от 12 до 18 суток или более) или более 14 суток (например, приблизительно от 14 до 19 суток).

Аспект L-21. Одновалентная конструкция, содержащая или, по существу, состоящая из одной из аминокислотных последовательностей в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 и/или одного из нанотел в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22.

Аспект L-22. Одновалентная конструкция в соответствии с аспектом L-21, в которой указанная аминокислотная последовательность по изобретению выбрана из группы, состоящей из доменных антигенов, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве доменного антигена, однодоменных антигенов, аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве однодоменного антигена, "dAb", аминокислотных последовательностей, которые подходят для использования в качестве dAb, или нанотел.

Аспект L-23. Одновалентная конструкция, содержащая или, по существу, состоящая из одного нанотела в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22.

Нуклеиновая кислота

Аспект М-1. Нуклеиновая кислота или нуклеотидная последовательность, кодирующая аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотело в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, соединение или конструкцию в соответствии с любым из аспектов, которые являются такими, что их можно получать посредством экспрессии кодирующих их нуклеиновой кислоты или нуклеотидной последовательности, или одновалентную конструкцию в соответствии с любым из аспектов.

Аспект М-2. Нуклеиновая кислота или нуклеотидная последовательность в соответствии с аспектом М-1, которые находятся в форме генетической конструкции.

Клетка-хозяин

Аспект N-1. Хозяин или клетка-хозяин, которые экспрессируют или которые в подходящих условиях способны к экспрессии аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, которые являются такими, что их можно получать посредством экспрессии кодирующих их нуклеиновой кислоты или нуклеотидной последовательности, или одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23; и/или которые содержат нуклеиновую кислоту или нуклеотидную последовательность в соответствии с аспектом М-1 или генетическую конструкцию в соответствии с аспектом М-2.

Композиции

Аспект О-1. Композиция, содержащая по меньшей мере одну аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотело в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, полипептид в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19, соединение или конструкцию в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, одновалентную конструкцию в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23 или нуклеиновую кислоту или нуклеотидную последовательность в соответствии с аспектами М-1 или М-2.

Аспект О-2. Композиция в соответствии с аспектом О-1, которая представляет собой фармацевтическую композицию.

Аспект О-3. Композиция в соответствии с аспектом О-2, которая представляет собой фармацевтическую композицию, которая дополнительно содержит по меньшей мере один фармацевтически прием-

лемый носитель, разбавитель или эксципиент и/или вспомогательное вещество, и которая необязательно содержит один или несколько дополнительных фармацевтически активных полипептидов и/или соединений.

Получение средства и композиции по изобретению

Аспект Р-1. Способ получения аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от Е-1 до Е-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, которые являются такими, что их можно получать посредством экспрессии кодирующих их нуклеиновой кислоты или нуклеотидной последовательности, или одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23, где указанный способ, по меньшей мере, включает стадии:

а) экспрессия в подходящей клетке-хозяине, или организме-хозяине, или в другой подходящей экспрессирующей системе нуклеиновой кислоты или нуклеотидной последовательности в соответствии с аспектом М-1 или генетической конструкции в соответствии с аспектом М-2;

необязательно с последующими

б) выделением и/или очисткой полученных таким образом аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от Е-1 до Е-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21 или одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23.

Аспект Р-2. Способ получения аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от Е-1 до Е-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, которые являются такими, что их можно получать посредством экспрессии кодирующих их нуклеиновой кислоты или нуклеотидной последовательности, или одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23, где указанный способ, по меньшей мере, включает стадии:

а) культивирование и/или поддержание хозяина или клетки-хозяина в соответствии с аспектом, в условиях, которые являются такими, что указанные хозяин или клетка-хозяин экспрессируют и/или продуцируют по меньшей мере одну аминокислотную последовательность в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от Е-1 до Е-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотело в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, полипептид в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-19, соединение или конструкцию в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21 или одновалентную конструкцию в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23;

необязательно с последующими

б) выделением и/или очисткой полученных таким образом аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от Е-1 до Е-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21 или одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23.

Способ скрининга с использованием направления

Аспект Q-1. Способ скрининга аминокислотных последовательностей, направленных против любого из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, который содержит, по меньшей мере, стадии:

а) предоставление набора, коллекции или библиотеки последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих аминокислотные последовательности;

б) скрининг указанного набора, коллекции или библиотеки последовательностей нуклеиновых кислот на последовательности нуклеиновых кислот, которые кодируют аминокислотную последовательность, которая может связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, и/или обладает аффинностью к ним, и которая является перекрестно блокируемым или перекрестно блокирующим нанотелом по изобретению, например SEQ ID NO: 623-693 (табл. 1); и

с) выделение указанной последовательности нуклеиновой кислоты с последующей экспрессией указанной аминокислотной последовательности.

Применение связывающего средства по изобретению

Аспект R-1. Способ профилактики и/или лечения по меньшей мере одного из иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму фармацевтически активного количества по меньшей мере одной аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от А-1 до А-54, от В-1 до В-8, от С-1 до С-5, от D-1 до D-7, от Е-1 до Е-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от Н-1 до Н-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от К-1 до К-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, одновалентной конструкции в соответствии с любым

из аспектов L-22 или L-23 или композиции в соответствии с аспектом O-2 или O-3.

Аспект R-2. Способ профилактики и/или лечения по меньшей мере одного заболевания или нарушения, связанных с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с их биологической или фармакологической активностью и/или с биологическими путями или передачей сигнала, в которых участвует любой из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму фармацевтически активного количества по меньшей мере одной аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23 или композиции в соответствии с аспектом O-2 или O-3.

Аспект R-3. Способ профилактики и/или лечения по меньшей мере одного заболевания или нарушения, которые можно предотвращать и/или лечить посредством введения нуждающемуся в этом индивидууму по меньшей мере одного из аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23 или композиции в соответствии с аспектом O-2 или O-3, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму фармацевтически активного количества по меньшей мере одного из аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23 или композиции в соответствии с аспектом O-2 или O-3.

Аспект R-4. Способ иммунотерапии, где указанный способ включает введение нуждающемуся в этом индивидууму фармацевтически активного количества по меньшей мере одного из аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23 или композиции в соответствии с аспектом O-2 или O-3.

Аспект R-5. Применение аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19, соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21 или одновалентной конструкции в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23 в получении фармацевтической композиции для профилактики и/или лечения по меньшей мере одного из иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению и/или для применения в одном или нескольких способах в соответствии с аспектами от R-1 до R-3.

Аспект R-6. Аминокислотная последовательность в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотело в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22, полипептид в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19, соединение или конструкция в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-21, одновалентная конструкция в соответствии с любым из аспектов L-22 или L-23 или композиция в соответствии с аспектом O-2 или O-3 для профилактики и/или лечения по меньшей мере одного из иммунологических заболеваний и нарушений по изобретению.

Аспекты фрагментов

Аспект S-1. Часть или фрагмент аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотела в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22.

Аспект S-2. Часть или фрагмент в соответствии с аспектом S-1, которые могут специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект S-3. Часть или фрагмент в соответствии с любым из аспектов S-1 или S-2, которые могут специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л.

Аспект S-4. Часть или фрагмент в соответствии с любым из аспектов от S-1 до S-3, которые могут специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до 10^7

$M^{-1}s^{-1}$.

Аспект S-5. Часть или фрагмент в соответствии с любым из аспектов от S-1 до S-4, которые могут специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до $10^{-6} s^{-1}$, предпочтительно от 10^{-2} до $10^{-6} s^{-1}$, более предпочтительно от 10^{-3} до $10^{-6} s^{-1}$, например от 10^{-4} до $10^{-6} s^{-1}$.

Аспект S-6. Соединение или конструкция, которые содержат или, по существу, состоят из одной или нескольких частей или фрагментов в соответствии с любым из аспектов от S-1 до S-4, и, необязательно, дополнительно содержат одну или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, необязательно связанных посредством одного или нескольких линкеров.

Аспект S-7. Соединение или конструкция в соответствии с аспектом S-6, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц представляют собой аминокислотные последовательности.

Аспект S-8. Соединение или конструкция в соответствии с аспектом S-6 или S-7, в которых указанные один или несколько линкеров, если присутствуют, представляют собой одну или несколько аминокислотных последовательностей.

Аспект S-9. Нуклеиновая кислота или нуклеотидная последовательность, кодирующая часть или фрагмент в соответствии с любым из аспектов от S-1 до S-7 или соединению или конструкции в соответствии с аспектом S-8.

Аспект S-10. Композиция, содержащая по меньшей мере одну часть или фрагмент в соответствии с любым из аспектов от S-1 до S-7, соединение или конструкцию в соответствии с любым из аспектов от S-6 до S-8 или нуклеиновую кислоту или нуклеотидную последовательность в соответствии с аспектом S-9.

Аспекты производных

Аспект T-1. Производное аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1 или нанотела в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22.

Аспект T-2. Производное в соответствии с аспектом T-1, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект T-3. Производное в соответствии с любым из аспектов T-1 или T-2, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л.

Аспект T-4. Производное в соответствии с любым из аспектов от T-1 до T-3, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от $10^2 M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно $10^7 M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до $10^7 M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до $10^7 M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до $10^7 M^{-1}s^{-1}$.

Аспект T-5. Производное в соответствии с любым из аспектов от T-1 до T-4, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до $10^{-6} s^{-1}$, предпочтительно от 10^{-2} до $10^{-6} s^{-1}$, более предпочтительно от 10^{-3} до $10^{-6} s^{-1}$, например от 10^{-4} до $10^{-6} s^{-1}$.

Аспект T-6. Производное полипептида в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19 или соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-23.

Аспект T-7. Производное в соответствии с аспектом T-6, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания.

Аспект T-8. Производное в соответствии с любым из аспектов T-6 или T-7, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, с константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-12} моль/л или менее, а предпочтительно от 10^{-7} до 10^{-12} моль/л или менее и более предпочтительно от 10^{-8} до 10^{-12} моль/л.

Аспект T-9. Производное в соответствии с любым из аспектов от T-6 до T-8, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью ассоциации (константой скорости прямой реакции k_{on}) от $10^2 M^{-1}s^{-1}$ до приблизительно $10^7 M^{-1}s^{-1}$, предпочтительно от 10^3 до $10^7 M^{-1}s^{-1}$, более предпочтительно от 10^4 до $10^7 M^{-1}s^{-1}$, например от 10^5 до $10^7 M^{-1}s^{-1}$.

Аспект T-10. Производное в соответствии с любым из аспектов от T-6 до T-9, которое может специфически связываться с любым из IL-17A, IL-17F и/или IL-17A/F, включая их сочетания, со скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 1 до $10^{-6} s^{-1}$, предпочтительно от 10^{-2} до $10^{-6} s^{-1}$, более предпочтительно от 10^{-3} до $10^{-6} s^{-1}$, например от 10^{-4} до $10^{-6} s^{-1}$.

Аспект T-11. Производное в соответствии с любым из аспектов от T-1 до T-10 со временем полужизни в сыворотке, которое по меньшей мере в 1,5 раза, предпочтительно по меньшей мере в 2 раза, например по меньшей мере в 5 раз, например по меньшей мере в 10 раз или более чем в 20 раз больше, чем время полужизни соответствующей аминокислотной последовательности в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотела в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-22, полипептида в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19 или соединения или конструкции в соответствии с любым из аспектов от L-1 до

L-23.

Аспект T-12. Производное в соответствии с любым из аспектов от T-1 до T-11 со временем полужизни в сыворотке, которое по сравнению с соответствующими аминокислотной последовательностью в соответствии с любым из аспектов от A-1 до A-54, от B-1 до B-8, от C-1 до C-5, от D-1 до D-7, от E-1 до E-14, от F-1 до F-25 или G-1, нанотелом в соответствии с любым из аспектов от H-1 до H-23, полипептидом в соответствии с любым из аспектов от K-1 до K-19 или соединением или конструкцией в соответствии с любым из аспектов от L-1 до L-23, соответственно, увеличено более чем на 1 ч, предпочтительно более чем на 2 ч, более предпочтительно более чем на 6 ч, например более чем на 12 ч или даже более чем на 24, 48 или 72 ч.

Аспект T-13. Производное в соответствии с любым из аспектов от T-1 до T-12 со временем полужизни в сыворотке у человека по меньшей мере приблизительно 12 ч, предпочтительно по меньшей мере 24 ч, более предпочтительно по меньшей мере 48 ч, даже более предпочтительно по меньшей мере 72 ч или более; например по меньшей мере 5 суток (например, приблизительно 5-10 суток), предпочтительно по меньшей мере 9 суток (например, приблизительно 9-14 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 10 суток (например, приблизительно 10-15 суток) или по меньшей мере приблизительно 11 суток (например, приблизительно 11-16 суток), более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 12 суток (например, приблизительно 12-18 суток или более) или более 14 суток (например, приблизительно 14-19 суток).

Аспект T-14. Производное в соответствии с любым из аспектов от T-1 до T-13, которое представляет собой пегилированное производное.

Аспект T-15. Соединение или конструкция, которые содержат или, по существу, состоят из одного или нескольких производных в соответствии с любым из аспектов от T-1 до T-14, и, необязательно, дополнительно содержат одну или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц, необязательно связанных посредством одного или нескольких линкеров.

Аспект T-16. Соединение или конструкция в соответствии с аспектом T-15, в которых указанные одна или несколько других групп, остатков, молекул или связывающих единиц представляют собой аминокислотные последовательности.

Аспект T-17. Соединение или конструкция в соответствии с аспектом T-16, в которых указанные один или несколько линкеров, если присутствуют, представляют собой одну или несколько аминокислотных последовательностей.

Аспект T-18. Нуклеиновая кислота, кодирующая соединение или конструкцию в соответствии с аспектом T-16 или T-17.

Аспект T-19. Композиция, содержащая по меньшей мере одно производное по любому из аспектов от T-1 до T-14, соединение или конструкцию в соответствии с любым из аспектов от T-15 до T-17 или нуклеиновую кислоту или нуклеотидную последовательность в соответствии с аспектом T-18.

Изобретение далее проиллюстрировано посредством приведенных ниже неограничивающих примеров и неограничивающих фигур. Последовательности аминокислотных последовательностей по изобретению и полипептидов по изобретению, на которые ссылаются в примерах, приведены в списке последовательностей, а также на фиг. 5-8.

Описание чертежей

Фиг. 1 - иллюстративный график определения IC₅₀ нанотел класса 2 в Alphascreeen для блокирования взаимодействия hIL-17A - hIL-17RA.

Фиг. 2 - секреция IL-6 клетками HT-1080, стимулированными IL-17A. Характерные кривые зависимости "доза-эффект" для секреции IL-6 клетками HT-1080 в присутствии 0,3 мкг/мл рекомбинантного IL-17A человека и различных концентраций нанотел или эталонного соединения mAb02. Результаты представлены в виде средней секреции IL-6 и STD.

Фиг. 3 - секреция IL-6 клетками HT-1080, стимулированными IL-17F. Характерные кривые зависимости "доза-эффект" для секреции IL-6 клетками HT-1080 в присутствии 4,5 мкг/мл рекомбинантного IL-17F человека и различных концентраций нанотел или эталонного соединения mAb B-E52. Результаты представлены в виде средней секреции IL-6 и STD.

Фиг. 4 - секреция IL-6 клетками HT-1080, стимулированными IL-17A/F. Характерные кривые зависимости "доза-эффект" для секреции IL-6 клетками HT-1080 в присутствии 1,5 мкг/мл рекомбинантного IL-17A/F человека и различных концентраций нанотел или эталонного соединения mAb02. Результаты представлены в виде средней секреции IL-6 и STD.

Фиг. 5 - аминокислотные последовательности нанотел класса 1, класса 2, класса 3 и класса 4.

Фиг. 6 - аминокислотные последовательности некоторых предпочтительных, но неограничивающих примеров полипептидов по изобретению.

Фиг. 7 - аминокислотные последовательности некоторых предпочтительных, но неограничивающих примеров гуманизированных и/или содержащих оптимизированную последовательность аминокислотных последовательностей по изобретению.

Фиг. 8 - аминокислотные последовательности некоторых предпочтительных, но неограничивающих примеров полипептидов по изобретению, которые основаны на гуманизированных и/или содержащих

оптимизированную последовательность аминокислотных последовательностей по изобретению.

Фиг. 9 - аминокислотные последовательности некоторых реагентов и эталонных материалов, используемых в примерах.

Фиг. 10 - сенсограмма эксперимента по связыванию эпитопов, где IL-17A был иммобилизован, 01A01 был связан, и оценивали связывание второго тестируемого нанотела (см. таблицу справа).

Фиг. 11 - сенсограмма эксперимента по связыванию эпитопов, где IL-17F был иммобилизован, 07B11 был связан, и оценивали связывание второго тестируемого нанотела (см. таблицу справа).

Фиг. 12 - уровни КС в сыворотке после подкожного введения rhIL-17A (A) или rhIL-17F (B) в группах по 5 мышей BALB/c, которым ранее внутривенно вводили указанные дозы нанотела IL17MS3086, эталонных положительных контролей mAb02 (A), mAb B-F60 (B), mAb03 (A, B) или отрицательных контролей нанотела (ALB11) или антитела (hIgG1) (A, B). Результаты выражены в виде среднего $\pm$ SEM группы. Статистические анализы проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующим апостериорным критерием Даннета и приведены значимые величины. Как использовано на всем протяжении этого описания, "Alb11" относится к нанотелу, которое специфически связывается с сывороточным альбумином человека (HSA). ISV, содержащие последовательность Alb11, обладают более длительной биологической полужизнью, т.е. увеличенным периодом полужизни (HLE).

Фиг. 13 - средние (со ст. откл., если $n=3$) профили сывороточной концентрации-времени IL17MS3086 после однократной в/в болюсной дозы при 2 мг/кг ($n=2$) и 6 мг/кг ($n=3$) или однократной п/к дозы при 6 мг/кг ($n=3$), соответственно, у самок яванского макака.

Фиг. 14 - балльная оценка артрита исследуемых животных. 5-10 самок яванского макака на группу дважды подкожно сенсибилизировали бычьим коллагеном II типа в полном адьюванте Фрейнда и еженедельно подкожно обрабатывали IL17MS3086 (2,8 мг/кг и 10 мг/кг), mAb03 (10 мг/кг) или буфером состава. Дополнительная группа (2 животных) получала тоцилизумаб при 10 мг/кг внутривенно, служа в качестве положительного контроля. Артрит суставов оценивали еженедельно до суток 56, и оценка приведена как среднее $\pm$ SEM.

Фиг. 15 - уровни CRP в сыворотке у исследуемых животных. 5-10 самок яванского макака на группу дважды подкожно сенсибилизировали бычьим коллагеном II типа в полном адьюванте Фрейнда и еженедельно подкожно обрабатывали IL17MS3086 (2,8 мг/кг и 10 мг/кг), mAb03 (10 мг/кг) или буфером состава. Дополнительная группа (2 животных) получала тоцилизумаб при 10 мг/кг внутривенно, служа в качестве положительного контроля. Уровни CRP в сыворотке измеряли еженедельно до суток 56 и регистрировали как мг/дл. Результаты представлены как среднее $\pm$ SEM.

Фиг. 16 - радиологическая оценка передних и задних лап исследуемых животных. 5-10 самок яванского макака на группу дважды подкожно сенсибилизировали бычьим коллагеном II типа в полном адьюванте Фрейнда и еженедельно подкожно обрабатывали IL17MS3086 (2,8 мг/кг и 10 мг/кг), mAb03 (10 мг/кг) или буфером состава. Дополнительная группа (2 животных) получала тоцилизумаб при 10 мг/кг внутривенно, служа в качестве положительного контроля. Оценивали сужение и атрофию суставной щели (показатель A) (A) и эрозию кости или разрушение структуры сустава, сопровождаемое эрозией кости (показатель B) (B). Результаты для каждой отдельной оценки приведены как среднее $\pm$ SEM.

Фиг. 17 - гистологическая оценка всех исследуемых животных. 5-10 самок яванского макака на группу дважды подкожно сенсибилизировали бычьим коллагеном II типа в полном адьюванте Фрейнда и еженедельно подкожно обрабатывали IL17MS3086 (2,8 мг/кг и 10 мг/кг), mAb03 (10 мг/кг) или буфером состава. Дополнительная группа (2 животных) получала тоцилизумаб при 10 мг/кг внутривенно, служа в качестве положительного контроля. После некропсии на сутки 57 получали образцы на микроскопическом стекле правого запястного и RIP суставов посредством срезов погруженной в парафин ткани и окрашивания гематоксилином-эозином и сафранином-О. Приведена частота суставов с более высокими степенями для каждого параметра в процентах. Более высокие степени определяли как оценки + и 2+.

Фиг. 18 - оценка общего состояния исследуемых животных. 5-10 самок яванского макака на группу дважды подкожно сенсибилизировали бычьим коллагеном II типа в полном адьюванте Фрейнда и еженедельно подкожно обрабатывали IL17MS3086 (2,8 мг/кг и 10 мг/кг), mAb03 (10 мг/кг) или буфером состава. Дополнительная группа (2 животных) получала тоцилизумаб при 10 мг/кг внутривенно, служа в качестве положительного контроля. Определяли то, как животные перемещались и повисали на прутьях своих клеток и еженедельно оценивали на основе критериев, описанных в табл. 40. Результаты приведены как среднее $\pm$ SEM для каждой группы.

Примеры

Пример 1. Продукция и очистка иммуногенов IL-17A и IL-17F.

IL-17A человека экспрессировали посредством трансфекции клеток Hek293 плазмидной ДНК, кодирующей секретлируемую форму IL-17A человека (номер доступа GenBank U32659 и кодирующая последовательность в приложении) с С-концевым удлинением 6-His. В кратком изложении, клетки в суспензии среды DMEM:F12 (Invitrogen), содержащей 4 мл/л инсулина-трансферрина-селена-добавки X (Invitrogen) и 1% эмбриональную телячью сыворотку (Invitrogen), инкубировали со смесью плазмидной ДНК и полиэтиленимином (PolySciences). Через 90 мин трансфицированные клетки разбавляли 1:1 в сре-

де Freestyle (Invitrogen) и в орбитальном шейкере при 37°C помещали в инкубатор с 5% CO₂ при перемешивании при 160 об/мин. Супернатант собирали через 6 суток и стерильно фильтровали через мембранный картридж 0,22 мкм (Millipore). Рекомбинантный белок очищали на колонке для металлохелатной аффинной хроматографии Poros 20 MC (Applied Biosystems), заполненной ионами Ni, с последующей эксклюзионной хроматографией в PBS на колонке HiLoad Superdex 75 Prepgrade 16/60 из GE Healthcare.

IL-17F человека (номер доступа GenBank AF384857 и кодирующая последовательность в приложении) экспрессировали в виде меченого 6-His на C-конце белка и очищали в тех же условиях, как описано для IL-17A человека.

Пример 2. Иммунизация.

Трех лам (346, 347 и 374) иммунизировали рекомбинантным IL-17A человека с целью индукции обусловленного антителами из тяжелых цепей гуморального иммунного ответа. На сутки О посредством внутримышечной инъекции в шею вводили 100 мкг антигена, эмульгированного в полном адьюванте Фрейнда. Через каждые 2 недели вводили три дополнительных инъекции, соответственно, 50, 25 и 25 мкг антигена, эмульгированного в неполном адьюванте Фрейнда. Через 4 и 8 суток после последней вторичной инъекции получали периферическую кровь лимфоциты (PBL) и биопсию лимфоузлов (LN).

Подобным образом, трех лам (292, 293 и 399) иммунизировали рекомбинантным IL-17F человека и двух лам (190b и 344) иммунизировали рекомбинантным гетеродимером IL-17A/F человека, продуцированного *E. coli* и приобретенного в R&D Systems (Кат № 5194-IL/CF).

В процессе иммунизации контролировали гуморальный иммунный ответ, сравнивая специфичные к антигену титры образца сыворотки, собранной до начала иммунизации (сутки 0) и образца сыворотки, как правило, собираемый после трех введений антигена (сутки 35). В кратком изложении, 96-луночные планшеты Maxisorp (Nunc, Wiesbaden, Germany) покрывали IL-17A, IL-17F или IL-17A/F человека. После блокирования и добавления разбавленных образцов сыворотки присутствие нанотел против IL-17 демонстрировали, используя конъюгированные с HRP (пероксидазой хрена) иммуноглобулины козы против антител лампы (Bethyl Laboratories Inc., Montgomery, Texas USA) и последующую ферментативную реакцию в присутствии субстрата TMB (3,3',5,5'-тетраметилбензидина) (Pierce, Rockford, IL, USA).

Пример 3. Конструирование библиотек.

Мононуклеарные клетки периферической крови получали из образцов крови с использованием фиколла-гипака по инструкциям производителя. Общую РНК, выделенную из этих клеток и из лимфоузлов, использовали в качестве исходного вещества для ПЦР-ОТ для амплификации кодирующих генов нанотел фрагментов. Эти фрагменты клонировали в фагмидный вектор pAX50. Фаг получали по стандартным протоколам (Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, Academic Press; 1st edition (October 28, 1996) Brian K. Kay, Jill Winter, John McCafferty) и после стерилизации фильтрацией хранили при 4°C до дальнейшего использования. Всего конструировали 8 фаговых библиотек (346, 347, 374, 292, 293, 399, 190b и 344) с размерами библиотек от $4,5 \times 10^7$ до 5×10^8 и процентным содержанием вставок в диапазоне 95-100%.

Пример 4. Выбор при поиске нанотел против IL-17A, IL-17F и IL-17A/F.

Для идентификации нанотел, распознающих IL-17A, и/или IL-17F, и/или IL-17A/F человека и яванского макака, фаговые библиотеки инкубировали с растворимым биотинилированным IL-17. IL-17A и IL-17F яванского макака получали в клетках Hek293 и очищали, как описано в примере 1. Оба белка экспрессировали с плазмид, несущих кодирующие последовательности, указанные в приложении с дополнительной 3'-концевой кодирующей 6-His нуклеотидной последовательностью в рамке.

IL-17A яванского макака, IL-17F яванского макака, IL-17A человека, IL-17F человека и IL-17A/F человека биотинилировали с использованием Sulfo-NHS-LC-Biotin (Pierce). Комплексы биотинилированного IL-17 и фага захватывали из раствора на покрытые стрептавидином магнитные гранулы. После интенсивной отмывки PBS/0,05% Tween 20, связанный фаг элюировали посредством добавления трипсина (1 мг/мл). Фаговые библиотеки 292, 293 и 399 инкубировали с растворимым биотинилированным IL-17A человека и яванского макака (100, 10 и 1 нМ). фагов библиотеки 346, 347 и 374 с растворимым биотинилированным IL-17F человека и яванского макака (100, 10 и 1 нМ) и фаговые библиотеки 190b и 344 с растворимым биотинилированным IL-17A/F человека, IL-17A яванского макака и IL-17F яванского макака (100 и 1 нМ). Продукцию этого отбора 1 цикла анализировали на коэффициент обогащения (количество фага, присутствующего в элюате относительно контроля) и накалывали индивидуальные клоны из этих продуктов первого цикла.

Для идентификации нанотел против IL-17F человека, связывающихся с высокой аффинностью, фаговые библиотеки 292, 293 и 399 инкубировали с низкими концентрациями растворимого биотинилированного hIL-17A/F (1000, 100, 10, 1 и 0,1 пМ). Из этих продуктов также накалывали отдельные клоны. Для конкретной идентификации нанотел, распознающих IL-17A и IL-17F и IL-17A/F человека, использовали две стратегии. В первой стратегии продукты фаговых библиотек 346, 347 и 374, выбранные на IL-17A человека и яванского макака (100, 10 и 1 нМ), инкубировали с биотинилированным hIL-17F (10-1 нМ), а продукты фаговых библиотек 292, 293 и 399, выбранные на IL-17F человека и яванского макака (100, 10 и 1 нМ), инкубировали с биотинилированным hIL-17A (10-1 нМ). Во второй стратегии фаговые

библиотеки 346, 347 и 374 отбирали на биотинилированном hIL-17F (10-1 нМ), а фаговые библиотеки 292, 293 и 399 на биотинилированном hIL-17A (10-1 нМ) в двух последовательных циклах отбора в одинаковых условиях. После этого 2 цикла отбора накалывали отдельные клоны.

Все отдельные клоны выращивали в 96-луночных планшетах с глубокими лунками (объемом 1 мл). Экспрессию нанотел индуцировали, добавляя IPTG до конечной концентрации 1 мМ. Получали периплазматические экстракты посредством замораживания клеточных осадков и растворяя их в 100 мкл PBS. Клеточный дебрис удаляли посредством центрифугирования. В качестве контроля выбранные периплазматические экстракты подвергали скринингу в ELISA на связывание с hIL-17A, hIL-17F или hIL-17A/F. В кратком изложении, на планшетах для микротитрования polysorp (Nunc) иммобилизовали нейтравидин (1 мкг/мл). Свободные участки связывания блокировали с использованием 4% Marvel в PBS. Биотинилированный hIL-17 (10 нМ) в течение 1 ч инкубировали в 0,1% Marvel/PBS/0,05% Tween 20 с разбавленными 1/10 периплазматическими экстрактами, содержащими нанотела различных клонов, а затем захватывали посредством иммобилизованного нейтравидина. После инкубации и отмывки, связывание нанотел детектировали с использованием антител к с-Мус, с последующими конъюгированным с HRP антителом к антителам мыши и субстратом TMB.

Пример 5. Скрининг на блокирующие нанотела в периплазматических экстрактах посредством анализов Alphascreen с использованием IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека.

Для определения блокирующей способности нанотел периплазматические экстракты подвергали скринингу в конкурентных анализах на основе белка с использованием технологии Alphascreen (PerkinElmer, Waltham, MA USA). Анализы Alphascreen настраивали для различных комбинаций лигандов IL-17A, IL-17F и IL-17A/F с IL-17RA или IL-17RC.

hIL-17A и hIL-17F, полученные в клетках Hek293, и hIL-17A/F, полученный в E. coli, биотинилировали с использованием Sulfo-NHS-LC-Biotin (Pierce). Химеры IL-17A-Fc человека (R&D Systems) и hIL-17RC-Fc (полученные в клетках Hek293, как описано в примере 1) захватывали на покрытых нанотелом против Fc человека акцепторных гранулах, которые получали по инструкциям производителя (PerkinElmer). Для оценки блокирующей способности нанотел против IL-17 разведения периплазматических экстрактов предварительно инкубировали с биотинилированным hIL-17. К этой смеси добавляли IL-17R-Fc, акцепторные гранулы и покрытые стрептавидином донорные гранулы и дополнительно инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре. Измеряли флуоресценцию с использованием планшетного спектрофотометра Envision Multilabel (PerkinElmer) с использованием длины волны возбуждения 680 нм и длины волны испускания 520 нм. Снижение сигнала Alphascreen указывает на блокирование связывания биотинилированного hIL-17 с рецептором IL-17 нанотелом, присутствующим в периплазматическом экстракте.

После этого процесса скрининга идентифицировано несколько классов нанотел: 1) нанотела, ингибирующие взаимодействие с обоими рецепторами IL-17A, но не IL-17A/F, 2) нанотела, ингибирующие взаимодействие с обоими рецепторами IL-17A и IL-17A/F, 3) нанотела, ингибирующие взаимодействие с обоими рецепторами IL-17F, некоторые из них частично блокируют IL-17A/F, и 4) нанотела, ингибирующие взаимодействие с обоими рецепторами IL-17A и IL-17F (называемые перекрестно реагирующими с IL-17A и IL-17F нанотелами) (табл. 1).

Таблица 1

Классы нанотел, идентифицированные при процедуре скрининга с использованием анализов Alphascreen (+ = блокирование; - = отсутствие блокирования; пусто = не тестировали)

Класс нанотел	Свойства	Анализ Alphascreen					
		IL-17A-IL-17A	IL-17A-IL-17RC	IL-17F-IL-17A	IL-17F-IL-17RC	IL-17A/F-IL-17A	IL-17A/F-IL-17RC
		IL-17A	IL-17RC	IL-17A	IL-17RC	-IL-17A	-IL-17RC
Класс 1	Нанотела против IL-17A	+	+			-	-
Класс 2	Нанотела против IL-17A и IL-17A/F	+	+			+	+
Класс 3	Нанотела против IL-17F типа 1			+	+	-	-
	Нанотела против IL-17F типа 2			+	+	+	-
	Нанотела против IL-17F типа 3			+	+	-	+
Класс 4	Перекрестно реагирующие нанотела: против IL-17A, IL-17F и IL-17A/F	+			+	+	+

Пример 6. Анализ периплазматических экстрактов на IL-17A, IL-17F и IL-17A/F поверхностным

плазмонным резонансом.

Скорости обратных реакций периплазматических экстрактов, содержащих нанотела против IL-17, измеряли посредством поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с использованием устройства Biacore T100. IL-17A, IL-17F или IL-17A/F человека ковалентно связывали с сенсорной поверхностью чипа CM посредством связывания аминов с использованием EDC/NHS для активации и HCl для деактивации. Для обеспечения связывания с антигеном на чипе периплазматические экстракты, содержащие нейтрализующие IL-17 нанотела, инъецировали в течение 2 мин при скорости потока 45 мкл/мин. Затем над поверхностью чипа при той же скорости потока пропускали связывающий буфер без периплазматических экстрактов для обеспечения произвольной диссоциации связанного нанотела. На основе сенсограмм, полученных для различных периплазматических экстрактов, рассчитывали значения k_{off} (K_d). На основе этого анализа Biacore выбирали и секвенировали набор нанотел против IL-17 с наилучшими скоростями обратных реакций. Анализ последовательностей выявил 63 различных семейства нейтрализующих нанотел против IL-17 (табл. 2). На фиг. 5 приведены выбранные последовательности нанотел от класса 1 до класса 4.

Таблица 2

Количества семейств нанотел в типах нанотел против IL-17

Класс нанотел	Описание	Количество семейств
Класс 1	Нанотела против IL-17A	14
Класс 2	Нанотела против IL-17A и IL-17A/F	22
Класс 3	Нанотела против IL-17F	18
Класс 4	Перекрестно реагирующие нанотела: против IL-17A, IL-17F и IL-17A/F	9

Периплазматические экстракты, содержащие нанотела класса 1, класса 2, класса 3 и класса 4, также подвергали скринингу на перекрестную реактивность в отношении IL-17 яванского макака, определяя скорости обратных реакций в отношении иммобилизованных IL-17A и IL-17F яванского макака. Показано, что все тестируемые экстракты, содержащие нанотела класса 1, класса 2 и класса 4, также связывались с IL-17A яванского макака, и показано, что нанотела классов 3 и 4 связывались с IL-17F яванского макака.

Пример 7. Экспрессия и очистка нанотел против IL-17A, IL-17F и IL-17A/F различных классов.

Для экспрессии и очистки выбирали пять нанотел класса 1, 12 нанотел класса 2, 10 нанотел класса 3 и 9 перекрестно реагирующих нанотел класса 4, на основе их блокирующей способности в анализах Alphascreen и значений скоростей обратных реакций. Последовательности представлены на фиг. 5.

Нанотела экспрессировали в клетках E. coli TG1 в качестве меченных с-мус, His-6 белков в объеме культуры 500 мл.

Экспрессию индуцировали посредством добавления 1 mM IPTG и позволяли проходить в течение 3 ч при 37°C. После центрифугирования культур клеток получали периплазматические экстракты посредством замораживания-оттаивания осадков и ресуспендирования в dPBS. Эти экстракты использовали в качестве исходного вещества для аффинной хроматографии на иммобилизованном металле (IMAC) с использованием необработанных колонок HisTrap FF (GE Healthcare). Нанотела элюировали с колонки 250 mM имидазолом, а затем обессоливали в отношении dPBS. Для анализов на основе клеток, описанных ниже, удаляли эндотоксины посредством гель-фильтрации в присутствии 50 mM октил-β-D-глюкопиранозид (OGP, Sigma). Уровни эндотоксинов определяли с использованием стандартного анализа LAL.

Пример 8. Блокирующая способность очищенных нанотел в анализах Alphascreen с использованием IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека.

Блокирующую способность 36 очищенных нанотел, принадлежащих к 4 различным классам, как описано в примере 7, определяли в конкурентных анализах на основе белков Alphascreen для всех возможных взаимодействий между лигандами IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека и рецепторами IL-17RA и IL-17RC человека. Серийные разведения каждого из нанотел, начиная от 250 nM вниз до 1 nM, предварительно инкубировали с биотинилированным лигандом hIL-17 в течение 15 мин при комнатной температуре (RT). Концентрации лигандов, используемых в различных настройках анализа, перечислены в табл. 3. К этой смеси добавляли слияния IL-17RA или IL-17RC с Fc, акцепторные гранулы и донорные гранулы со стрептавидином и дополнительно инкубировали в течение 1 ч при RT. Для нанотел, блокирующих специфическое взаимодействие лиганд-рецептор, наблюдали зависимое от дозы снижение интенсивности флуоресценции при 520 нм, и можно было определять значение IC_{50} для каждого блокирующего нанотела (табл. 4). Иллюстративный график, иллюстрирующий блокирующую способность выбранных нанотел против IL-17 для взаимодействия IL-17A - IL-17RA, представлен на фиг. 1. В качестве положительного контроля включали специфичный к IL-17A и IL-17A/F фрагмент Fab Fab01.

Таблица 3

Обзор концентраций лигандов IL-17 и рецепторов IL-17, используемых в анализах Alphascreen для определения значений IC₅₀ нанотел

Настройки анализа Комбинация лиганд - рецептор	Концентрация лиганда (нМ)	Концентрация рецептора (нМ)
IL-17A - IL-17RA	0,26	0,26
IL-17A - IL-17RC	0,64	0,64
IL-17F - IL-17RA	1,60	0,64
IL-17F - IL-17RC	0,10	0,26
IL-17A/F - IL-17RA	0,64	1,60
IL-17A/F - IL-17RC	0,10	0,26

Таблица 4

Значения IC₅₀ для различных блокирующих нанотел против IL-17, как определено в различных анализах Alphascreen
н./б.: неблокирующие; Н./В.: невыполнимо

Нанотело	Класс нанотел	IL-17A - IL- 17RA (IC ₅₀ в пМ)	IL-17A - IL- 17RC (IC ₅₀ в пМ)	IL-17F - IL- 17RA (IC ₅₀ в пМ)	IL-17F - IL- 17RC (IC ₅₀ в пМ)	IL-17A/F - IL- 17RA (IC ₅₀ в пМ)	IL- 17A/F - IL-17RC (IC ₅₀ в пМ)
01D02	класс 1	130	363	н./б.	н./б.	71660	94650
01G03	класс 1	325	1147	н./б.	н./б.	н./б.	н./б.
02E03	класс 1	256	778	н./б.	н./б.	н./б.	>250000
03B08	класс 1	80	384	н./б.	н./б.	н./б.	н./б.
03E05	класс 1	58	380	н./б.	н./б.	> 250000	н./б.
01D06	класс 2	618	1521	н./б.	н./б.	401	198
02A08	класс 2	126	419	> 250000	> 250000	170	87
02A10	класс 2	115	381	н./б.	н./б.	199	248
03C07	класс 2	84	371	н./б.	н./б.	366	565
04A02	класс 2	399	837	н./б.	н./б.	1960	3173
04B09	класс 2	67	252	н./б.	н./б.	121	169

04B10	класс 2	68	366	н./б.	н./б.	95	52
04F09	класс 2	99	468	н./б.	н./б.	3978	3149
04G01	класс 2	14	217	н./б.	н./б.	67	39
09D10	класс 2	211	1122	н./б.	69400	9020	8655
09G10	класс 2	46	323	н./б.	н./б.	101	120
11A06	класс 2	81	461	н./б.	>250000	140	39
06E11	класс 3	н./б.	н./б.	799	71	н./б.	952
07B09	класс 3	н./б.	н./б.	614	19	частично	89
07B11	класс 3	н./б.	н./б.	1104	15	частично	58
08A08	класс 3	н./б.	н./б.	3843	1297	н./б.	19660
08B07	класс 3	н./б.	н./б.	761	108	> 250000	н./б.
08H01	класс 3	н./б.	н./б.	323	33	частично	259
12A09	класс 3	н./б.	н./б.	1842	612	> 250000	33210
16A04	класс 3	>77870	>131000	1093	52	90360	389
24B08	класс 3	н./б.	н./б.	491	42	138	частично
24G10	класс 3	н./б.	н./б.	476	23	частично	47
01A01	класс 4	51	211	16180	13500	102	46
10A04	класс 4	78140	>250000	746	220	37740	15640
11C08	класс 4	2119	4798	2255	488	3252	1162
13B03	класс 4	56	202	2114	848	79	31
13B05	класс 4	118	249	719	603	464	944
13E02	класс 4	67	187	395	214	71	117
13E05	класс 4	159	1091	1100	286	862	315
17C01	класс 4	66	169	296	168	264	801
18B05	класс 4	173	408	36640	13260	231	87
Fab01	н./в.	787	1115	н./б.	н./б.	2736	5842

Пример 9. Блокирующая активность очищенных нанотел в анализе на основе клеток с использованием IL-17A, IL-17F и IL-17A/F.

Блокирующую способность очищенных нанотел также оценивали с использованием анализа на основе клеток HT-1080, в котором изучают зависимость от дозы ингибирование индуцированной hIL-17A, hIL-17F или hIL-17A/F секреции IL-6 клетками HT-1080. Экспериментальный протокол являлся следующим: клетки фибросаркомы человека HT-1080 (номер ATCC CCL-121) выращивали в минимальной поддерживающей среде Дульбекко (DMEM), дополненной 10% эмбриональной телячьей сывороткой (FBS) и 1% раствором пенициллина-стрептомицина (P-S), обозначаемой как полная среда, при 37°C с 5% CO₂. Для получения клеток и еженедельного пересева клетки высевали при 2×10⁴ клеток/см² во флаконы для культивирования T75.

Для анализов стимуляции *in vitro* 3×10⁴ клеток HT-1080 в 100 мкл DMEM и 2,5% ЭТС и 0,25% P-S распределяли в плоскодонных 96-луночных планшетах и инкубировали в течение ночи. На сутки стимуляции заменяли 80 мкл среды. Проводили семь серийных разведений 1:3 нанотел или эталонного соединения против IL-17A mAb02 в PBS, начиная от исходной концентрации 100 мкг/мл и 10 мкл каждого раствора с разведенными нанотелом или mAb02 добавляли в лунку с клетками HT-1080 в двух повторениях для нанотел и в четырех повторениях для mAb02. Конечные концентрации нанотел или эталонного соединения mAb02 находились в диапазоне от 10 до 0,0045 мкг/мл. Проводили семь серийных разведений 1:3 эталонного соединения mAb против IL-17F mAb B-E52 (Diacclone, Besangon, France) в PBS, начиная от исходной концентрации 500 мкг/мл, и 10 мкл каждого раствора с разведенным mAb B-E52 добавляли в лунку с клетками HT-1080. Конечные концентрации эталонного соединения mAb B-E52 находились в диапазоне от 100 до 0,045 мкг/мл. В контрольные лунки только для стимула или только для носителя добавляли 10 мкл PBS в четырех повторениях.

Перед добавлением специфических стимулов планшеты инкубировали в течение 30 мин при 37°C с 5% CO₂. Для стимуляции IL-17A человека в каждую соответствующую лунку добавляли 10 мкл раствора рекомбинантного IL-17A человека в PBS при 3 мкг/мл (конечная концентрация IL-17A: 0,3 мкг/мл). Для стимуляции IL-17F человека в каждую соответствующую лунку добавляли 10 мкл раствора рекомбинантного IL-17F человека в PBS при 45 мкг/мл (конечная концентрация IL-17A: 4,5 мкг/мл). Для стимуляции IL-17A/F человека в каждую соответствующую лунку добавляли 10 мкл раствора рекомбинантного IL-17A/F человека в PBS при 15 мкг/мл (конечная концентрация IL-17A: 1,5 мкг/мл). В лунки отрица-

тельного контроля только для носителя добавляли 10 мкл PBS.

Планшеты инкубировали в течение 24 ч при 37°C с 5% CO₂. Супернатанты собирали, переносили в 96-луночные планшеты и хранили при -80°C. Уровни IL-6 человека в разведенных 1:3 или 1:4 супернатантах (разбавитель представляет собой PBS с 1% бычьим сывороточным альбумином) определяли с использованием коммерческого анализа IL-6 посредством ELISA (Human DuoSet IL-6 ELISA, R&D Systems, Abingdon, UK) по инструкциям производителя. Регистрацию оптической плотности (OD) при 450 нМ проводили с использованием сканера Fluostar OPTIMA (BMG Labtech, Offenburg, Germany) и концентрацию IL-6 в каждом образце экстраполировали на основании четырехпараметрического подбора логистической кривой, рассчитываемой с использованием показателей OD внутренних стандартов IL-6.

Для анализов данных молярную массу соединений нанотел для каждого нанотела определяли как 15 кДа. Молекулярную массу для эталонных mAb определяли как 150 кДа. Для каждого эксперимента рассчитывали IC₅₀ и E_{max} на основании парных данных концентраций соединения/концентраций IL-6 с использованием программного обеспечения XLFit (ID Business Solutions, Guilford, UK) и четырехпараметрического подбора логистической кривой, как приведено в следующей формуле: $y = A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D)))$, где A представляет собой минимальный y, B представляет собой максимальный y, C представляет собой log IC₅₀, и D представляет собой угловой коэффициент. Средние IC₅₀, E_{max} и соответствующее STD для каждого соединения в нескольких экспериментах рассчитывали с использованием XLFit.

Как представлено на фиг. 2 и в табл. 5, нанотела класса 1, класса 2 и класса 4, а также эталонное соединение mAb02 ингибировали секрецию IL-6 в клетках HT-1080, индуцированную IL-17A, зависимым от концентрации образом.

Как представлено на фиг. 3 и в табл. 6, нанотела класса 3 и класса 4 (за исключением 17C01 и 18B05), а также эталонное соединение B-E52 ингибировали секрецию IL-6 в клетках HT-1080, индуцированную IL-17F, зависимым от концентрации образом.

Как представлено на фиг. 4 и в табл. 7, нанотела класса 2, класса 3 (за исключением 08A08 и 08B07) и класса 4, а также эталонное соединение mAb02 ингибировали секрецию IL-6 в клетках HT-1080, индуцированную IL-17A/F, зависимым от концентрации образом.

Таблица 5

Ингибирование индуцированной IL-17A продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 одновалентными нанотелами против IL-17 и эталонными соединениями

Результаты приведены в виде среднее $\pm$ SD из N экспериментов,
б./и.: без ингибирования; н./в.: невыполнимо

Нанотело	Класс нанотел	Стимул IL-17A		
		IC ₅₀ (нМ)	E _{max} (%)	N
02E03	Класс 1	16, 4 $\pm$ 9	99, 3 $\pm$ 5	3
03E05	Класс 1	4, 0 $\pm$ 3	100, 0 $\pm$ 6	2
01D02	Класс 1	4, 8 $\pm$ 3	101, 0 $\pm$ 6	2
01G03	Класс 1	68, 3 $\pm$ 33	85, 7 $\pm$ 5	3
03B08	Класс 1	3, 6 $\pm$ 3	98, 5 $\pm$ 5	2
02A08	Класс 2	8, 8 $\pm$ 7	102, 7 $\pm$ 10	3
03C07	Класс 2	4, 2 $\pm$ 4	101, 0 $\pm$ 6	3
04B09	Класс 2	3, 2 $\pm$ 3	105, 7 $\pm$ 6	3
04G01	Класс 2	5, 4 $\pm$ 7	112, 7 $\pm$ 9	3
09G10	Класс 2	4, 0 $\pm$ 3	99, 0 $\pm$ 0	2
11A06	Класс 2	4, 0 $\pm$ 3	98, 5 $\pm$ 2	2
01D06	Класс 2	42, 8 $\pm$ 38	98, 3 $\pm$ 5	3
02A10	Класс 2	4, 3 $\pm$ 4	103, 7 $\pm$ 9	3
04A02	Класс 2	12, 6 $\pm$ 10	102 $\pm$ 7	3
04B10	Класс 2	5, 1 $\pm$ 4	99, 7 $\pm$ 12	3
04F09	Класс 2	9, 7 $\pm$ 10	111, 3 $\pm$ 13	3
09D10	Класс 2	8, 5 $\pm$ 5	93, 5 $\pm$ 1	2
06E11	Класс 3	б./и.	б./и.	2
07B09	Класс 3	б./и.	б./и.	2
07B11	Класс 3	б./и.	б./и.	2
08H01	Класс 3	б./и.	б./и.	2
16A04	Класс 3	б./и.	б./и.	2

24B08	Класс 3	б./и.	б./и.	2
24G10	Класс 3	б./и.	б./и.	2
08A08	Класс 3	б./и.	б./и.	2
08B07	Класс 3	б./и.	б./и.	2
12A09	Класс 3	б./и.	б./и.	2
01A01	Класс 4	2,7±2	104,0±10	3
11C08	Класс 4	130,1±64	73,0±1	2
13B03	Класс 4	2,9±1	101,0±0	2
13B05	Класс 4	14,0±3	104,0±6	4
13E02	Класс 4	3,5±2	102,5±2	2
13E05	Класс 4	12,3±1	101,0±7	2
17C01	Класс 4	15,1±5	104,8±4	4
10A04	Класс 4	65,4±17	31,5±6	2
18B05	Класс 4	20,6±21	103,7±3	3
mAb02	н./в.	3,9±4	99,1±5	20
mAb B-E52	н./в.	б./и.	б./и.	2

Таблица 6

Ингибирование индуцированной IL-17F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080
одновалентными нанотелами против IL-17 и эталонными соединениями
Результаты приведены в виде среднего $\pm$ SD N из экспериментов,
б./и.: ингибирования не наблюдали; н./в.: невыполнимо

Нанотело	Класс нанотел	Стимул IL-17F		
		IC ₅₀ (нМ)	E _{max} (%)	N
02E03	Класс 1	б./и.	б./и.	3
03E05	Класс 1	б./и.	б./и.	2
01D02	Класс 1	б./и.	б./и.	2
01G03	Класс 1	б./и.	б./и.	3
03B08	Класс 1	б./и.	б./и.	2
02A08	Класс 2	б./и.	б./и.	2
03C07	Класс 2	б./и.	б./и.	2
04B09	Класс 2	б./и.	б./и.	2
04G01	Класс 2	б./и.	б./и.	2

09G10	Класс 2	б./и.	б./и.	2
11A06	Класс 2	б./и.	б./и.	2
01D06	Класс 2	б./и.	б./и.	2
02A10	Класс 2	б./и.	б./и.	2
04A02	Класс 2	б./и.	б./и.	2
04B10	Класс 2	б./и.	б./и.	2
04F09	Класс 2	б./и.	б./и.	2
09D10	Класс 2	б./и.	б./и.	2
06E11	Класс 3	88,0±20	70,5±6	2
07B09	Класс 3	75,1±15	71,8±12	4
07B11	Класс 3	57,5±23	67,0±14	2
08H01	Класс 3	85,5±16	71,5±1	2
16A04	Класс 3	112,4±22	100,0±6	4
24B08	Класс 3	141,4±43	84,3±9	4
24G10	Класс 3	90,6±17	78,8±7	4
08A08	Класс 3	206,0±105	62,0±8	2
08B07	Класс 3	174,5± 23	77,0±14	2
12A09	Класс 3	105,2±28	91,0±10	2
01A01	Класс 4	206,2±87	47,2±12	3
11C08	Класс 4	222,6±86	84,5±15	2
13B03	Класс 4	149,2±38	85,5±11	2
13B05	Класс 4	249,0±137	43,0±8	4
13E02	Класс 4	103,6±15	86,5±11	2
13E05	Класс 4	115,0±9	123,5±22	2
17C01	Класс 4	б./и.	б./и.	4
10A04	Класс 4	111,9±14	102,0±10	2
18B05	Класс 4	б./и.	б./и.	3
mAb02	н./в.	б./и.	б./и.	2
mAb B-E52	н./в.	62,4±27	84,0±11	20

Таблица 7

Ингибирование индуцированной IL-17A/F продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 одновалентными нанотелами против IL-17 и эталонными соединениями

Результаты приведены в виде среднего $\pm$ SD из N экспериментов,
б./и.: ингибирования не наблюдали; н./п.: не проводили; н./в.: невыполнимо

Нанотело	Класс нанотел	Стимул IL-17A/F		
		IC ₅₀ (нМ)	E _{max} (%)	N
02E03	Класс 1	б./и.	б./и.	3
03E05	Класс 1	б./и.	б./и.	2
01D02	Класс 1	б./и.	б./и.	2
01G03	Класс 1	б./и.	б./и.	3
03B08	Класс 1	б./и.	б./и.	2
02A08	Класс 2	26,2 $\pm$ 16	109,0 $\pm$ 1	2
03C07	Класс 2	27,8 $\pm$ 17	102,0 $\pm$ 3	2
04B09	Класс 2	22,7 $\pm$ 10	102,0 $\pm$ 17	2
04G01	Класс 2	34,7 $\pm$ 0,5	104,5 $\pm$ 2	2
09G10	Класс 2	22,2 $\pm$ 0,1	107,5 $\pm$ 25	2
11A06	Класс 2	28,1 $\pm$ 8	106,5 $\pm$ 9	2
01D06	Класс 2	51,1 $\pm$ 0,2	79,5 $\pm$ 23	2
02A10	Класс 2	29,2 $\pm$ 16	98,5 $\pm$ 9	2
04A02	Класс 2	70,4 $\pm$ 4	67,6 $\pm$ 23	2
04B10	Класс 2	59,2 $\pm$ 13	97,0 $\pm$ 23	2
04F09	Класс 2	45,9 $\pm$ 37	68,5 $\pm$ 6	2
09D10	Класс 2	124,4 $\pm$ 131	55,0 $\pm$ 7	2
06E11	Класс 3	7,2 $\pm$ 5	57,5 $\pm$ 4	4
07B09	Класс 3	12,4 $\pm$ 9	70,3 $\pm$ 6	4
07B11	Класс 3	15,1 $\pm$ 13	71,0 $\pm$ 1	2
08H01	Класс 3	15,9 $\pm$ 14	62,5 $\pm$ 4	2
16A04	Класс 3	48,2 $\pm$ 32	95,0 $\pm$ 10	4
24B08	Класс 3	18,1 $\pm$ 11	50,5 $\pm$ 18	4
24G10	Класс 3	28,9 $\pm$ 14	72,8 $\pm$ 14	4
08A08	Класс 3	б./и.	б./и.	2
08B07	Класс 3	б./и.	б./и.	2
12A09	Класс 3	100,5 $\pm$ 108	41,5 $\pm$ 4	2
01A01	Класс 4	27,8 $\pm$ 17	102,0 $\pm$ 3	2
11C08	Класс 4	91,2 $\pm$ 4	89,5 $\pm$ 13	2
13B03	Класс 4	26,8 $\pm$ 3	112,5 $\pm$ 13	2
13B05	Класс 4	35,5 $\pm$ 15	108,5 $\pm$ 7	4
13E02	Класс 4	21,7 $\pm$ 4	108,5 $\pm$ 11	2
13E05	Класс 4	26,0 $\pm$ 9	159,5 $\pm$ 35	2
17C01	Класс 4	41,8 $\pm$ 25	107,3 $\pm$ 12	2
10A04	Класс 4	122,1 $\pm$ 19	79,5 $\pm$ 18	2
18B05	Класс 4	37,1 $\pm$ 4	118,0 $\pm$ 1	3
mAb02	н./в.	18,4 $\pm$ 11	91,3 $\pm$ 12	17

Пример 10. Анализ SPR очищенных нанотел в отношении IL-17A, IL-17F и IL-17A/F.

Скорости обратных реакций нанотел против IL-17, продемонстрировавших наилучшую активность в анализах Alphascreen и в клеточных анализах, измеряли посредством SPR с использованием устройства Biacore T100, как описано в примере 6. На основании сенсограмм, полученных для различных нанотел, рассчитывали значения k_{off} , и они приведены в табл. 8.

Таблица 8

Скорости обратных реакций связывающих IL-17 человека нанотел против IL-17,
как определено посредством Biacore

Класс нанотел	Нанотело	k_{off} для hIL-17A (s^{-1})	k_{off} для hIL-17F (s^{-1})	k_{off} для hIL-17A/F (s^{-1})
Класс 1	01D02	4,4E-04*	о.с.*	о.с.*
Класс 1	01G03	4,5E-04*	о.с.*	о.с.*
Класс 1	02E03	9,0E-04*	о.с.*	о.с.*
Класс 1	03B08	1,0E-04*	о.с.*	о.с.*
Класс 1	03E05	1,0E-04*	о.с.*	о.с.*
Класс 2	01D06	9,7E-04*	о.с.*	1,3E-03*
Класс 2	02A08	4,2E-04	о.с.*	1,5E-04
Класс 2	02A10	2,2E-04	о.с.*	2,8E-04
Класс 2	03C07	2,0E-04	о.с.*	7,6E-04
Класс 2	04A02	1,3E-03*	о.с.*	1,1E-02*
Класс 2	04B09	2,7E-04	о.с.*	3,5E-04
Класс 2	04B10	4,0E-04	о.с.*	5,0E-04
Класс 2	04F09	6,3E-04	о.с.*	8,1E-03
Класс 2	04G01	1,8E-04	о.с.*	2,3E-04
Класс 2	09D10	1,5E-04*	о.с.*	1,7E-03*
Класс 2	09G10	1,2E-04	о.с.*	1,3E-04
Класс 2	11A06	1,6E-04	о.с.*	3,8E-05
Класс 3	06E11	о.с.*	3,10E-04	4,4E-03
Класс 3	07B09	о.с.*	1E-03 - 1E-04	1E-03 - 1E-04
Класс 3	07B11	о.с.*	1,50E-04	4,7E-04
Класс 3	08A08	о.с.*	4,8E-02	7,9E-03
Класс 3	08B07	о.с.*	1,9E-03	2,0E-01
Класс 3	08H01	о.с.*	8,8E-04	1,1E-03
Класс 3	12A09	о.с.*	1,0E-02 - 1,0E-03	1,7E-02
Класс 3	16A04	о.с.*	5,30E-04	3,0E-03
Класс 3	24B08	о.с.*	<1,0E-05	<1E-04
Класс 3	24G10	о.с.*	1,6E-04	<1E-04
Класс 4	01A01	8,5E-05	2,6E-02	2,7E-04
Класс 4	10A04	<2E-04*	4,8E-03	1,5E-02
Класс 4	11C08	7,9E-03	1,3E-02	6,3E-03
Класс 4	13B03	6,3E-05	5,8E-03	3,6E-05
Класс 4	13B05	3,0E-04	6,3E-02	6,8E-04
Класс 4	13E02	1,3E-04	3,6E-03	7,1E-05
Класс 4	13E05	1,6E-03	1,3E-02	1,9E-03
Класс 4	17C01	2,9E-04	5,6E-02	7,5E-04
Класс 4	18B05	2,2E-04	1,4E-01	1,2E-04

о.с. = отсутствие связывания (скорости обратных реакций отмеченных * измеряют на периплазматическом экстракте, другие измеряют на очищенном белке)

Пример 11. Перекрестная реактивность нанотел против IL-17 у различных видов.

Связывание выбранной панели нанотел против IL-17 с молекулами IL-17 других видов оценивали с использованием связывания в ELISA. 96-луночные планшеты Maxisorp (Nunc, Wiesbaden, Germany) по-

крывали IL-17A или IL-17F различных видов при 1 мкг/мл в PBS. После блокирования PBS/1% казеином добавляли нанотела против IL-17 в концентрации 250 нМ в PBS/0,1% казеина/0,05% Tween 20. Для детекции использовали конъюгированное с HRP (пероксидазой хрена) антитело к мус (Serotec, MCA 2200P) с использованием в качестве субстрата esTMB. IL-17A, полученный у мартышки, мыши или морской свинки, и IL-17F, полученный у мартышки, мыши и крысы, экспрессировали в тех же условиях, как описано в примере 1 для IL-17A и F человека с использованием клеток Hek293. IL-17A крысы, продуцируемый E. coli, приобретали в eBioscience (San Diego, CA, USA; Кат. № 14-8170). Все нанотела класса 2 и класса 4 перекрестно реагировали с IL-17A мартышки, но не с IL-17A мыши, крысы или морской свинки (табл. 9). Большинство нанотел класса 3 и класса 4 перекрестно реагировали с IL-17F мартышки, хотя и в меньшей степени. Эти нанотела не реагировали перекрестно с IL-17F мыши или крысы (табл. 10).

Таблица 9

Значения OD для связывания нанотел против IL-17 с IL-17A человека, мартышки, мыши, крысы и морской свинки в ELISA

Класс нанотел	Нанотело	IL-17A человека	IL-17A мартышки	IL-17A мыши	IL-17A крысы	IL-17A морской свинки
Класс 2	02A08	1,945	1,953	-0,001	0,002	0,002
Класс 2	03C07	1,704	1,699	-0,004	0,003	0,004
Класс 2	04B09	1,817	1,842	0,000	0,001	0,006
Класс 2	04G01	1,897	1,932	-0,001	0,004	0,008
Класс 2	09G10	1,635	1,582	-0,001	0,003	0,006
Класс 2	11A06	1,691	1,707	0,004	0,008	0,007
Класс 3	06E11	0,073	-0,003	-0,001	0,006	0,006
Класс 3	07B09	0,005	0,005	-0,001	0,003	0,009
Класс 3	07B11	0,030	0,186	-0,003	0,005	0,007
Класс 3	08H01	0,022	0,431	-0,002	0,006	0,007
Класс 3	16A04	0,043	0,019	-0,002	0,003	0,008
Класс 3	24B08	0,103	0,129	-0,002	0,004	0,012
Класс 3	24G10	0,009	0,122	-0,001	0,004	0,008
Класс 4	01A01	1,830	1,839	-0,003	0,004	0,008
Класс 4	11C08	1,710	0,671	-0,005	0,002	0,002
Класс 4	13B03	1,948	1,936	-0,001	0,004	0,004
Класс 4	13B05	1,824	1,911	-0,006	0,003	0,001
Класс 4	13E02	1,787	1,846	-0,001	0,003	0,006
Класс 4	13E05	1,957	1,889	0,004	0,003	0,006
Класс 4	17C01	1,826	1,843	-0,001	0,000	0,007

Таблица 10

Значения OD для связывания нанотел против IL-17 с IL-17F человека, мортышки, мыши, крысы и морской свинки в ELISA

Класс нанотел	Нанотело	IL-17A человека	IL-17F мортышки	IL-17F мыши	IL-17F крысы
Класс 2	02A08	-0,014	-0,0005	-0,0005	0,0035
Класс 2	03C07	-0,016	-0,0015	0,0005	0,0015
Класс 2	04B09	-0,015	0,0025	-0,0025	0,0015
Класс 2	04G01	-0,016	0,0005	-0,0005	-0,0005
Класс 2	09G10	-0,018	0,0045	-0,0005	0,0025
Класс 2	11A06	0,673	0,0225	0,0455	0,0045
Класс 3	06E11	2,593	2,123	0,0215	0,0085
Класс 3	07B09	1,872	1,0855	-0,0015	0,0025
Класс 3	07B11	1,849	1,6395	-0,0005	-0,0105
Класс 3	08H01	1,767	0,5515	-0,0005	0,0045
Класс 3	16A04	1,736	1,6365	-0,0015	0,0015
Класс 3	24B08	1,815	1,7625	-0,0015	0,0035
Класс 3	24G10	1,96	1,6365	-0,0005	0,0025
Класс 4	01A01	0,612	0,2195	-0,0005	0,0005
Класс 4	11C08	1,655	1,4045	-0,0025	0,0005
Класс 4	13B03	1,656	1,3255	-0,0005	0,0085
Класс 4	13B05	0,712	0,445	0,0205	0,0095
Класс 4	13E02	1,099	0,248	0,0155	0,0255
Класс 4	13E05	1,771	0,3375	0,0005	0,0025
Класс 4	17C01	0,772	0,0525	-0,0005	0,0025

Пример 12. Специфичность нанотел против IL-17.

Нецелевое связывание выбранной панели нанотел против IL-1702A08, 03C07, 04B9, 04G1, 09G10, 11A06 (класс 2), 06E11, 07B09, 07B11, 08H01, 16A04, 24G10 (класс 3) и 01A01, 11C08, 13B03, 13B05, 13E02, 13E05, 17C01 (класс 4) оценивали, измеряя способность нанотел против IL-17 связываться с IL-17B человека (Peprotech Кат № 200-28), IL-17C (R&D Systems, Кат № 234-IL/CF), IL-17D (Peprotech 200-27) или IL-17E (Peprotech Кат № 200-24), посредством SPR с использованием устройства Biacore T100. Все IL-17A, IL-17C, IL-17D или IL-17E человека экспрессировали в *E. coli* и ковалентно связывали с сенсорной поверхностью чипа CM посредством связывания аминов с использованием EDC/NHS для активации и HCl для деактивации. Очищенные нанотела или контрольные mAb (Mab1248 против hIL-17B, Mab1258 против hIL-17E, Mab1234 против hIL-17C, Mab1504 против hIL-17D, R&D Systems) инъецировали в течение 2 мин при скорости потока 45 мкл/мин для обеспечения связывания со связанным с чипом антигеном. Затем над поверхностью чипа при той же скорости потока пропускали связывающий буфер для обеспечения произвольной диссоциации связанных нанотела или антитела. В то время как все контрольные антитела связывались с соответствующими им мишенями, тестируемые нанотела не связывались с IL-17B, IL-17C, IL-17D или IL-17E человека.

Пример 13. Картирование эпитопов с использованием сайт-специфического мутагенеза.

А. Конструкция мутанта IL-17A и IL-17F.

IL-17A и F человека являются симметричными димерами, соответствующие наборы мутаций определяли на одной цепи мономера. Сеть мутаций распределена по поверхности димера симметрично. Подробный список мутаций является следующим.

Для IL-17A: K38E, K38A, D42A, N45A, N45Q, R46A, H54A, K70A, K70Q, R72A, H73A, L74A, I77A, D80A, N82K, N82A, Y85A, H8 6A, N88A.

Для IL-17F: S39E, S39A, N43A, R47A, T55A, T55H, Q71A, Q71K, R73A, N74A, L75A, I78A, Q81A, K83N, K83A, I86A, S87A, S87H, N89A.

Все выбранные положения подвергали мутации в аланин, нейтральную аминокислоту, которая, как правило, хорошо переносит максимальное количество положений в структуре белка. В определенных положениях для введения более существенного изменения также использовали отличные от Ala аминокислоты. Как указано ранее, все эти положения составляют половину поверхности IL-17A и F.

В. Принципы способа скрининга.

Посредством сайт-специфического мутагенеза получали одноаминокислотные мутанты меченных

FLAG IL-17A и F, транзитивно экспрессировали в клетках HEK-293 и тестировали посредством ELISA связывания нанотел. Связывание каждого нанотела с единичными мутантами IL-17 сравнивали и нормализовали на связывание того же нанотела с цитокином дикого типа. В качестве положительного контроля использовали поликлональное специфическое антитело к IL-17 для проверки структурной целостности мутантной молекулы.

С. Конструирование одиночных мутантов IL-17 посредством сайт-специфического мутагенеза.

Одноаминокислотные мутации в цитокине IL-17A и F вносили с использованием мутагенных олигонуклеотидов с использованием адаптированной версии протокола мутагенеза ПЦР Quick Change, первоначально описанного Stratagene. Основными отличиями от исходного протокола являлись использование только одного праймера, а не 2, то, что последовательности смысловой цепи являлось достаточным, и использование ДНК-полимеразы Pwo из Roche (кат. № 03789403001), а не ДНК-полимеразы Pfu Turbo из Stratagene. Оба цитокина на своих С-концах содержали метку FLAG, и их клонировали в вектор экспрессии pTT5 (Durocher Y et al., *Nucleic Acids Res.* 2002, 30, E9) для экспрессии в клетках млекопитающих. Конечные конструкции подтверждали посредством анализа последовательности ДНК кодирующего полноразмерные IL-17A или IL-17F гена.

Д. Транзиторная экспрессия одиночных мутантов IL-17 в клетках млекопитающих.

Проводили получение рекомбинантных меченых Flag мутантов IL-17A и -F, а также эталонных исходных цитокинов дикого типа в малом масштабе в формате 6-луночного планшета, выращивая клетки HEK-293 в среде D-MEM/F-12 (1:1) (Invitrogen, кат. № 21331-020), дополненной 10% ЭТС, 2 mM L-глутамином, 100 Ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина. Реагент для трансфекции TransIT-LT1 из Mirus Bio Corporation (кат. № MIR-2305) использовали по протоколу, рекомендованному поставщиком. Трансфекции проводили в содержащих сыворотку средах. В кратком изложении, для трансфекции использовали 2,5 мкг плазмидной ДНК miniprep без LPS на лунку 6-луночного планшета, и время инкубации составляло 48-72 ч.

Е. Протокол ELISA для детекции нанотел, связывающихся с мутантами IL-17.

Планшеты Nunc-Immuno Maxisorp (Invitrogen, Nunc # 439454) покрывали в течение ночи при 4°C поликлональными антителами кролика против эпитопа FLAG® (DYKDDDDK) (Covance #PRB-132P) при 2 мкг/мл в PBS, pH 7,4. Планшеты отмывали 3 раза в PBST (PBS, содержащий 0,05% Tween 20) и неразбавленные супернатанты чистых тканевых культур, содержащие меченные FLAG мутанты IL-17, инкубировали в течение 1 ч 30 мин при 37°C. Планшеты 3 раза отмывали PBST и блокировали в течение 2 часов при 37°C PBS, содержащим 2% BSA. Планшеты отмывали 3 раза PBST и в лунки добавляли различные меченные HIS и с-тус одновалентные нанотела против IL-17 при 5 мкг/мл в PBS pH 7,4. Планшеты инкубировали в течение 2 ч при 37°C, а затем 3 раза отмывали PBST. Затем в лунки добавляли вторичное конъюгированное с HRP поликлональное антитело к метке 6xHis® (HHHHHH) (Abcam #ab1187) с разведением 1/5000 в PBS pH 7,4. Планшеты инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре (RT), 3 раза отмывали PBST и добавляли 100 мкл/лунку раствора субстрата пероксидазы тетраметилбензидина (TMB) для ELISA (Uptima #UP664781). Планшеты оставляли в течение 5 мин при RT, блокировали 1M H₂SO₄ и OD считывали при 450 нм. Для подтверждения экспрессии одиночных мутантов IL-17 и цитокинов дикого типа, нормальной укладки структуры и хорошего захвата антителом к FLAG, в качестве первичных антител использовали поликлональные антитела против IL-17A или -F с последующими конъюгированными с HRP вторичными антителами. Для конструкций IL-17A и IL-17F использовали поликлональные IgG козы против IL-17A человека (Life span, #LS-C37027) и поликлональные IgG козы против IL-17F человека (R&D Systems, #AF1335), соответственно, с последующими конъюгированными с HRP бычьими антителами против IgG козы (H+L) для детекции (Jackson ImmunoResearch #805-035-180).

Эпитоп, распознаваемый нанотелами класса 2.

Идентифицировано пять положений остатков, которые являются общими для всех А-блокаторов и Х-реактивных эпитопов для нанотел: L74, Y85, H73, N82 и R72 (табл. 11). L74 и Y85 являются определяющими положениями для указанных эпитопов, так как во всех случаях, кроме одного, они сильно влияли на связывание нанотела. Аффинность связывания выбранных нанотел с этими двумя мутантами относительно связывания с диким типом всегда была по меньшей мере ниже 50%, а в большинстве случаев ниже 25%. Исключение составляет Y85 для 4B09, где аффинность связывания составляет 60% от аффинности связывания белка дикого типа. С учетом результатов авторов изобретения L74 очевидно можно охарактеризовать как горячую точку. В меньшей степени H73 также является очень важным остатком для всех эпитопов. А-блокаторов от Х-реактивных нанотел отличает несколько положений. N88 был найден исключительно в эпитопах Х-реактивных нанотел (за исключением 11C08). В отличие от этого H54 или K70 найдены в эпитопах А-блокаторов, но иногда в эпитопах Х-реактивных нанотел. Среди общих положений остатков у А-блокаторов и Х-реактивных эпитопов на IL-17A, три содержат различные аминокислоты в IL-17F (Y85I, H73N и N82K). Это позволяет предположить, что эпитопы Х-реактивных нанотел у родственных белков не должны быть строго идентичны. Определенная степень варибельности набора аминокислот, составляющих эпитоп, является допустимой. Однако два ключевых остатка

(L74, Y85) имеют идентичных варианты в IL-17F (L75, I86).

Эпитоп, распознаваемый нанотелами класса 4.

В сравнении с мутантами IL-17 в качестве слияний с Fc тестировали только X-реактивные нанотела 13B03 и 13E02. Их аффинность в среднем average в 10 раз ниже в отношении IL-17F, чем в отношении IL-17A. В отношении IL-17A, L75 и I86 (остатки, эквивалентные L74 и Y85 в IL-17A) являются определяющими положениями в эпитопах на IL-17F для всех нанотел. Кроме того, результаты авторов указывают на то, что I78 также является ключевым остатком во всех эпитопах на IL-17F для нанотел. Последний результат трудно объяснить, так как авторы не исследовали сходное поведение в эквивалентных положений (I77) в IL-17A даже для X-реактивных нанотел. Распределение между средними А-блокаторами и X-реактивными эпитопами, наблюдаемое на IL-17A на IL-17F, было невозможно, так как соответствующие экспериментальные данные были ограничены (тестировали только два перекрестно реагирующих нанотела, вследствие слабого связывания одновалентных форм).

Все мутанты тестировали на связывание с обеими цепями рецепторного комплекса, IL-17RA и IL-17RC. Результаты, полученные для IL-17A, указывают на то, что R46 в большой степени вовлечен в участок связывания обеих цепей рецептора (данные не показаны). Эти данные в комбинации с рентгеновской структурой комплекса между IL-17F и IL-17RA (Ely et al., Nature Immunology 10, 1245-1251, 2009) обеспечивают определенные пути к разгадке того, что эпитопы для большинства тестируемых нанотел с большой вероятностью частично перекрывают участок связывания рецептора на IL-17A.

Из приведенной ниже табл. 11 становится понятным, что Y85 является важным остатком, так как он влияет на связывание с IL-17A всех 3 тестируемых нанотел. N88 критичен для перекрестно-(X)-реактивных нанотел, но не для других.

Эпитоп, распознаваемый нанотелами класса 3.

Для специфичного к IL-17F нанотела на IL-17F как критические идентифицированы 4 положения R73, I86 и N89, примечательно, что они соответствуют положениям L74, Y85 и N88 на IL-17A, для которых также показано, что они являются критическими для нанотел. R47 кажется критическим, чего не наблюдается для IL-17A (R46).

Таблица 11

Процентное связывание нанотел с одиночными аланиновыми мутантами IL-17A, нормализованное на связывание поликлональных антител против IL-17A

Мутант IL-17A человека	R46	L74	H54	N78	D80	Y85	N88
Класс 2	90	13, 6	18	100	100	12	93
Класс 4	92	9, 6	81	100	95	29	9
Класс 4	89	9, 2	100	100	100	11	38
Мутант IL-17F человека	R47	R73	I86	N89			
Класс 3	14, 2	18, 3	2, 8	1, 7			

Пример 14. Связывание эпитопов одновалентными нанотелами в сравнении с рецепторами IL-17.

Для исследования того, связываются ли выбранные нанотела против IL-17 с перекрывающимся эпитопом на IL-17A, соответственно, IL-17F, как IL-17RA, соответственно, IL-17RC, проводили эксперимент по связыванию эпитопов на Biacore. Рецептор (IL-17RA или IL-17RC) захватывали с использованием его Fc-конца человека посредством антитела к Fc IgG человека, нанесенного на чип. Затем на поверхность инъецировали смесь IL-17A или IL-17F в комплексе с нанотелом. Использовали концентрации IL-17A или IL-17F, для которых теоретические расчеты показали формирование комплекса для >99% IL-17. Ни для одного из комплексов нанотел класса 2 или класса 4 с IL-17A, связывания с IL-17RA не наблюдали (табл. 12), что указывает на то, что эти нанотела связываются со сходным с IL-17RA эпитопом на IL-17A. Для нанотел класса 3 только один комплекс нанотела с IL-17F, 24B08 - IL-17F, продемонстрировал связывание с IL-17RC (табл. 12), что указывает на то, что это нанотело взаимодействует с отличным от IL-17RC эпитопом на IL-17F. Для нанотел класса 4 только 2 комплекса нанотела с IL-17F не связывались с IL-17RC; 11C08 и 13E02. Комплексы 01A01, 13B03 и 13E05 с IL-17F продемонстрировали небольшое связывание, тогда как 13B05 и 17C01 продемонстрировали значительное связывание, что указывает на то, что эпитоп IL-17F, распознаваемый этими нанотелами, только частично перекрывается с IL-17RC.

Таблица 12

% Связывания комплекса IL-17 с нанотелом с иммобилизованными IL-17RC или IL-17A на Biacore

Нанотело	Класс нанотел	% связывания (IL-17A-NB) - IL-17RA на Biacore	% связывания (IL-17F-NB) - IL-17RC на Biacore
02A08	Класс 2	0,46	
03C07	Класс 2	-0,08	
04B09	Класс 2	-1,39	
04G01	Класс 2	-0,43	
09G10	Класс 2	2,05	
11A06	Класс 2	-0,35	
06E11	Класс 3		8,17
07B09	Класс 3		5,17
07B11	Класс 3		6,67
08H01	Класс 3		9,17
16A04	Класс 3		4,84
24B08	Класс 3		59,88
24G10	Класс 3		8,51
01A01	Класс 4	-1,04	12,01
11C08	Класс 4	3,25	6,34
13B03	Класс 4	-2,24	15,68
13B05	Класс 4	-0,89	35,03
13E02	Класс 4	-1,04	7,17
13E05	Класс 4	0,54	15,51
17C01	Класс 4	-2,01	32,53

Для подтверждения того факта, что большинство нанотел класса 2 и класса 4 распознают перекрывающийся эпитоп на IL-17A, проводили эксперимент SPR, где IL-17A человека иммобилизовали на сенсорном чипе, нанотело класса 401A01 связывали и затем на чип наносили второе тестируемое нанотело класса 2 или класса 4. Если увеличения уровней PE не наблюдали, тестируемое нанотело связывается с перекрывающимся с 01A01 эпитопом. Это происходило для всех тестируемых нанотел за исключением 11A06, что также подтверждает, что это нанотело связывается с IL-17A с отличающимся эпитопом. Результаты представлены на фиг. 10.

Подобным образом посредством иммобилизации IL-17F человека связывание нанотела класса 3 07B11 и последующее связывание второго тестируемого нанотела класса 3 или класса 4 показало, что все эти нанотела распознают перекрывающийся эпитоп, за исключением 24B08, что также подтверждает наблюдения, описанные выше. Результаты представлены на фиг. 11.

Пример 15. Получение поливалентных нанотел дикого типа против IL-17 с увеличенным временем полужизни (HLE).

Для получения продукта нанотела с увеличенным временем полужизни, который блокирует IL-17A, IL-17F и IL-17A/F, получали одновалентные нанотела. Нанотела класса 2 (блокирующие IL-17A и IL-17A/F, дополнительно обозначенные на фигурах с помощью A) и класса 3 (блокирующие IL-17F, дополнительно обозначенные на фигурах с помощью F) объединяли в комбинации A-F или F-A. Класс 4 (перекрестно реагирующие с IL-17A-IL-17F нанотела, дополнительно обозначенные на фигурах с помощью X) форматировали в двухвалентную конструкцию X-X или комбинировали с нанотелом класса 3 в F-X или X-F. Для увеличения времени полужизни предпочитали сливать конструкции с нанотелом к HSA ALB8 или с частью Fc.

Нанотела дикого типа в формате с ALB8 с HLE.

Предпочитали получать различные комбинации A-F, F-A, X-X, F-X и X-F, а также варьировать положение нанотела ALB8, или между нанотелами против IL-17, связанных на обоих участках посредством линкеров 9GS, или на C-конце конструкции, где два нанотела против IL-17 связаны посредством линкера 35GS, а ALB8 связан с центральным антителом посредством линкера 9GS на уровне ДНК. Одновалентные нанотела, используемые в качестве структурных элементов, представлены в табл. 13.

Таблица 13

Нанотела, выбранные в качестве структурных элементов для форматированных конструкций
В комбинациях F-X и F-X использовали только перекрестно реагирующие нанотела,
указанные жирным шрифтом

Класс 2 (A)	Класс 3 (F)	Класс 4 (X)
02A08	06E11	01A01
03C07	07B11	11C08
04B09	08H01	13B03
04G01	16A04	13B05
09G10	24G10	13E02
11A06		13E05

50 поливалентных нанотел для отбора экспрессировали как меченный с-тус, His-6 белок в *Pichia pastoris* (аминокислотные последовательности приведены на фиг. 6). Индукцию экспрессии нанотел проводили посредством постепенного добавления метанола. Очищенную среду с секретируемым нанотелом использовали в качестве исходного вещества для аффинной хроматографии на иммобилизованном металле (IMAC) с последующим обессоливанием, приводящим к 90% чистоте, как оценивали посредством SDS-PAGE. При необходимости, для дальнейшего улучшения экспрессии и фолдинга использовали способы, описанные в WO 2010/125187.

Образование нанотела дикого типа с HLE Fc.

Конструировали двухвалентные перекрестно реагирующие нанотела, слитые с Fc-концом. Проводили слияния с Fc перекрестно реагирующих нанотел 01A01, 13E02 и 13B03. Получали конструкции с короткой шарнирной областью из IgG1 человека C→S (последовательность: EPKSSDKTHTCPRCP) или с длинной шарнирной областью из IgG2b ламы (EPKTPKPQRPQRPQNPPTTESKCPKCP). Также для секретиции этих нанотел после экспрессии в клетках Hek-293-6E использовали два типа сигнальных пептидов: один из VH3-23 (HC hIgG) с последовательностью MEFGSLWFLVAKIKGVQC и один из зародышевой линии мыши с последовательностью MEWSWVFLFSLVTTGVHS. Конструкции с Fc транзитивно трансфицировали в клетки Hek-293-6E и получали секрецию экспрессированных нанотел в среду для культивирования (75-400 мл среды Freestyle). Среду собирали через 3 суток после трансфекции и слитые с Fc нанотела очищали с использованием хроматографии с белком A (Mab Select Sure) с последующей эксклюзионной хроматографией.

Пример 16. Блокирующая способность очищенных поливалентных нанотел дикого типа против IL-17 с ALB8 с HLE в анализах Alphascreen с использованием IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека 50 поливалентных нанотел тестировали в анализе Alphascreen с IL-17A-IL-17RA, IL-17F-IL-17RC и IL-17A/F-RA, как описано в примере 8, но с оптимизированными концентрациями лигандов и рецепторов, как представлено в табл. 14, и с использованием серийных разведений каждого нанотела, начиная от 50 нМ вниз до 0,181 пМ.

Таблица 14

Обзор оптимизированных концентраций лиганда IL-17 и рецепторов IL-17, используемых в анализах Alphascreen для определения значений IC₅₀ поливалентных нанотел

Настройка анализа Комбинация лиганд- рецептор	Концентрация лиганда (нМ)	Концентрация рецептора (нМ)
IL-17A - IL-17RA	0,10	10
IL-17F - IL-17RC	0,05	3
IL-17A/F - IL-17RA	0,32	4

На основе активности и максимального уровня ингибирования выбирали 14 лучших поливалентных нанотел для дальнейшей характеристики. Для девяти из них измеряли IC₅₀ во всех шести анализах Alphascreen. Кроме того, в анализе Alphascreen исследовали влияние наличия HSA на IC₅₀. С этой целью анализы с IL-17A-IL-17RA, IL-17F-IL-17RC и IL-17A/F-IL-17RA повторяли в отсутствие или в присутствии 5 мкМ HSA. Для других пяти нанотел определяли только активность в анализе IL-17A-IL-17RA и IL-17F-IL-17RC. Результаты обобщены в табл. 15. Все нанотела демонстрируют очень хорошую активность, хотя форматы X-X являются менее эффективными при блокировании взаимодействий IL-17F с рецептором. Присутствие HSA не оказывало большого влияния на активность.

Таблица 15

Обобщенные данные о значениях IC₅₀ для выбранной панели 14 форматированных нанотел против IL-17 дикого типа, полученные с использованием Alphascreeen, н./о. = не определяли

Специфичность	ID нанотела	Конструкция	IC ₅₀ (нМ) Alphascreeen								
			IL-17A- RA	IL- 17A-RA + HSA	IL- 17A-RC	IL- 17F-RA	IL- 17F-RC	IL-17F- RC + HSA	IL- 17A/F-RA	IL- 17A/F- RA + HSA	IL- 17A/F- -RC
A-F	IL17MS0089	02A08-35GS- 16A04-9GS-ALB8	115	185	130	369	41	54	97	131	47
F-A	IL17MS0141	07B11-35GS- 04B09-9GS-ALB8	87	92	146	819	29	36	99	130	68
F-A	IL17MS0166	24G10-35GS- 04G01-9GS-ALB8	161	203	367	1094	46	56	128	95	51
X-X	IL17MS1003	13B03-9GS- ALB8-9GS-13B03	116	72	171	564	189	177	85	90	45
X-X	IL17MS1013	13E02-35GS- 13E02-9GS-ALB8	64	67	167	408	102	113	101	86	104
F-X	IL17MS2022	16A04-9GS- ALB8-9GS-13B03	63	83	183	456	23	28	98	90	39
F-X	IL17MS2024	16A04-9GS- ALB8-9GS-13E02	99	70	170	328	17	22	142	124	50
X-F	IL17MS2042	01A01-9GS- ALB8-9GS-24G10	130	111	152	619	30	35	122	99	59
F-X	IL17MS2081	07B11-35GS- 01A01-9GS-ALB8	78	86	138	543	22	27	99	100	36
A-F	IL17MS0110	04G01-35GS- 16A04-9GS-ALB8	45	н./о.	н./о.	н./о.	48	н./о.	н./о.	н./о.	н./о.
F-A	IL17MS0154	16A04-35GS- 04G01-9GS-ALB8	56	н./о.	н./о.	н./о.	47	н./о.	н./о.	н./о.	н./о.
X-X	IL17MS1005	13E02-9GS- ALB8-9GS-13E02	56	н./о.	н./о.	н./о.	363	н./о.	н./о.	н./о.	н./о.
X-F	IL17MS2117	13B03-35GS- 16A04-9GS-ALB8	н./о.	н./о.	н./о.	н./о.	30	н./о.	н./о.	н./о.	н./о.
X-F	IL17MS2131	13E02-35GS- 16A04-9GS-ALB8	44	н./о.	н./о.	н./о.	20	н./о.	н./о.	н./о.	н./о.

Пример 17. Блокирующая способность очищенных поливалентных перекрестно реагирующих нанотел против IL-17 с ALB8 с HLE в сравнении с Fc с HLE в конкурентном ELISA с использованием IL-17A или IL-17F человека.

Активность форматированных нанотел, содержащих ALB8 с HLE, 13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8 и 13B03-9GS-ALB8-9GS-13B03, сравнивали с активностью этих же нанотел, несущих Fc с HLE, SH-Fc-(GS)2-13E02 и 13B03-SH-Fc 13B03-LH-Fc, в конкурентном ELISA. С этой целью наносили IL-17RA, соответственно, IL-17RC, с концентрацией 1 мкг/мл в PBS. Серийные разведения нанотел или эталонных соединений инкубировали с биотинилированным IL-17A (12 пМ), соответственно, IL-17F (10 пМ), и связывание с рецептором детектировали с использованием экстравидина-HRP. В обоих анализах все форматированные нанотела продемонстрировали улучшенную активность по сравнению с их одновалентными аналогами и большинство нанотел обладали лучшей активностью, чем эталонные соединения, как представлено в табл. 16.

Таблица 16

Значения IC_{50} поливалентных нанотел против IL-17, определяемых в конкурентном ELISA

Тестируемое соединение	IC_{50} в конкурентном ELISA IL-17A -RA (нМ)	IC_{50} в конкурентном ELISA IL-17F -RC (нМ)
13B03-9GS-ALB8-9GS-13B03	20	148
13B03-SH-Fc	20	3364
13B03-LH-Fc	31	292
SH-Fc- (GS) 2-13B03	44	350
13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8	102	534
SH-Fc- (GS) 2-13E02	112	267
13B03	121	91600
13E02	420	3020
mAB02	914	
mAB B-F60		1200

Пример 18. Блокирующая активность очищенных форматованных нанотел против IL-17 дикого типа в клеточном анализе с использованием IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека в присутствии или в отсутствие HSA.

Для 9 выбранных форматованных нанотел с ALB с HLE и 4 слитых с Fc нанотел исследовали зависимость от дозы ингибирования индуцированной hIL-17A, hIL-17F или hIL-17A/F секреции IL-6 клетками HT-1080. Клетки фибросаркомы человека HT-1080 высевали при 1500 клеток/лунку в 96-луночные плоскодонные планшеты. Проводили серийные разведения нанотел, эталонного соединения mAB02 или эталонного соединения mAb против IL-17F B-F60 1:3 и добавляли в лунки с клетками HT-1080, что приводило к конечным концентрациям в диапазоне от 10 до 0,0045 мкг/мл для нанотел и mAB02 и от 100 до 0,045 мкг/мл для mAB B-F60. В первых экспериментах нанотела добавляли сами по себе (табл. 17), во втором эксперименте нанотела предварительно инкубировали со 100 мкМ HSA (табл. 18). Планшеты инкубировали в течение 30 мин при 37°C с 5% CO₂, после чего добавляли специфические стимулы, которые представляли собой IL-17A человека при конечной концентрации 1 нМ, IL-17F человека при конечной концентрации 15 нМ или IL-17A/F человека при конечной концентрации 5 нМ. Планшеты инкубировали в течение дополнительных 24 ч при 37°C с 5% CO₂. Супернатанты собирали, переносили в 96-луночные планшеты и определяли уровни IL-6 человека определяли с использованием коммерческого анализа IL-6 ELISA. Как представлено в табл. 17, все нанотела обладали сходной эффективностью (IC_{50} в диапазоне 0,19-0,78 нМ) в отношении блокирования активности IL-17A, вне зависимости от формата или HLE. Эффективность блокирования активности IL-17F также была сходна для всех нанотел (IC_{50} в диапазоне 2,7-8,2 нМ). Как представлено в табл. 18 (по сравнению с табл. 17), присутствие 100 мкМ HSA в анализе не влияло на эффективность нанотел.

Таблица 17

Ингибирование индуцированной IL-17A или IL-17F человека продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 посредством форматированных нанотел против IL-17 дикого типа или эталонного соединения без HSA. Результаты выражены в виде среднего $\pm$ SD из N (1-7) экспериментов

Специфичность	Нанотело или ссылка	Конструкция	IC ₅₀ (нМ) hIL-17A	E _{max} (%)	IC ₅₀ (нМ) hIL-17F	E _{max} (%)
A-F	IL17MS0089	02A08-35GS-16A04-9GS-ALB8	0,38 $\pm$ 0,1	102 $\pm$ 1	4	87
F-A	IL17MS0141	07B11-35GS-04B09-9GS-ALB8	0,25	105	5,9	110
F-A	IL17MS0166	24G10-35GS-04G01-9GS-ALB8	0,83	105	7,35 $\pm$ 2	102 $\pm$ 3
X-X	IL17MS1003	13B03-9GS-ALB8-9GS-13B03	0,45 $\pm$ 0,03	101 $\pm$ 1	6,4 $\pm$ 5	101 $\pm$ 4
X-X	IL17MS1013	13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8	0,47 $\pm$ 0,04	102 $\pm$ 3	6,45 $\pm$ 2	97,5 $\pm$ 1
F-X	IL17MS2022	16A04-9GS-ALB8-9GS-13B03	0,60 $\pm$ 0,1	102 $\pm$	8,05 $\pm$ 0,2	97 $\pm$ 5
F-X	IL17MS2024	16A04-9GS-ALB8-9GS-13E02	0,78 $\pm$ 0,1	103 $\pm$ 4	8,2 $\pm$ 0,6	96 $\pm$ 7
X-F	IL17MS2042	01A01-9GS-ALB8-9GS-24G10	0,28	101	6,6	111
F-X	IL17MS2081	07B11-35GS-01A01-9GS-ALB8	0,7	100	6,3	99
X-X	MSB0010606	13E02-LH-Fc	0,19 $\pm$ 0,1	100 $\pm$ 6	2,7 $\pm$ 2,9	96 $\pm$ 4
X-X	MSB0010619	SH-Fc- (GS) 2-13E02	0,31 $\pm$ 0,3	102 $\pm$ 5	4,9 $\pm$ 3,5	98 $\pm$ 6
X-X	MSB0010618	SH-Fc- (GS) 2-13B03	0,37 $\pm$ 0,3	100 $\pm$ 6	5,7 $\pm$ 3,2	94 $\pm$ 14
X-X	MSB0010493	13B03-SH-Fc	0,19 $\pm$ 0	100 $\pm$ 4	5,8 $\pm$ 0,3	105 $\pm$ 15
A	mAb02		0,59 $\pm$ 0,4	99 $\pm$ 2	н./п.	н./п.
F	B-F60 mAb		н./п.	н./п.	3,9 $\pm$ 3,12	93 $\pm$ 10

Таблица 18

Ингибирование индуцированной IL-17A, IL-17F или IL-17A/F человека продукции IL-6 в клетках фибросаркомы человека HT-1080 посредством форматированных нанотел против IL-17 дикого типа или эталонного соединения в присутствии 100 мкМ HSA

Результаты выражены в виде среднего $\pm$ SD из N экспериментов. N = 2 или *N = 1

Свойство	Нанотело или ссылка	Конструкция	IC ₅₀ (нМ) hIL-17A	E _{max} (%)	IC ₅₀ (нМ) hIL-17F	E _{max} (%)	IC ₅₀ (нМ) hIL-17A/F	E _{max} (%)
A-F	IL17MS0089	02A08-35GS-16A04-9GS-ALB8	1,00 $\pm$ 0,6	97 $\pm$ 1	7,3 $\pm$ 1,3	89,5 $\pm$ 1	1,01 $\pm$ 0,1	83 $\pm$ 3
F-A	IL17MS0141	07B11-35GS-04B09-9GS-ALB8	0,85 $\pm$ 0,5	98 $\pm$ 0	14,8 $\pm$ 10,2	91,5 $\pm$ 5	0,34 $\pm$ 0,1	78 $\pm$ 3
F-A	IL17MS0166	24G10-35GS-04G01-9GS-ALB8	1,95 $\pm$ 0,6	98 $\pm$ 1	8,5 $\pm$ 3,5	85,0 $\pm$ 8	1,47 $\pm$ 0,5	72 $\pm$ 15
X-X	IL17MS1003	13B03-9GS-ALB8-9GS-13B03	1,55 $\pm$ 1,2	96 $\pm$ 1	10,8 $\pm$ 3,2	86,5 $\pm$ 6	0,53 $\pm$ 0,4	78 $\pm$ 8
X-X	IL17MS1013	13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8	1,00 $\pm$ 0,6	97 $\pm$ 0	14,8 $\pm$ 3,6	81 $\pm$ 3	0,43 $\pm$ 0,1	78 $\pm$ 6
F-X	IL17MS2022	16A04-9GS-ALB8-9GS-13B03	0,85 $\pm$ 0,4	97 $\pm$ 0	4,1 $\pm$ 3,1	91,5 $\pm$ 1	0,61 $\pm$ 0,4	72 $\pm$ 9
F-X	IL17MS2024	16A04-9GS-ALB8-9GS-13E02	0,90 $\pm$ 0,7	96 $\pm$ 6	8,3 $\pm$ 0,5	91,5 $\pm$ 8	0,44 $\pm$ 0,0	86 $\pm$ 2
X-F	IL17MS2042	01A01-9GS-ALB8-9GS-24G10	*0,44	*100	*5,7	*93	0,57 $\pm$ 0,1	85 $\pm$ 4
F-X	IL17MS2081	07B11-35GS-01A01-9GS-ALB8	1,05 $\pm$ 0,4	95 $\pm$ 6	5,2 $\pm$ 4,6	93,5 $\pm$ 8	0,72 $\pm$ 0,5	87 $\pm$ 8
X-X	MSB0010530	13B03-LH-Fc	0,95 $\pm$ 0,8	97,5 $\pm$ 1	15,6 $\pm$ 0,07	75 $\pm$ 4	н./п.	н./п.
X-X	MSB0010606	13E02-LH-Fc	0,85 $\pm$ 0,5	98,5 $\pm$ 2	15,3 $\pm$ 1,3	80,5 $\pm$ 2	н./п.	н./п.
A	mAb02		0,65 $\pm$ 0,2	96 $\pm$ 3	н./п.	н./п.	3,94 $\pm$ 5,4	74 $\pm$ 9
F	mAb B-F60		н./п.	н./п.	5,8 $\pm$ 2,6	84 $\pm$ 7	н./п.	н./п.

Пример 19. Двойное ингибирование очищенными форматированными нанотелами против IL-17 дикого типа в клетках HT-1080, стимулированных комбинацией IL-17A и IL-17F человека.

В качестве следующей стадии исследовали способность форматированных нанотел ингибировать секрецию IL-6 зависимым от дозы образом, когда клетки HT-1080 стимулировали комбинацией IL-17A и

IL-17F человека. IL-17A и IL-17F комбинировали при различных концентрациях: 1) 1 нМ IL-17A + 15 нМ IL-17F, 2) 5 нМ IL-17A и 5 нМ IL-17F, 3) 15 нМ IL-17A и 15 нМ IL-17F. Тестируемый набор нанотел продемонстрировал очень хорошую двойную ингибирующую активность (табл. 19).

Таблица 19

Значения IC_{50} некоторых из форматов нанотел против IL-17 WT в биологическом анализе HT-1080 с использованием комбинации IL-17A человека и IL-17F человека
Результаты выражены в виде среднего $\pm$ SD из N экспериментов. N = 2 или *N = 1, н./п.: не проводили

Специфичность	Нанотело или ссылка	Конструкция	IC_{50} (нМ) hIL-17A (1 нМ)	IC_{50} (нМ) hIL-17F (15 нМ)	IC_{50} (нМ) IL-17A+IL-17F (1+15 нМ)	IC_{50} (нМ) IL-17A+IL-17F (5+5 нМ)	IC_{50} (нМ) IL-17A+IL-17F (15+15 нМ)
A-F	IL17MS0089	02A08-35GS-16A04-9GS-ALB8	0,38 $\pm$ 0,1	*4	*1,03	*3,11	*10,3
X-X	IL17MS1013	13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8	0,47 $\pm$ 0,04	6,45 $\pm$ 2	*0,82	*1,64	*4,9
F-X	IL17MS2022	16A04-9GS-ALB8-9GS-13B03	0,60 $\pm$ 0,1	8,05 $\pm$ 0,2	*3,23	*2,77	*10,5
F-X	IL17MS2024	16A04-9GS-ALB8-9GS-13E02	0,78 $\pm$ 0,1	8,2 $\pm$ 0,6	*3,76	*3,02	*11,2
A	mAb02		0,48 $\pm$ 0,2	н./п.	н./п.	н./п.	н./п.
A+F	mAb02+ mAb B-F60		н./п.	н./п.	*1,03	*1,23	*5,3
F	mAb B-F60		н./п.	2,5 $\pm$ 1,6	н./п.	н./п.	н./п.

Таблица 20

Значения IC_{50} форматов нанотел против IL-17 в биологическом анализе HT-1080 с использованием IL-17A или IL-17F яванского макака

Результаты выражены в виде среднего $\pm$ SD из N (1-5) экспериментов, б./и. = без ингибирования

Специфичность	ID нанотела	Конструкция	IC_{50} (нМ) IL-17A яванского макака	E_{max} (%)	IC_{50} (нМ) IL-17F яванского макака	E_{max} (%)
A-F	IL17MS0089	02A08-35GS-16A04-9GS-ALB8	0,52	100	н./п.	н./п.
X-X	IL17MS1003	13B03-9GS-ALB8-9GS-13B03	0,86	102	3,8 $\pm$ 4,3	98 $\pm$ 16
X-X	IL17MS1013	13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8	0,88	102	б./и.	б./и.
F-X	IL17MS2022	16A04-9GS-ALB8-9GS-13B03	0,76	101	3,6 $\pm$ 0,4	93 $\pm$ 21
F-X	IL17MS2024	16A04-9GS-ALB8-9GS-13E02	1,02	100	4,5 $\pm$ 4,9	94 $\pm$ 20
X-X	MSB0010606	13E02-LH-Fc	0,19 $\pm$ 0,09	101 $\pm$ 7	б./и.	б./и.
X-X	MSB0010619	SH-Fc- (GS) 2-13E02	0,29 $\pm$ 0,09	100 $\pm$ 6	8,3 $\pm$ 6	87 $\pm$ 21
X-X	MSB0010618	SH-Fc- (GS) 2-13B03	0,37 $\pm$ 0,21	98 $\pm$ 4	5,0 $\pm$ 4	103 $\pm$ 16
X-X	MSB0010493	13B03VHH-SH-Fc	0,21	106	3,8	111

Пример 20. Блокирующая активность очищенных форматов нанотел против IL-17 дикого типа в клеточном анализе с использованием IL-17A и IL-17F яванского макака.

Исследовали зависимость от дозы ингибирование индуцированной IL-17A (1 нМ) и IL-17F (15 нМ) яванского макака секреции IL-6 клетка HT-1080 исследовали. Так как все одновалентные нанотела продемонстрировали равную активность в отношении IL-17A и IL-17F человека и яванского макака ожидали, что поливалентные нанотела и нанотела с Fc также будут одинаково активными. Фактически это оказался случай, когда тестируемые нанотела (табл. 20) за исключением IL17MS1013 (13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8) и MSB0010606 (13E02-LH-Fc) не продемонстрировали ингибирования IL-17F яванского макака.

Пример 21. Связывание форматов нанотел против IL-17 дикого типа, несущих ALB8 с HLE, с сывороточным альбумином человека.

Для четырнадцати форматов нанотел против IL-17 дикого типа, содержащих ALB8 с HLE, определяли скорости обратной реакции связывания с сывороточным альбумином человека поверхностным плазмонным резонансом с использованием Biacore (табл. 21). Все нанотела демонстрируют сходные скорости обратных реакций в диапазоне от 5,4E-03 до 6,6E-03 с⁻¹. Она является немного большей, чем скорость обратной реакции только для ALB8 (1,65E-03 с⁻¹), что, как правило, наблюдали при слиянии

ALB8 с другими структурными элементами нанотела, таким образом, эти скорости обратных реакций являются приемлемыми.

Таблица 21

Аффинности нанотел против IL-17 с ALB8 с HLE к HSA по сравнению с аффинностью только ALB8

Специфичность	ID нанотела	Конструкция	K_{off} (s^{-1})
A-F	IL17MS0089	02A08-35GS-16A04-9GS-ALB8	$6,60E-03$
A-F	IL17MS0110	04G01-35GS-16A04-9GS-ALB8	$6,10E-03$
F-A	IL17MS0141	07B11-35GS-04B09-9GS-ALB8	$5,80E-03$
F-A	IL17MS0154	16A04-35GS-04G01-9GS-ALB8	$5,70E-03$
F-A	IL17MS0166	24G10-35GS-04G01-9GS-ALB8	$5,90E-03$
X-X	IL17MS1003	13B03-9GS-ALB8-9GS-13B03	$5,80E-03$
X-X	IL17MS1005	13E02-9GS-ALB8-9GS-13E02	$5,80E-03$
X-X	IL17MS1013	13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8	$6,40E-03$
F-X	IL17MS2022	16A04-9GS-ALB8-9GS-13B03	$5,40E-03$
F-X	IL17MS2024	16A04-9GS-ALB8-9GS-13E02	$5,70E-03$
X-F	IL17MS2042	01A01-9GS-ALB8-9GS-24G10	$6,30E-03$
F-X	IL17MS2081	07B11-35GS-01A01-9GS-ALB8	$6,60E-03$
X-F	IL17MS2117	13B03-35GS-16A04-9GS-ALB8	$6,00E-03$
X-F	IL17MS2131	13E02-35GS-16A04-9GS-ALB8	$6,20E-03$

Пример 22. Определение аффинности форматированных нанотел против IL-17 дикого типа с использованием технологии KinExA.

Аффинность ограниченного набора форматированных нанотел определяли с использованием KinExA. Как показано в табл. 22, существует определенный эффект avidности, который можно измерять при форматировании нанотел, этот эффект особенно очевиден у IL-17F, например, для перекрестно реагирующего нанотела 13E02 X-X, форматированного как 13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8 или как слияние с Fc, для перекрестно реагирующего нанотела 13B03 X-X, форматированного как слияние с Fc и для нанотел F-X, форматированных как 16A04-9GS-ALB8-9GS-13B03 и 16A04-9GS-ALB8-9GS-13E02. Как и ожидалось, для конструкций A-F эффект avidности не наблюдают, но avidность не является необходимой так как структурные элементы уже имеют высокую аффинность. Для конструкций слияния с Fc, по видимому, 13B03-Fc с длинным шарниром, обеспечивает более высокий эффект avidности, чем 13B03-Fc с коротким шарниром.

Аффинность связывания IL-17A и IL-17-F человека у некоторых одновалентных и форматированных нанотел против IL-17 дикого типа и эталонных соединений, как определяют в KinExA

Специфичность	ID нанотела	Конструкция	Конц. нанотела (пМ)	Kd (пМ) IL-17A-6HIS	Kd (пМ) IL-17F-6HIS
A		04G01	600	13,4	
A		04B09	600	20,7	
X		01A01	200	1,3	
X		13B03	500	22,5	4910,0
X		13E02	500	35,9	3625,0
F		16A04	100		19,4
F		07B11	600		12,8
X-X		13B03-SH-Fc	300	0,2	132,3
X-X		13B03-LH-Fc	50	2,0	20,0
X-X		13B03-LH-Fc	10	0,5	22,3
X-X		SH- (GS) 2-Fc-13B03	100		144,8
X-X		SH- (GS) 2-Fc-13B03	10	0,1	
X-X		13E02-SH-Fc	100	9,0	155,5
X-X		13E02-SH-Fc	30	3,6	
X-X		13E02-LH-Fc	600		2040,0
X-X		SH- (GS) 2-Fc-13E02	100		11,8
X-X	IL17MS1013	13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8	300	0,3	230,0
A-F	IL17MS0089	02A08-35GS-16A04-9GS-ALB8	50	7,0	
A-F	IL17MS0089	02A08-35GS-16A04-9GS-ALB9	100		17,9

A-F	IL17MS0089	02A08-35GS- 16A04-9GS-ALB9	300		156,4
F-A	IL17MS0141	07B11-35GS- 04B09-9GS-ALB8	50	5,0	
F-A	IL17MS0141	07B11-35GS- 04B09-9GS-ALB8	100		10,5
F-X	IL17MS2022	16A04-9GS-ALB8- 9GS-13B03	50	4,2	4,6
F-X	IL17MS2024	16A04-9GS-ALB8- 9GS-13E02	50	4,6	1,7
A		mAb02 Fab	200	362,8	
A		mAb02 IgG	500	112,2	
A		mAb02 IgG	100	255,6	
F		B-E52 mAB	600		643,0

Пример 23. Оптимизация последовательностей.

Нанотела IL17MS04G01 (A) (SEQ ID NO: 635), IL17MS16A04 (F) (SEQ ID NO: 648), IL17MS13E02 (X) (SEQ ID NO: 664) и IL17MS13B03 (X) (SEQ ID NO: 662) дополнительно брали для гуманизирования и оптимизации последовательностей. Фактически все еще возможно получить все форматы A-F/F-A, X-F/F-X и X-X. Гуманизирование представляет собой процесс, в котором исходные последовательности нанотел® дикого типа подвергают мутированию с получением последовательностей нанотел®, которые более идентичны консенсусным последовательностям зародышевой линии человека VH3-JH. Оптимизация последовательности включает замену одного или нескольких конкретных аминокислотных остатков в последовательности для улучшения одного или нескольких (желаемых) свойств нанотел. Некоторые примеры такой оптимизации последовательностей приведены в дальнейшем описании с настоящим документе и, например, в качестве неограничивающих примеров включают замены, которые улучшают долговременную стабильность или свойства при хранении, замены, которые увеличивают уровни экспрессии в желаемой клетке-хозяине или в организме-хозяине, и/или замены, которые удаляют или снижают (нежелательные) посттрансляционные модификации (такие как гликозилирование или фосфорилирование), также в зависимости от желаемой клетки-хозяина или организма-хозяина. Конкретные аминокислоты за исключением так называемых характерных остатков, в FR, которые отличаются у нанотела® и консенсуса зародышевой линии VH3-JH человека, заменяют на аналог у человека, таким образом, что структура, активность и стабильность белка остаются интактными. Аминокислотную последовательность исходного нанотела® дикого типа также выравнивают с аминокислотной последовательностью зародышевой линии нанотела® ламы IGHV (определенной как лучший результат из анализа BlastP нанотела® в сравнении с зародышевыми линиями ламы IGHV), и в определенных случаях вводят мутации в соответствии с зародышевой линией ламы для увеличения стабильности нанотела, что определяют как камелизация.

Например, и без ограничения, когда исследовали гуманизирование и оптимизацию последовательности IL17MS04G01, в IL17MS04G01 выявили 8 аминокислотных остатков, которые можно замещать с целями гуманизирование/камелизация и выявлен 1 возможный аминокислотный остаток, который можно замещать для улучшенной химической стабильности. В процессе оптимизации последовательности IL17MS04G01 конструировали 12 вариантов IL17MS04G01 (основной вариант и 11 дополнительных вариантов). Основной вариант (IL17MS3010) содержит 5 замен: A14P, A74S, E81Q, K83R и Q108L. В дополнение к этим заменам в дополнительных вариантах вносили и исследовали замены E1D, Q18L, T23A и A84P. Их собирали из олигонуклеотидов с использованием способа достройки ПЦР с перекрытием. Конструкции экспрессировали в *E.coli* и очищали посредством IMAC и обессоливания.

Отобранное количество вариантов оценивали на их способность связывать hIL-17 посредством поверхностного плазмонного резонанса и на их нейтрализующую активность в Alphascreen. Также тестировали термостабильность вариантов в анализах DSC или теплового сдвига с использованием Lightcycler (Roche). В этом анализе варианты нанотел инкубируют при различных pH в присутствии sypro orange и прикладывают температурный градиент. Когда нанотела начинают денатурировать, sypro orange связывается, и измеряемая флуоресценция мгновенно возрастает, фактически можно определять температуру плавления для определенного pH. Анализ проводили за два цикла, в первом цикле оценивали одиночные мутации и комбинированные мутации в основных вариантах, и на основе этих результатов получали два конечных варианта, где исследовали влияние мутации E1D. Эту мутацию проводили для предотвращения возможного формирования пироглутамата. Результаты обобщены в табл. 23 и 24. В табл. 24, 26, 28,

30, 33 и 34

"клеточный анализ IC₅₀ hIL-17A" и "IC₅₀ hIL17A", соответственно, относятся к клеточному анализу с использованием hIL-17A, описанному в примере 9;

"клеточный анализ IC₅₀ hIL-17F" и "IC₅₀ hIL17F", соответственно, относятся к клеточному анализу с использованием hIL-17F, описанному в примере 9;

"клеточный анализ IC₅₀ hIL-17A/F" и "IC₅₀ hIL17A/F", соответственно, относятся к клеточному анализу с использованием hIL-17A/F, описанному в примере 9.

Таблица 23

Результаты анализа вариантов первого цикла оптимизации последовательности IL17MS04G01

ID	Мутация (и)	Средняя IC ₅₀ Alphascreen IL-17A-IL-17RA (nM)	k _{off} hIL- 17A (с ⁻¹)	k _{off} IL- 17A/F (с ⁻¹)	T _m при pH 7 (°C) TSA	T _m (°C) DSC
IL17MS04G01	WT	93	1,80 - 1,16E-04	2,30 - 1,70E-04	73,13-75	74,5
IL17MS3010 основная	A14P, A74S, E81Q, K83R, Q108L	184	1,30E-04	2,17E-04	74,79	74,4
IL17MS3011	основная+Q18L	139	1,32E-04	2,23E-04	77,28	
IL17MS3012	основная+T23A	101	1,37E-04	2,28E-04	71,47	69,5
IL17MS3013	основная+A84P	81	1,16E-04	1,85E-04	78,11	76,3
IL17MS3015	основная+Q18L, A84P	171				79,8
IL17MS3016	основная+T23A, A84P	177				72,7
IL17MS3017	основная+Q18L, T23A, A84P	163	1,44E-04	2,42E-04	76,45	76,1

Таблица 24

Результаты анализа вариантов второго цикла оптимизации последовательности IL17MS04G01

ID	Мутации	Средняя IC ₅₀ Alphascreen IL-17A-IL- 17RA (nM)	IC ₅₀ клеточн. анализ hIL-17A (nM)	IC ₅₀ клеточн. анализ hIL- 17A/F (nM)	IC ₅₀ IL-17A- IL-17RA конкурентный ELISA (nM)	k _{off} hIL-17A (с ⁻¹)	k _{off} IL-17A яванского макака (с ⁻¹)	k _{off} IL- 17A/F (с ⁻¹)	T _m при pH 7 (°C) TSA	T _m (°C) DSC
IL17MS04G01	WT	93	710	7550	122	1,16E- 04	3,20E-04	1,70 - 2,30 E- 04	73-75	74,5
IL17MS3060	основная + E1D, Q18L, A84P	81	930	5500	181	1,50E- 04	1,54E-04	2,09E- 04	81	81,6
IL17MS3061	основная + E1D, Q18L, T23A, A84P	27	940	8150		1,46E- 04	1,81E-04	1,95E- 04	76,5	77,6

В анализах блокирования рецепторов выявлено, что все варианты хорошо переносятся без значительных изменений в активности (максимум 2-кратное отличие по сравнению с диким типом). Также данные скорости обратной реакции находились в том же диапазоне, что и у дикого типа. Q18L и A84P оказывали положительное воздействие на T_m. Однако T23A оказывала отрицательное воздействие на T_m и, таким образом, исключена из конечного варианта.

На основании второго цикла анализа (табл. 24) сделано заключение, что мутация E1D не влияет на T_m или активность. T_m IL17MS3060 на 7°C выше, чем у WT, T_m IL17MS3061 только на 2,5°C выше, чем WT, и, таким образом, IL17MS3060/3015 стала конечным вариантом, анализ ее эффективности блокирования рецептора сравним с диким типом, а также в анализе на основе клеток HT-1080 эффективность в отношении hIL-17A и h-IL-17A/F находится в том же диапазоне, что и у WT. Скорости обратных реакций IL17MS3060 в отношении IL-17A человека, IL-17A/F человека и IL-17A яванского макака являются сходными со скоростью обратной реакции WT. % Идентичности каркаса в каркасных областях у IL17MS3060 на основе определения AbM составляет 88,8%, а у IL17MS3015 89,9% (см. Antibody Engineering, Vol. 2 by Kontermann & Dübel (Eds), Springer Verlag Heidelberg Berlin, 2010).

Таблица 25

Результаты анализа вариантов оптимизации последовательности IL17MS13B03, выбранных на основании скрининга библиотеки, A-RA = Alphascreen hIL-17A - IL-17RA; F-RC = Alphascreen hIL-17F - IL-17RC

ID	Мутации (основная = A14P, A74S, K83R, Q108L)	IC ₅₀ A-RA, кратность отличия по сравнению с WT	IC ₅₀ F-RC, кратность отличия по сравнению с WT	k _{off} (с ⁻¹) IL-17A	k _{off} (с ⁻¹) IL-17F	k _{off} IL-17A/F (с ⁻¹)	T _m при pH 7 (°C)
IL17MS 13B03	WT	1,0	1	1,31E - 2,08E-04	7,92E-03	6,21E-05 - 1,25E-04	80
IL17MS3044	основная + S11L			2,12E-04	7,76E-03	2,53E-04	79
IL17MS3045	основная + T40A			2,70E-04	7,94E-03	6,16E-04	83
IL17MS3046	основная + N61A			2,81E-04	8,48E-03	5,15E-04	81
IL17MS3048	основная + D82aN			2,95E-04	8,74E-03	6,65E-04	81,5
IL17MS3050	основная + D16G			2,67E-04	8,55E-03	5,75E-04	82
IL17MS3051	N29F	1,4	0,4	2,05E-04	2,16E-03	3,96E-04	75
IL17MS3052	N29S	0,9	0,5	2,89E-04	4,39E-03	5,18E-04	78
IL17MS3053	S30T	1,3	1,2	2,58E-04	9,82E-03	5,20E-04	78
IL17MS3043	основная + D16G, D79Y			2,76E-04	8,11E-03	5,85E-04	91
IL17MS3049	основная + T40A, D79Y			1,50E-04	7,57E-03	2,48E-04	91
IL17MS3047	основная + S11L, D16G, T40A, N61A, D79Y, D82aN	1,1	0,7	2,52E-04	3,48E-03	5,38E-04	94,5

Подобным образом и без ограничения, когда исследовали гуманизирование и оптимизацию последовательности IL17MS13B03 (SEQ ID NO: 662), выявлено, что в целях гуманизирования в IL17MS13B03 можно заменить 10 аминокислотных остатков. В этом случае получали основной вариант, содержащий мутации A14P, A74S, K83R и Q108L. Затем конструировали мини-библиотеку основного мутанта с 2⁵ * 3 = 96 перестановками в положениях 11, 16, 40, 61, 79 и 82aN. Конструировали две дополнительных библиотеки для рандомизации положений 29 и 30 для устранения участка дезаминирования N29S30.

Библиотеки трансформировали в TG1 и отдельные колонии накалывали и выращивали в 96-луночных планшетах. Получали периплазматические экстракты, секвенировали и подвергали скринингу на скорости обратных реакций. Мутации не оказывали большого влияния на скорости обратных реакций. Выбранные конструкции очищали для проверки эффективности в Alphascreen и для определения T_m. Результаты обобщены в табл. 25.

Подтверждено, что большинство исследованных мутантов не оказывают большого влияния на эффективность или скорости обратных реакций 13B03, по всей видимости только мутации N29S и N29F улучшают активность в отношении IL-17F человека. Так как N29F вызывает падение T_m, N29S выбрана для дальнейшего исследования.

Все другие мутации продемонстрировали небольшое увеличение T_m, а мутация D79Y даже вызывала увеличение T_m на 11°C. Получали варианты второго цикла, где были включены все гуманизирующие мутации и мутация N29S. Также оценивали влияние мутации E1D, на 20% предотвращающей образование пироглутамата в положении E1. Кроме того, включали мутацию F34M. Оценку проводили посредством измерения активности блокирования рецепторов в конкурентных анализах на основе белков и клеточных анализов, определения скорости обратной реакции и T_m, и это представлено в табл. 26. Для новых вариантов наблюдают очень большое увеличение T_m по сравнению с WT. Активность вариантов в отношении блокирования IL-17A сравнима с WT, однако активность вариантов в отношении IL-17F значительно увеличивалась. Конечный вариант представлял собой IL17MS3067 и IL17MS3068 (содержащую мутацию E1D в случае нахождения нанотела на N-конце в поливалентной конструкции). % Идентичности каркаса в каркасных областях на основе определения AbM у IL17MS3067 составляет 88,8%, а у IL17MS3068 - 89,9%.

Также и снова без ограничения, когда исследовали гуманизирование и оптимизацию последовательности IL17MS13E02, выявлено, что с целью гуманизирования/камелизации в IL17MS13E02 можно замещать 8 аминокислотных остатков. В первом цикле процесса оптимизации последовательности IL17MS13E02, конструировали 16 вариантов IL17MS13E02 (основной вариант и 15 дополнительных вариантов). Основной вариант (IL17MS3018) содержит 4 замены: A14P, A74S, K83R и Q108L. В дополнение к этим изменениям проводили замены L37F, K71R, G75K и I76N замены и исследовали в дополнительных вариантах. Их собирали из олигонуклеотидов с использованием способа достройки ПЦР с перекры-

ванием. Выбранные конструкции экспрессировали в *E.coli* и очищали посредством ИМАС и обессоливания для дальнейшего анализа.

Для удаления участков РТМ конструировали четыре библиотеки с рандомизацией положений М34, М78, D100с и S100D. Библиотеки трансформировали в TG1 и отдельные колонии накалывали и выращивали в 96-луночных планшетах. Получали периплазматические экстракты, секвенировали и подвергали скринингу на скорости обратных реакций. На основе результатов для дальнейшего исследования в виде очищенного белка выбирали следующих мутантов: M34L, M34V, M78L, M78V, S100dT и S100dA. Результаты обобщены в табл. 27.

Таблица 26

Результаты анализа вариантов оптимизации последовательностей IL17MS13B03 во втором цикле;
A-RA = Alphascreen hIL-17A - IL-17RA; F-RC = Alphascreen hIL-17F-IL-17RC

ID	Мутации (основная = A14P, A74S, Q108L)	IC ₅₀ A-RA, кратность отличия по сравнению с WT	IC ₅₀ F-RC, кратность отличия по сравнению с WT	IC ₅₀ A-RA, конкурентный ELISA	IC ₅₀ F-RC, конкурентный ELISA	IC ₅₀ клеточн. анализ hIL17A (нМ)	IC ₅₀ клеточн. анализ hIL17F (нМ)	IC ₅₀ клеточн. анализ яванского макака IL-17F (нМ)	IC ₅₀ клеточн. анализ hIL17A/F (нМ)	k _{off} hIL17A (с ⁻¹)	k _{off} IL-17A яванского макака (с ⁻¹)	k _{off} hIL17F (с ⁻¹)	k _{off} IL-17F яванского макака (с ⁻¹)	k _{off} hIL17A/F (с ⁻¹)	T _m при pH 7 (°C)	T _m DSC (°C)
IL17MS13B03	WT	1,0	1,0	131	7042	1,34	35	29 +/- 15	4,32	1,31 - 2,08E-04	1,14E-04	7,92E-03	4,69E-03	6,21E-05 - 1,25E-04	80	81
IL17MS3066	основная + E1D, S11L, D16G, N29S, T40A, N61D, D79Y, D82aN	0,7	0,3												96	
IL17MS3068	основная + S11L, D16G, N29S, F34M, T40A, N61D, D79Y, D82aN	1,2	0,2												99	100
IL17MS3067	основная + E1D, S11L, D16G, N29S, F34M, T40A, N61D, D79Y, D82aN	1,3	0,2	333	2301	0,7	35,0	13 +/- 5	1,8	1,33E-04	1,26E-04	1,38E-03	1,66E-03	1,83E-04	99	100

Таблица 27

Результаты анализа вариантов оптимизации последовательности IL17MS13E02;

A-RA = Alphascreen hIL-17A- IL-17RA; F-RC = Alphascreen hIL-17F-IL-17RC

ID	Мутация (и) (основная = A14P, A74S, K83R, Q108L)	IC ₅₀ A-RA, кратность отличия по сравнению с WT	IC ₅₀ F-RC, кратность отличия по сравнению с WT	k _{off} hIL-17A (с ⁻¹)	k _{off} hIL-17F (с ⁻¹)	Biacore k _{off} IL-17A/F (с ⁻¹)	T _m при pH 7 (°C)
IL17MS13E02	WT	1	1	1,14E-04	2,23E-03	3,97E-05	66
IL17MS3018 основная	A14P, A74S, K83R, Q108L	1,13	0,8	9,26E-05	2,67E-03	1,38E-05	67
IL17MS3019	основная + L37F	3,72	4,6	7,45E-04	3,49E-02	3,10E-04	74,39
IL17MS3020	основная + K71R	1,24	1,3	2,84E-05	1,47E-03	<1E-06*	67,34
IL17MS3021	основная + G75K	2,75	0,9	2,16E-04	4,32E-03	6,43E-05	64,02
IL17MS3022	основная + I76N	1,17	0,9	6,41E-05	2,40E-03	9,89E-06	70,24
IL17MS3027	основная + K71R, I76N	1,23	0,6		1,30E-03		70,6

IL17MS3032	основная + K71R, G75K, I76N	1,42	0,5		8,30E-04		72,7
IL17MS3034	M34L	1,68	2,7	1,16E-04	5,96E-03	4,02E-05	63,93
IL17MS3038	M34V		3,2	2,25E-04	1,01E-02	6,82E-05	62
IL17MS3035	M78L	2	1,22	7,59E-05	4,31E-03	3,65E-05	66,47
IL17MS3039	M78V		1,25	2,10E-04	5,15E-03	4,03E-05	66,5
IL17MS3036	S100dT	2,06	2,2	1,32E-04	4,40E-03	4,31E-05	67,71
IL17MS3037	S100dA	1,61	1	1,16E-04	3,67E-03	4,67E-05	68,54

Таблица 28

Результаты анализа вариантов оптимизации последовательностей IL17MS13E02 во втором цикле;

A-RA = Alphascreen hIL-17A- IL-17RA; F-RC = Alphascreen hIL-17F-IL-17RC

ID	Мутации (основная = A14P, A74S, K83R, Q108L)	IC ₅₀ A-RA кратность отличия по сравнению с WT	IC ₅₀ F-RC кратность отличия по сравнению с WT	IC ₅₀ клеточн. анализ hIL-17A (нМ)	IC ₅₀ клеточн. анализ hIL-17F (нМ)	IC ₅₀ клеточн. анализ IL-17F яванского макака (нМ)	IC ₅₀ клеточн. анализ hIL-17A/F (нМ)	K _{off} hIL-17A (с ⁻¹)	K _{off} IL-17A яванского макака (с ⁻¹)	K _{off} hIL-17F (с ⁻¹)	K _{off} IL-17F яванского макака (с ⁻¹)	Biacore K _{off} IL-17A/F (с ⁻¹)	T _m при pH 7 (°C)	T _m DSC pH 8,8
IL17MS13E02	WT	1	1	1,73	44 +/-22	35 +/-1	1,99	1,14E-04	1,03E-04	2,23E-03	4,60E-02	3,97E-05	66,09	70
IL17MS3069	основная + K71R, G75K, I76N, M78L, S100dA		0,15										75,62	78
IL17MS3070	основная + E1D, K71R, G75K, I76N, M78L, S100dA	0,58	0,15	0,74	18 +/-10	34 +/-33	1,63	6,34E-05	5,85E-05	1,12E-03	1,62E-02	7,82E-05	75,62	
IL17MS3071	основная + M34L, K71R, G75K, I76N, M78L, S100dA		0,3										73,55	
IL17MS3072	основная + E1D, M34L, K71R, G75K, I76N, M78L, S100dA	0,59	0,3	0,77	27 +/-15	25,2 +/- 23	3,5						73,55	

Мутация L37F демонстрирует падение активности в анализе Alphascreen IL-17A-RA и IL-17F-RC, а также воздействию подвергается скорость обратной реакции с IL-17F. Таким образом, мутация не включена в конечный вариант. Другие гуманизирующие мутации K71R, G75K и I76N не имеют большого влияния на эффективность или скорость обратной реакции и включены в конечный вариант. Мутация M34 в V или L снижала активность 13E02.

Получали четыре варианта IL17MS3032 второго цикла, включающие M78L и S100dA. Мутации M34L и E1D были рандомизированы. Результаты анализа этих вариантов представлены в табл. 28. Мутация E1D не влияла ни на T_m, ни на активность. T_m всех вариантов относительно WT возрастала (приблизительно на 9,5°C или 7,5°C). Активность вариантов по сравнению с WT возрастала, где лучшим является вариант IL17MS3070, не содержащий мутацию M34L. Таким образом, мутацию M34L не включали в конечные варианты, которые стали включать IL17MS3069 и IL17MS3070 (содержащий мутацию E1D в случае, когда Nanody находится на N-конце в поливалентной конструкции). % Идентичности каркаса в каркасных областях на основе определения AbM у IL17MS3069 составляет 92,1%, а у IL17MS3070 - 91%.

Подобным образом и снова без ограничения, когда исследовали гуманизирование и оптимизацию последовательности IL17MS16A04, выявлено, что с целью гуманизирование/камелизации в IL17MS16A04 можно замещать 10 аминокислотных остатков. В этом случае получали основной вариант, содержащий мутации A14P, K83R и Q108L. Затем конструировали мини-библиотеку основного мутанта с 2⁷ = 128 перестановками в положениях 48, 61, 63, 65, 74, 82а и 84. Конструировали две дополнительных библиотеки для рандомизации положений 55 и 56 для устранения участка изомеризации D55S56. Библиотеки трансформировали в TG1, и отдельные колонии накалывали и выращивали в 96-луночных планшетах. Получали периплазматические экстракты, секвенировали и подвергали скринингу на скорости обратных реакций. Когда проводят мутации V61D и/или E63V, наблюдают падение скорости обратной реакции. Эти мутации не включали в последующие варианты. Для библиотек PTM принято решение исследовать дополнительные мутации D55G, D55E и S56T. В первом случае очищали несколько мутантов, в основном для анализа T_m, результаты обобщены в табл. 29.

Таблица 29

Результаты анализа вариантов оптимизации последовательности IL17MS16A04

ID	Мутация (и) (основная = A14P, K83R, Q108L)	IC ₅₀ в Alphascreen IL-17F-IL- 17RC кратность отличия по сравнению с WT	k _{off} hIL-17F (с ⁻¹)	k _{off} IL- 17A/F (с ⁻¹)	T _m при pH 7 (°C)	T _m (°C) DSC
IL17MS 16A04	WT	1,0	4,05E- 04	2,40E- 03	69,44	69
IL17MS3040	D55G	9,6	1,48E- 03	8,78E- 03	64,87	
IL17MS3041	D55E	2,2	6,06E- 04	4,27E- 03	66,53	
IL17MS3042	S56T	8,6	1,21E- 03	5,00E- 03	70,68	
IL17MS3055	основная + D65G, S82aN		4,93E- 04	3,32E- 03	68,6	
IL17MS3054	основная + G74S, A84P		4,59E- 04	3,08E- 03	72,34	75,5
IL17MS3056	основная + I48V, G74S		5,14E- 04	2,88E- 03	63,62	

Без ограничения конкретными механизмом, гипотезой или объяснением, на основе полученных данных предположено, что D55E представляет собой лучшую мутацию в отношении аффинности, но приводит к небольшому падению T_m. D55E представляет собой консервативную мутацию, которую выбрали для дальнейшего исследования. D55G является не лучшим кандидатом в отношении эффективности и приводит к большому падению T_m и от нее отказались. S56T представляет собой лучшую мутацию в отношении T_m, но в отношении эффективности она является менее хорошей.

Также и снова без ограничения конкретными механизмом, гипотезой или объяснением, на основе полученных данных отмечено, что IL17MS3056 приводит к падению T_m, чего не наблюдается у IL17MS3054 (содержащем мутацию G74S вместе с IL17MS3056). Так как мутация A84P, как правило, увеличивает стабильность, вероятно, падение T_m вызывает I48V. Это проверяли дополнительно. Во втором цикле получали и анализировали пять вариантов с фиксированными мутациями (основная + D65G, G74S, S82aN и A84P) и рандомизированными мутациями (E1D, I48V, D55E, S56T), результаты представлены в табл. 30.

Анализ вариантов второго цикла подтвердил, что мутация I48V вызывала падение T_m, а также отрицательно влияла на эффективность. Таким образом, от этой мутации в конечном варианте отказались. Мутация E1D не влияет на эффективность или T_m. Хотя эффективность всех вариантов по сравнению с WT снижалась, было решено, что IL17MS3063 дает лучшие результаты в отношении эффективности в одновалентном формате. Этого не наблюдали в клеточных анализах, но этот анализ является менее чувствительным, чем Alphascreen. T_m IL17MS3063 является немного более высокой, чем у WT. Таким образом, IL17MS3063 (когда находится на N-конце) или структурный элемент на его основе без мутации E1D (когда не находится на N-конце в поливалентной конструкции) выбирали в качестве предпочтительной аминокислотной последовательности по изобретению для дальнейшего исследования. % Идентичности каркасных областей на основе определения AbM у IL17MS3063 составляет 86,5% и у IL17MS3063 без мутации E1D - 87,6%.

Таблица 30

Результаты анализа вариантов оптимизации последовательности IL17MS16A04 во втором цикле

TD	Мутации (основная = A14P, A74S, K83R, Q108L)	IC ₅₀ в Alphascreen IL-17F-IL- 17RC, кратность отличия по сравнению с WT	IC ₅₀ в клеточн. анализе hIL-17F (нМ)	IC ₅₀ в клеточн. анализе IT-17F яванского макака (нМ)	IC ₅₀ в клеточн. анализе hIL-17A/F (нМ)	k _{off} IL- 17F (с ⁻¹)	k _{off} IL- 17F яванского макака (с ⁻¹)	k _{off} IL- 17A/F (с ⁻¹)	T _m при рН 7 (°C)	T _m (°C) DSC
IL17MS16A04	WT	1,0	28+/-31	7,30+/-0,1	8,0	3,82 - 4,10E-04	6,36E-04	2,39 - 2,50E-03	69,4	69,0
IL17MS3059	Основная + E1D, I48V, D55E, D65G, G74S, S82aN, A84P	6,7							66,9	
IL17MS3062	Основная + I48V, D55E, D65G, G74S, S82aN, A84P	7,4							67,7	
IL17MS3063	Основная + E1D, D55E, D65G,	3,7	14+/-13	34,2+/-34	1,6	6,55E-04	1,11E-03	2,65E-02	71,0	74,5
	G74S, S82aN, A84P									
IL17MS3064	Основная + E1D, I48V, S56T, D65G, G74S, S82aN, A84P	30,3							68,9	
IL17MS3065	Основная + E1D, S56T, D65G, G74S, S82aN, A84P	12,7							73,1	

Пример 24. Получение и анализ уровня экспрессии содержащих оптимизированную последовательность поливалентных нанотел против IL-17 с ALB11 с HLE.

Предпочтительные содержащие оптимизированную последовательность варианты реформатировали во все возможные комбинации: A-F/F-A, X-F/F-X и X-X с HLE ALB в середине, связанные двумя линкерами 9GS. В качестве поддержки также получали два формата только с A (см. табл. 31). Конструкции получали в *Pichia pastoris* в качестве белков без меток и очищали посредством аффинной хроматографии с MEP HyperCel или с белком A с последующим обессоливанием. Проводили анализ количества копий и выходы экспрессии рассчитывали на основе клонов с наибольшим количеством копий (см. табл. 31).

Таблица 31

Результаты анализа уровня экспрессии очищенных поливалентных содержащих оптимизированную последовательность нанотел против IL-17 с ALB11 с HLE

ID нанотела	Конструкция	Рассчитанный выход в ферментере (г/л)
IL17MS3076	IL17MS3070-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3068	1,5
IL17MS3077	IL17MS3067-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3069	1,5
IL17MS3078	IL17MS3070-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3069	>1,5
IL17MS3079	IL17MS3067-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3068	1
IL17MS3080	IL17MS3060-9GS-ALB11	0,5
IL17MS3081	ALB11 (с E1D) -9GS-IL17MS3015	<<0,5
IL17MS3082	IL17MS3060-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3063 (без E1D)	<0,5
IL17MS3083	IL17MS3063-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3015	<0,5
IL17MS3084	IL17MS3063-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3068	1,5
IL17MS3085	IL17MS3067-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3063 (без E1D)	1
IL17MS3086	IL17MS3063-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3069	1,5
IL17MS3087	IL17MS3070-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3063 (без E1D)	1

Пример 25. Анализ блокирующей способности содержащих оптимизированную последовательность поливалентных нанотел против IL-17 с ALB11 с HLE в конкурентном ELISA с использованием IL-17A или IL-17F человека.

Активность проверяли в конкурентном ELISA с IL-17A-IL-17RA и IL-17F-IL-17RC, как описано в примере 17. Значения IC₅₀ представлены в табл. 32.

Таблица 32

Результаты блокирующей способности содержащих оптимизированную последовательность очищенных поливалентных нанотел против IL-17 с ALB11 с HLE в конкурентном ELISA;

б./и. = без ингибирования, н./о. = не определяли

Специфичность	ID нанотела	Исходное N-концевое нанотело	Центральное нанотело	Исходное C-концевое нанотело	IC ₅₀ в конкурентном ELISA с IL-17A-IL-17RA (нМ)	IC ₅₀ в конкурентном ELISA с IL-17F-IL-17RC (нМ)
X-X	IL17MS3076	13E02	ALB11	13B03	64	149
X-X	IL17MS3077	13B03	ALB11	13E02	62	153
X-X	IL17MS3078	13E02	ALB11	13E02	58	143
X-X	IL17MS3079	13B03	ALB11	13B03	56	184
A	IL17MS3080	04G01		ALB11	140	б./и.
A	IL17MS3081	ALB11		04G01	н./о.	н./о.
A-F	IL17MS3082	04G01	ALB11	16A04	43	100
F-A	IL17MS3083	16A04	ALB11	04G01	141	99
F-X	IL17MS3084	16A04	ALB11	13B03	29	16
X-F	IL17MS3085	13B03	ALB11	16A04	40	20
F-X	IL17MS3086	16A04	ALB11	13E02	54	13
X-F	IL17MS3087	13E02	ALB11	16A04	88	23
X	мAB03				50	17
A	мAB02				1309	б./и.

Пример 26. Блокирующая активность содержащих оптимизированную последовательность очищенных поливалентных нанотел против IL-17 с ALB11 с HLE в анализе на основе клеток с использованием IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека в присутствии или в отсутствие HSA.

Для 5 содержащих оптимизированную последовательность очищенных поливалентных нанотел против IL-17 с ALB11 с HLE в биологическом анализе HT-1080, как в примерах 18 и 20, исследовали зависимость от дозы ингибирования индуцированной hIL-17A, hIL-17F, hIL-17A/F, CIL-17A и CIL-17F секции IL-6 клетками HT-1080.

Результаты демонстрируют, что 5 тестируемых содержащих оптимизированную последовательность очищенных поливалентных нанотел против IL-17 ингибируют hIL-17A, hIL-17F, hIL-17A/F, CIL-17A и CIL-17F со сходной от субнанолярной до одноразрядной нанолярной активностью (табл. 33). Активность и эффективность являются сходными или лучшими, чем активность и эффективность, наблюдаемые для эталонных соединений mAb против IL-17A и против IL-17A/F. Кроме того, добавление 100 мкМ HSA в культуры не имело значительного влияния на активность содержащего оптимизированную последовательность очищенного поливалентного нанотела против IL-17 (табл. 34 по сравнению с табл. 33).

Таблица 33

Значения IC₅₀ для форматированных содержащих оптимизированную последовательность нанотел против IL-17 в биологическом анализе HT-1080 в отсутствие HSA

Результаты выражены в виде среднего $\pm$ SD из N экспериментов. N = 2 или *N = 1

Нанотело или контроль	Конструкция	Клеточный анализ HT-1080 (1500 клеток)									
		IC ₅₀ hIL17A ¹⁾ (нМ)	E _{max} (%)	IC ₅₀ hIL17F ²⁾ (нМ)	E _{max} (%)	IC ₅₀ hIL17A/F ³⁾ (нМ)	E _{max} (%)	IC ₅₀ IL17A ⁴⁾ яванского макака (нМ)	E _{max} (%)	IC ₅₀ IL17F ⁵⁾ яванского макака (нМ)	E _{max} (%)
IL17MS3079	IL17MS3067-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3068	0,35 $\pm$ 0,08	95 $\pm$ 2	5,4 $\pm$ 3	82 $\pm$ -3	0,59 $\pm$ 0,25	83 $\pm$ 26	0,35 $\pm$ 0,04	97 $\pm$ 1	4,5 $\pm$ 4	88 $\pm$ 20
IL17MS3084	IL17MS3063-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3068	0,44 $\pm$ 0,03	94 $\pm$ 1	5,5 $\pm$ 3	85 $\pm$ 6	1,66 $\pm$ 1,2	82 $\pm$ 23	0,37 $\pm$ 0,06	97 $\pm$ 2	5,0 $\pm$ 2	89 $\pm$ 16
IL17MS3085	IL17MS3067-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3063 (без E1D)	0,54 $\pm$ 0,16	94 $\pm$ 1	5,8 $\pm$ 3	87 $\pm$ 4	0,98 $\pm$ 0,5	83 $\pm$ 21	0,44 $\pm$ 0,04	95 $\pm$ 5	6,7 $\pm$ 1	90 $\pm$ 11
IL17MS3086	IL17MS3063-9GS-ALB11-9GS-	0,50 $\pm$ 0,13	95 $\pm$ 1	3,4 $\pm$ 1	84 $\pm$ 7	1,85 $\pm$ 0,7	87 $\pm$ -23	0,35 $\pm$ 0,08	96 $\pm$ 1	3,6 $\pm$ 3	94 $\pm$ 11
	IL17MS3069										
IL17MS3087	IL17MS3070-9GS-ALB11-9GS-IL17MS3063 (без E1D)	0,44 $\pm$ 0,01	94 $\pm$ 2	5,8 $\pm$ 1	84 $\pm$ 5	1,04 $\pm$ 0,2	87 $\pm$ 24	0,39 $\pm$ 0,04	97 $\pm$ 5	6,7 $\pm$ 2	95 $\pm$ 5
mAb03	mAb	0,89*	94	7,1 $\pm$ 0,5	88 $\pm$ -9	1,93*	102	2,8 $\pm$ 1,6	93 $\pm$ 1	6,3 $\pm$ 1	96 $\pm$ 18
mAb02	mAb	0,74*	90			0,95*	60				

1) конечная концентрация лиганда 1 нМ;

2) конечная концентрация лиганда 15 нМ;

3) конечная концентрация лиганда 5 нМ;

4) конечная концентрация лиганда 15 нМ;

5) конечная концентрация лиганда 1 нМ;

Таблица 34

Значения IC_{50} форматованных содержащих оптимизированную последовательность нанотел против IL-17 в биологическом анализе HT-1080 в присутствии HSA

Результаты выражены в виде среднего $\pm$ SD из N экспериментов. N = 2 или *N = 1

Нанотело или контроль	Конструкция	Клеточный анализ HT-1080 (1500 клеток)									
		IC_{50} hIL17A (нМ)	E_{max} (%)	IC_{50} hIL17F (нМ)	E_{max} (%)	IC_{50} hIL17A/F (нМ)	E_{max} (%)	IC_{50} яванского макака IL- 17A (нМ)	E_{max} (%)	IC_{50} яванского макака IL- 17F (нМ)	E_{max} (%)
IL17MS3079	IL17MS3067-9GS- ALB11-9GS- IL17MS3068	0,50 $\pm$ 0,03	91 $\pm$ 1	8,5 $\pm$ 1	87 $\pm$ 2	1,32 $\pm$ 0,3	95 $\pm$ 11	0,40*	100	4,0*	89
IL17MS3084	IL17MS3063-9GS- ALB11-9GS- IL17MS3068	0,55 $\pm$ 0,16	93 $\pm$ 0	5,6 $\pm$ 5	89 $\pm$ 3	1,14 $\pm$ 0,9	96 $\pm$ 18	0,30*	98	1,1*	97
IL17MS3085	IL17MS3067-9GS- ALB11-9GS- IL17MS3063 (без E1D)	0,73 $\pm$ 0,21	92 $\pm$ 2	6,6 $\pm$ 6	89 $\pm$ 4	1,58 $\pm$ 1,4	90 $\pm$ 9	0,33*	98	8,0*	80
IL17MS3086	IL17MS3063-9GS- ALB11-9GS- IL17MS3069	0,70 $\pm$ 0,20	93 $\pm$ 0	6,0 $\pm$ 4	91 $\pm$ 4	2,52 $\pm$ 0,09	94 $\pm$ 15	0,33*	98	1,2*	97
IL17MS3087	IL17MS3070-9GS- ALB11-9GS- IL17MS3063 (без E1D)	0,57 $\pm$ 0,16	91 $\pm$ 4	6,3 $\pm$ 4	83 $\pm$ 9	1,54 $\pm$ 1,3	88 $\pm$ 16	0,35*	94	7,0*	70
mAb03	mAb	0,89*	90	8,3 $\pm$ 1	90 $\pm$ 6	1,67*	104	2,68*	90	1,9*	96
mAb02	mAb	1,42*	88			9,21*	72				

Пример 27. Связывание форматованных содержащих оптимизированную последовательность нанотел против IL-17, содержащих ALB11 с HLE, с сывороточным альбумином человека.

Для 5 выбранных форматованных содержащих оптимизированную последовательность нанотел против IL-17, содержащих ALB11 с HLE, посредством поверхностного плазмонного резонанса с использованием Biacore (табл. 35) определяли скорости обратных реакций связывания с сывороточным альбумином человека. Все нанотела демонстрируют сходные скорости обратных реакций в диапазоне от $5,1E-03$ до $4,4E-03$ s^{-1} , сравнимые с форматованными нанотелами против IL-17 дикого типа.

Таблица 35

Аффинности форматованных содержащих оптимизированную последовательность нанотел против IL-17 с ALB11 с HLE к HSA

Специфичность	ID нанотела	k_{off} (s^{-1})
X-X	IL17MS3079	4,40E-03
F-X	IL17MS3084	4,60E-03
X-F	IL17MS3085	4,60E-03
F-X	IL17MS3086	5,00E-03
X-F	IL17MS3087	5,10E-03

Пример 28. Блокирующая активность содержащих оптимизированную последовательность очищенных поливалентных нанотел против IL-17, содержащих ALB11 с HLE In vivo у мышей, которым вводятся рекомбинантные IL-17A и IL-17F человека.

Хотя одновалентные и поливалентные нанотела против IL-17, описываемые в настоящем документе, не распознают ни IL-17A, ни IL-17F мыши, клетки мыши отвечают на рекомбинантные IL-17A и IL-17F человека (см. WO 2007/070750, пример 7). Кроме того, рекомбинантные IL-17A или IL-17F, вводимые нормальным мышам, индуцируют секрецию хемокина CXCL8 (также известного как KC для происходящего из кератиноцитов хемокина), который можно определять в сыворотке в выбранные моменты времени. У мышей исследовали способность форматованного содержащего оптимизированную последовательность нанотела против IL-17 IL17MS3086, содержащего нанотело ALB11 с HLE, блокировать индукцию in vivo сывороточного KC после инъекции рекомбинантного IL-17A человека (rhIL-17A) или рекомбинантного IL-17F человека (rhIL-17F). Каждой группе из пяти мышей проводили подкожную (п/к) инъекцию 100 мкл PBS, отдельно (плацебо-группа с PBS) или содержащего 10 мкг/мышь рекомбинантных IL-17A или IL-17F человека. За четыре часа перед инъекцией IL-17 мышей внутривенно обрабатывали (в/в) антителом изотипического контроля, контрольным нанотелом (ALB11) или нанотелом IL17MS3086 против IL-17 человека (100 мкг, 28,5 мкг, 8,1 мкг или 2,3 мкг/мышь). В качестве эталонного

контроля использовали моноклональное антитело mAb02 против IL-17A, моноклональное антитело mAb B-F60 против IL-17F и моноклональное антитело mAb03 против IL-17A/F с двойной специфичностью. Для лучшего сравнения использовали эквимольные дозы антитела по сравнению с нанотелом (350 мкг, 100 мкг, 28,5 мкг или 8,1 мкг антитела). Через два часа после введения rhIL-17A и четыре часа после введения rhIL-17F собирали кровь и мышей умерщвляли. Собирали сыворотку и анализировали на уровне КС посредством ELISA.

И rhIL-17A, и rhIL-17F индуцировали и увеличивали уровни КС, хотя это было более заметно у rhIL-17A (фиг. 12). Нанотело IL17MS3086 блокировало способность rhIL-17A и rhIL-17F индуцировать КС в сыворотке мышей. Для rhIL-17A блокирование четко зависело от дозы (фиг. 12). При всех тестируемых дозах нанотело IL17MS3086 блокировало способность rhIL-17F индуцировать КС в сыворотке мышей лучше, чем эквивалентные дозы mAb03 или mAbB-F60. Кроме того, ингибирование нанотелом при эквивалентных дозах было лучше, чем наблюдаемое у mAb03 или mAb02 для rhIL-17A, так, например, доза 8,1 мкг IL17MS3086 в значительной степени нейтрализовала индуцированный rhIL-17A КС в сыворотке, тогда как та же доза mAb02 или mAb03 (фиг. 12) этого не делала.

Пример 29. Определение аффинности форматованного содержащего оптимизированную последовательность нанотела против IL-17 с ALB11 с HLE с использованием технологии KinExA.

Относительную аффинность IL17MS3091 (SEQ ID NO: 838; фиг. 8), меченного Мус-HIS варианта форматированного содержащего оптимизированную последовательность нанотела IL17MS3086 против IL-17 с ALB11 с HLE, к IL-17A и IL-17F человека и яванского макака оценивали с использованием способа измерения равновесной константы диссоциации (K_d) в растворе KinExA® (анализ кинетического исключения). Значения кинетических констант связывания K_{on} и K_{off} не определяли.

Диапазон и среднее значение K_d , наблюдаемые для IL17MS3091 (см. табл. 36), позволяют предположить, что исходное форматированное, содержащее оптимизированную последовательность нанотело против IL-17 IL17MS3086, связывается в растворе с IL-17A и IL-17F с очень высокой аффинностью (от одноразрядного пМ до суб-пМ) с незначительно лучшей аффинностью к IL-17A. Кроме того, значимых отличий между K_d , наблюдаемых для рекомбинантных цитокинов человека и яванских макаков, не наблюдали.

Таблица 36

Диапазон и средние значения K_d , наблюдаемые для IL17MS3091 посредством KinExA

Цитокин	K_d - (пкМ)	
	Диапазон	Среднее
	Низкое-Высокое	
IL-17A человека	0,094-1,02	0,4
IL-17A яванского макака	0,476-3,14	1,37
IL-17F человека	0,146-3,16	1,14
IL-17F яванского макака	0,360-11,2	2,82

В сравнении с этим аффинность связывания, как определяют посредством Biacore, mAb03 к hIL-17A составляла 15 пМ и к hIL-17F составляла 10 пМ. Таким образом, полипептид с комбинацией ISV класса 3 с ISV класса 4 приводил к очень высоким аффинностям связывания по сравнению с общепринятыми антителами.

Пример 30. Межвидовая перекрестная реактивность форматированных содержащих оптимизированную последовательность нанотел против IL-17 с ALB11 с HLE.

Связывание IL-17A и IL-17F других видов оценивали для IL17MS3091, меченой версии IL17MS3086, с использованием ELISA связывания, как описано в примере 11. IL17MS3091 демонстрирует связывание с IL-17A и IL-17F мартышки и яванского макака. Сигналов связывания ни с IL-17A мыши, крысы и морской свинки, ни с IL-17F мыши, крысы и морской свинки детектировано не было (табл. 37 и 38).

Таблица 37

Значения OD, получаемые для связывания IL17MS3091 с IL-17A различных видов в ELISA связывания, также представлены сигналы положительного и отрицательного контроля

Образцы	IL-17A человека	IL-17A яванского макака	IL-17A мартышки	IL-17A мыши	IL-17A крысы	IL-17A морской свинки
Отрицательный контроль	0,018	0,011	0,013	0,015	0,010	0,011
Положительный контроль	3,979	4,085	4,122	3,628	3,641	- *
IL17MS3091	1,523	2,225	2,517	-0,005	0,000	0,103

* доступного контроля для IL-17A морской свинки не было

Таблица 38

Значения OD, получаемые для связывания IL17MS3091 с IL-17F различных видов в ELISA связывания

Образцы	IL-17F человека	IL-17F яванского макака	IL-17F мартышки	IL-17F мыши	IL-17F крысы
Отрицательный контроль	0,017	0,021	0,020	0,046	0,037
Положительный контроль	3,564	3,981	3,550	3,549	3,571
IL17MS3091	0,741	1,314	0,573	-0,034	-0,027

Пример 31. Специфичность форматированного содержащего оптимизированную последовательность нанотела против IL-17 с ALB11 с HLE.

Неспецифическое связывание IL17MS3086 оценивали, измеряя связывающую способность этого нанотела с IL-17B, IL-17C, IL-17D или IL-17E человека посредством SPR, как описано в примере 12.

В то время как все контрольные антитела связывались с соответствующими им мишенями, IL17MS3086 не связывался с IL-17B, IL-17C, IL-17D или IL-17E человека.

Пример 32. Фармакокинетический профиль IL17MS3086 у самок яванского макака.

Фармакокинетический профиль IL17MS3086 определяли у самок яванского макака после одной внутривенной (в/в) болюсной дозы (2 и 6 мг/кг) и после одной подкожной (п/к) дозы (6 мг/кг). IL17MS3086 дозировали трем здоровым, не подвергавшимся лечению самкам яванского макака на маршруте и на уровне дозирования.

Для анализа фармакокинетических данных рассчитывали описательную статистику для маршрута, для группы дозирования и для момента отбора образца.

Индивидуальные плазматические профили концентрация-время подвергали бескомпарментному анализу (NCA) с использованием WinNonlin Pro 5.1 (Pharsight Corporation, USA; 2006). Площадь под кривой (AUC) определяли с использованием правила линейно вверх/логарифмически вниз. Значения LLOQ обрабатывали как отсутствующие за исключением того, когда сравнивали два значения выше LLOQ (нижний лимит количественного определения), тогда их считали нулевыми.

Определяли следующие основные фармакокинетические параметры: плазматическая концентрация в нулевой момент времени (C_0) после в/в введения или максимальная плазматическая концентрация ($C_{\max}$) после п/к введения; площадь под кривой плазматическая концентрация-время, экстраполированная до бесконечности ($AUC_{\text{беск.}}$), (кажущийся) общий клиренс (CL для в/в данных, CL/F в случае п/к данных), объем распределения в стационарном состоянии ($V_{d_{ss}}$) только в случае в/в данных, конечный период полувыведения ($t_{1/2}$) и абсолютная п/к биодоступность (F).

В случае в/в данных концентрацию в нулевой момент времени (C_0) определяли посредством расчета по результатам измерений на основе двух первых точек данных. Конечный период полувыведения ($t_{1/2}$) рассчитывали автоматически (наибольшее правдоподобие) с использованием log-линейной регрессии данных ненулевой концентрация-время 1 log-линейной части конечной фазы. Для определения λ_z рассматривали минимум три точки.

У одного животного, т.е. № 6317 (в/в, 2 мг/кг) положительные титры ADA, как оценивали посредством анализа гомогенного электрохемилюминесцентного шунтирования MSD, коррелировали с изменением углового коэффициента в фармакокинетическом профиле (начиная с 21 сут. после дозы). Поэтому это животное исключали из дальнейшего анализа РК.

На фиг. 13 приведены средние сывороточные профили концентрация-время IL17MS3086 после одной в/в болюсной дозы при 2 и 6 мг/кг или одной п/к дозы при 6 мг/кг, соответственно, у самок яванского макака.

В табл. 39 перечислены основные фармакокинетические параметры и соответствующая описательная статистика IL17MS3086 после одной в/в болюсной дозы при 2 и 6 мг/кг или одной п/к дозы при 6 мг/кг, соответственно, у самок яванского макака.

Таблица 39

Основные фармакокинетические параметры (n=2 или 3) IL17MS3086 после одной в/в болюсной дозы 2 и 6 мг/кг (верхняя панель) или одной п/к дозы 6 мг/кг (нижняя панель), соответственно, у самок яванского макака

Одно внутривенное (в/в) введение						
Уровень дозирования		C ₀	AUC _{беск}	CL	Vd _{ss}	t _{1/2}
		(мкг/мл)	(сутки* мкг/мл)	(мл/сутки/ кг)	(мл/кг)	(сут)
2 мг/кг	N	2	2	2	2	2
	Среднее	46,8	218	9,17	81,0	6,05
	SD	н./р.	н./р.	н./р.	н./р.	н./р.
	Мин	46,2	216	9,10	78,5	5,39
	Медиана	46,8	218	9,17	81,0	6,05
	Макс	47,4	220	9,24	83,4	6,71
	CV%	н./р.	н./р.	н./р.	н./р.	н./р.
6 мг/кг	N	3	3	3	3	3
	Среднее	181	866	6,99	64,4	6,86
	SD	17,5	102	0,774	9,02	1,15
	Мин	168	796	6,11	58,9	5,72
	Медиана	174	818	7,34	59,6	6,86
	Макс	201	983	7,53	74,8	8,01
	CV%	9,67	11,8	11,1	14,0	16,7
н./р., не рассчитывали						

Таблица 39, нижняя панель

Одно подкожное (в/в) введение						
Уровень дозирования		C _{макс}	T _{макс}	AUC _{инф}	CL/F	t _{1/2}
		(мкг/мл)	(сутки)	(сутки*мкг/ мл)	(мл/сутки/ кг)	(сутки)
6 мг/кг	N	3	3	3	3	3
	Среднее	62,7	1,1	667	9,07	6,79
	SD	10,3	0,858	76,2	0,973	0,246
	Мин	52,6	0,292	623	7,95	6,61
	Медиана	62,3	1	623	9,63	6,71
	Макс	73,2	2	755	9,64	7,07
	CV%	16,4	78,2	11,4	10,7	3,62

После в/в болюсного введения фармакокинетический профиль IL17MS3086 демонстрировал биэкспоненциальное снижение. В течение первых суток после в/в дозирования фаза распределения была видимой. Затем сывороточные концентрации IL17MS3086 снижались моноэкспоненциальным образом. Доступные данные не позволяли предполагать опосредуемую мишенью фармакокинетику этих здоровых обезьян.

После в/в введения экспозиция IL17MS3086 (AUC_{беск}) возрастала с увеличением дозы. Увеличение экспозиции было немного большим, чем пропорциональное дозе в диапазоне доз 2-6 мг/кг (AUC × 3,96 в сравнении с дозой × 3), что приводило к значениям CL 9,17 и 6,99 мл/кг/сутки при 2 и 6 мг/кг в/в соответственно. Соответствующие значения Vd_{ss} составляли 81,0 и 64,4 мл/кг, соответственно, позволяя предполагать распределение в тканях, t_{1/2} составлял приблизительно 6-7 суток в соответствии с временем полужизни в сыворотке альбумина яванских макаков.

После п/к введения C_{макс} достигалась через 1 сутки после дозирования. Свидетельств контролируемой всасыванием кинетики (t_{1/2} приблизительно 6,8 в сравнении с 6-6,8 сутками) после п/к введения не наблюдали. Абсолютную п/к биодоступность определяли на уровне 77%.

Пример 33. Эффективность нанотела против IL-17A/F in vivo в индуцированной коллагеном модели на яванских макаках.

Для оценки эффективности IL17MS3086 in vivo использовали модель индуцированного коллагеном артрита (CIA) на яванских макаках. Кратко, самок яванского макака китайского происхождения в возрас-

те 3-6 лет анестезировали посредством внутримышечной инъекции гидрохлорида кетамина (Kamid Drugs Pvt., Ltd, 50 мг/мл) и затем подкожно сенсibilизировали бычьим коллагеном II типа в полном адьюванте Фрейнда в 19 участках на спине и одном участке в основании хвоста. Процедуру сенсibilизации повторяли на сутки 21 исследования. На те же сутки, что и первая сенсibilизация через одну неделю после этого животным подкожно дозировали 10 мг/кг или 2,8 мг/кг IL17MS3086 (9-10 животных/группу). Эти две выбранные дозы соответствовали эквивалентной дозе (10 мг/кг) или эквимольной дозе (2,8 мг/кг) моноклональному антителу mAb03 против IL-17A/F с двойной специфичностью, которое использовали в качестве эталонного контроля и также вводили подкожно при 10 мг/кг. Кроме того, включали отрицательную контрольную группу (9 животных до суток 28 и 8 животные после) и положительную контрольную группу (2 животных). Животным отрицательного контроля подкожно дозировали буферный состав, тогда как животным группы положительного контроля внутривенно дозировали 10 мг/кг тоцилизумаба (RoActemra®), моноклонального антитела против IL-6R, по той же схеме. Ранее показано, что тоцилизумаб эффективно снижает связанные с артритом изменения в сходной модели CIA на яванских макаках (Uchiyama et al., 2008; Biol. Pharm. Bull, 31(6): 1159-1163).

Всех животных из всех групп наблюдали по меньшей мере раз в неделю на всем протяжении исследования, которое длилось 8 недель, после чего их всех подвергали некропсии. Симптомы артрита оценивали с использованием системы визуальной оценки и рентгенографии. Кроме того, регулярно контролировали параметр воспаления, С-реактивный белок (CRP). Каждого животного многократно оценивали в различные моменты времени, что обобщено в табл. 40.

Таблица 40

Определяемые конечные показатели в исследовании CIA у яванских макак

Конечный показатель	Моменты времени	Способы
Артрит	Акклиматизация: Сутки -4 до сенсibilизации Период дозирования: сутки 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56	Опухание пястно-фалангового, проксимального межфаланговых, дистальных межфаланговых суставов и запястных, голеностопных, локтевых и коленных суставов оценивали вслепую и выставляли баллы следующим образом: 0 = Аномалий нет, 1 = Опухание невидимо, но можно определять пальпаторно, 2 = Опухание немного видно и можно определять пальпаторно, 3 = Опухание отчетливо видно и сустав может быть полностью сгибается, 4 = Опухание отчетливо видно, но сустав не может полностью сгибаться, 5 = Неподвижность суставов. Балльная оценка артрита каждого животного является суммой из балльных оценок опухания для каждого отдельного сустава.
Общее состояние	Акклиматизация: Сутки -4 до сенсibilизации Период дозирования: сутки 7, 14, 21, 28, 35, 42,	Общее состояние каждого животного оценивали следующим образом: 0 = Отсутствие аномалий, 1 = Сложность повисания на прутьях клетки на пальцах, 2 = Неспособность повисать на прутьях клетки на

	49, 56	пальцах (использование запястий), 3 = Перемещение только с использованием передних конечностей или задних конечностей, 4 = Согнутое положение, 5 = Аномальное положение тела.
Рентгенографическое исследование	Акклиматизация: Сутки -4 до сенсibilизации Период дозирования: сутки 28, 56	Рентгеновские снимки получали, при нахождении животного под анестезией гидрохлоридом кетамина с использованием системы X-ray TV system (DREX-WIN64, Toshiba Medical Systems Corporation). Затем снимки исследовали с определением состояния суставов передних и задних конечностей (пястно-фалангового, проксимального межфалангового и дистального межфалангового суставов всех пальцев за исключением первого пальца - 48 суставов/животное). Каждый сустав с сужением и/или атрофией суставной щели давал оценку 1. Подобным образом когда присутствовали эрозия кости или разрушение структуры сустава сустав давал оценку 1. Затем определяли общую оценку для каждого параметра.
Масса тела	Акклиматизация: Сутки -1 до сенсibilизации Период дозирования:	Всех животных взвешивали с использованием электронных весов (НР-40К, A&D Co., Ltd.)

	Сутки 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56	
Клинические симптомы	Ежедневно	Всех животных наблюдали на всем протяжении исследования на клинические признаки и гибель. По мере необходимости проводили обследование поведения, сознания, положения, неврологическое исследование, дыхания, температуры тела, пульса, стула, мочи, рвоты/слюноотделения и кожи/меха/слизистой.
Уровни CRP в крови	Акклиматизация: Сутки -6 до сенсibilизации Период дозирования: сутки 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56	Уровни CRP в сыворотке определяли в латексном турбидиметрическом иммунологическом анализе с использованием автоматического анализатора (JCA-BM6070, JEOL Ltd.) и выражали в виде мг/дл.
Гистопатология	После некропсии на сутки 57	После получения кожу с запястного и предплюсневых суставов и пальцев разрезали ножницами после чего их вырезали и фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине. После обезжиривания в этаноле и декальцификации в растворе ЭДТА для декальцификации, суставы погружали в парафин и подготавливали для получения срезов. Затем срезы перед микроскопическим исследованием
		окрашивали гематоксилином-эозином и сафранином-О.

Сенсибилизация бычьим коллагеном II типа эффективно приводила к прогрессирующей ригидности и опуханию суставов, которые достигали максимума на сутки 56, как измеряли по артритному индексу у животных в группе отрицательного контроля. В отличие от этого обработанные IL17MS3086, mAb03 и положительным контролем животные демонстрировали значительное снижение ($p<0,01$) артритных индексов (фиг. 14), что происходило параллельно умеренному снижению уровней CRP в сыворотке, хотя эти уровни не снижались до величины уровней CRP в сыворотке у животных в группе положительного контроля (фиг. 15).

Кроме того, рентгеновское исследование пораженных суставов в конце исследования показало, что обработка IL17MS3086 значительно снижала эрозию кости и разрушение структуры сустава (шкала B) ($p<0,01$) и в меньшей степени сужение суставной щели (шкала A) (фиг. 16), которые являются характерными чертами артрита (Van der Heijde et al., 1995; J. Rheumatol. 22(9): 1792-1796). Положительное действие IL17MS3086 на патологические изменения суставов дополнительно подтверждали посредством гистологического исследования суставов после некропсии. Срезы суставов оценивали по нескольким параметрам, которые тесно связаны с биологией IL-17A и IL-17F и являются показателями воспаления суставов и ремоделирования кости по критериям, приведенным в табл. 41. Результаты показали, что частота тяжелых степеней после обработки IL17MS3086 снижалась во всех исследованиях подобно тому, что

наблюдается после обработки mAb03 или обработки положительным контролем, и что они были равно эффективны в этом отношении (фиг. 17).

В результате улучшения, наблюдаемого в отношении ригидности, опухания и повреждения суставов у обработанных IL17MS3086 животных, регистрировали улучшенную оценку общего состояния, что являлось показателем меньшего дискомфорта и улучшенной подвижности суставов по сравнению с обработанными буфером животными (фиг. 18). Наконец, падение массы тела у обработанных IL17MS3086 животных в конце исследования по сравнению с исходной массой тела находилось в пределах 5%, подобно обработанным mAb03 животным, тогда как масса тела у обработанных буфером животных падала на $14 \pm 2,5\%$ (среднее $\pm$ SEM).

Все эти изыскания соответствуют сниженной тяжести заболевания у обработанных IL17MS3086 и обработанных mAb03 животных и демонстрируют, что обработка IL17MS3086 улучшала состояние при артрите в этой разработанной модели CIA на обезьянах. Представляет интерес, что у обработанных IL17MS3086 для оцениваемых конечных показателей не наблюдали зависимости от дозы, что, вероятно, указывает на то, что доза 2,8 мг/кг уже обеспечивает максимальную эффективность, которая сходна с эффективностью дозы 10 мг/кг mAb03.

Исследование блокирующей активности у мышей в примере 28 продемонстрировало дозозависимый эффект ингибирования IL17MS3086 индуцированных IL-17A уровней КС в сыворотке. На фиг. 12А (с дозами, доведенными до мкг/кг), доза $\approx 0,1$ мг/кг (2,3 мкг/мышь) значительно снижает уровни КС в сыворотке. Доза $\approx 0,4$ мг/кг (8,1 мкг/мышь) или $\approx 1,4$ мг/кг (28,5 мкг/мышь) дополнительно снижает уровни КС в сыворотке. Однако, по-видимому, уже 0,4 мг/кг IL17MS3086 являются насыщающими, т.е. достигается плато в том, что 1,4 мг/кг IL17MS308628 только минимально снижают уровни КС в сыворотке. В отличие от этого, насыщения mAb03 в этом исследовании не происходило.

В настоящем исследовании CIA у яванских макаков использовали 2,8 мг/кг и 10 мг/кг IL17MS3086, что аналогично также является насыщающим, тогда как mAb03 - нет.

Таким образом, по-видимому, IL17MS2086 в настоящем исследовании является более эффективным.

Таблица 41

Критерии оценки для гистологического анализа

Показатели	Степень	Критерии
Гиперплазия синовиальных клеток	+	Увеличение количества синовиальных клеток
	2+	Заметное увеличение количества синовиальных клеток
Морфогенез грануляционной ткани*	$\pm$	Грануляционная ткань менее чем в 30% полости сустава
	+	Грануляционная ткань в 30%-80% полости сустава
	2+	Грануляционная ткань более чем в 80% полости сустава
Фиброз	+	Редкие волокна и большое содержание клеток
	2+	Большие и плотные волокна и недостаточное содержание клеток
Разрушение суставного хряща	$\pm$	Шероховатая поверхность суставного хряща и исчезновение округлых и веретенообразных хондроцитов в суставе
	+	Ацидофильный суставной хрящ, дегенеративный некроз хондроцитов и частичное разрешение
	2+	Широкий диапазон разрушения существующего суставного хряща
Остеоклазия	+	Частичное разрушение кости
	2+	Разрушение кости в костномозговой полости
Остеоклазия	+	Увеличение количества остеобластов и неогенез кости
Инфильтрация нейтрофилами	$\pm$	Минимальная инфильтрация
	+	Умеренная инфильтрация
	2+	Значительная инфильтрация

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Полипептид, который специфически связывается с человеческим IL-17A, человеческим IL-17F и/или человеческим IL-17A/F, содержащий:

(i) первую аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере один первый одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISV); и

(ii) вторую аминокислотную последовательность, содержащую по меньшей мере один второй одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISV);

где первый ISV содержит:

а) CDR1, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность SVVG или (ii) аминокислотную последовательность, которая содержит только 1 отличную от аминокислотной последовательности SVVG аминокислоту; и

б) CDR2, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность AISGSGDSIY-YAVSEKD или (ii) аминокислотную последовательность, которая содержит до 3 отличных от аминокислотной последовательности AISGSGDSIYYAVSEKD аминокислот; и

с) CDR3, которая представляет собой (i) аминокислотную последовательность DQEFGYLRFGRSEY или (ii) аминокислотную последовательность, которая содержит до 3 отличных от аминокислотной последовательности DQEFGYLRFGRSEY аминокислот;

и где второй ISV содержит:

д) CDR1, которая содержит или состоит из аминокислотной последовательности AMG; и

е) CDR2, которая содержит или состоит из (i) аминокислотной последовательности AISGSGDDTY-YADSVKG или (ii) аминокислотной последовательности, которая содержит до 3 отличных от аминокислотной последовательности AISGSGDDTYYADSVKG аминокислот; и

ф) CDR3, которая содержит или состоит из (i) аминокислотной последовательности RRGLY-YVWDSNDYEN или (ii) аминокислотной последовательности, которая содержит до 3 отличных от аминокислотной последовательности RRGLYYVWDSNDYEN аминокислот.

2. Полипептид по п.1, где

(i) указанная первая аминокислотная последовательность представляет собой аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 648 или 813; и где

(ii) указанная вторая аминокислотная последовательность представляет собой аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 664 или 819.

3. Полипептид по п.1 или 2, где

(i) указанный по меньшей мере один одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISV) указанной первой аминокислотной последовательности специфически связывается с IL-17F (SEQ ID NO: 840) и с гетеродимером, состоящим из IL-17A (SEQ ID NO: 839) и IL-17F (SEQ ID NO: 840), но специфически не связывается с IL-17A (SEQ ID NO: 839); и

(ii) указанный по меньшей мере один одиночный вариабельный домен иммуноглобулина (ISV) указанной второй аминокислотной последовательности специфически связывается с IL-17A (SEQ ID NO: 839), с IL-17F (SEQ ID NO: 840) и с гетеродимером, состоящим из IL-17A (SEQ ID NO: 839) и IL-17F (SEQ ID NO: 840).

4. Полипептид по любому из пп.1-3, где указанное специфическое связывание характеризуется скоростью диссоциации (константой скорости обратной реакции k_{off}) от 10^{-4} до 10^{-6} с^{-1} , как определено с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

5. Полипептид по любому из пп.1-3, где указанное специфическое связывание происходит с K_D менее 1 нМ, как определено с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

6. Полипептид по любому из пп.1-5, где указанная первая аминокислотная последовательность, содержащая по меньшей мере один ISR, и/или указанная вторая аминокислотная последовательность, содержащая по меньшей мере один ISV, содержит последовательность вариабельного домена легкой цепи, последовательность вариабельного домена тяжелой цепи или одиночный вариабельный домен (V_H).

7. Полипептид по любому из пп.3-6, где по меньшей мере один ISV может специфически связываться с IL-17F человека (класс 3), где по меньшей мере один ISV связывается с мутантом R47A, и/или R73A, и/или I86A, и/или N89A IL-17F со значительно сниженной аффинностью по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17F дикого типа.

8. Полипептид по любому из пп.3-6, где по меньшей мере один ISV может специфически связываться с IL-17A, IL-17F и IL-17A/F человека (класс 4), где по меньшей мере один ISV связывается с мутантом IL-17A по L74A, и/или Y85A, и/или N88A со значительно сниженной по сравнению со связыванием с последовательностью IL-17A дикого типа аффинностью.

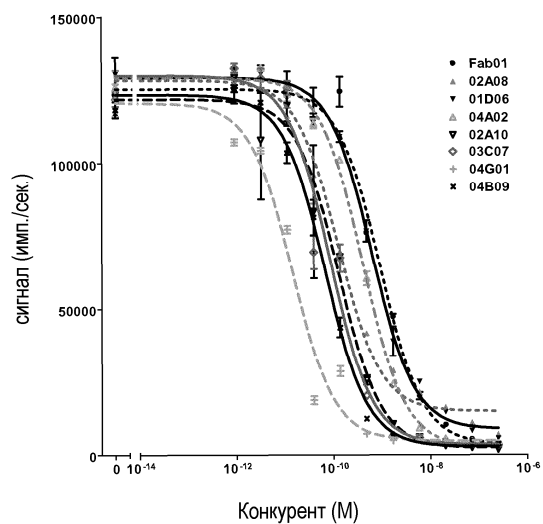
9. Полипептид по любому из пп.1-8, где полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 836, которая может содержать до 6 единичных аминокислотных замен, делеций и/или вставок.

10. Полипептид по любому из пп.1-8, где полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 836, которая может содержать до 3 единичных аминокислотных замен, делеций и/или вставок.

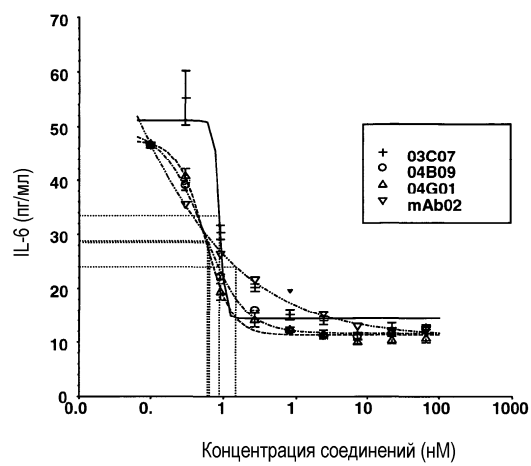
11. Применение полипептида по любому из пп.1-10 для лечения заболеваний, выбранных из группы, состоящей из системной красной волчанки, ревматоидного артрита, остеоартрита, юношеского хронического артрита, спондилоартропатий, системного склероза, идиопатических воспалительных миопатий, синдрома Шегрена, системного васкулита, саркоидоза, аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунной тромбоцитопении, тиреоидита, сахарного диабета, иммуноопосредованных заболеваний почек, демиелинизирующих заболеваний центральной и периферической нервной системы, таких как рассеянный склероз, идиопатическая демиелинизирующая полинейропатия или синдром Гийена-Барре и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезней желчи и желчных путей, таких как инфекционный аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительного заболевания кишечника, глютенчувствительной энтеропатии и болезни Уиппла, аутоиммунных или иммуноопосредованных заболеваний кожи, включающих буллезные заболевания кожи, полиморфную эритему и контактный дерматит, псориаза, аллергических заболеваний, таких как астма, аллергический ринит, атопический дерматит, гиперчувствительность к пище и крапивница, иммунологических заболеваний легких, таких как эозинофильная пневмония, идиопатический легочный фиброз и гиперчувствительный пневмонит, связанных с трансплантацией заболеваний, включающих отторжение трансплантата и реакцию "трансплантат против хозяина".

12. Фармацевтическая композиция, содержащая полипептид по любому из пп.1-10 и фармацевтически приемлемый эксципиент для лечения системной красной волчанки, ревматоидного артрита, остеоартрита, юношеского хронического артрита, спондилоартропатий, системного склероза, идиопатических воспалительных миопатий, синдрома Шегрена, системного васкулита, саркоидоза, аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунной тромбоцитопении, тиреоидита, сахарного диабета, иммуноопосредованных заболеваний почек, демиелинизирующих заболеваний центральной и периферической нервной системы, таких как рассеянный склероз, идиопатическая демиелинизирующая полинейропатия или синдром Гийена-Барре и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезней желчи и желчных путей, таких как инфекционный аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительного заболевания кишечника, глютенчувствительной энтеропатии и болезни Уиппла, аутоиммунных или иммуноопосредованных заболеваний кожи, включающих буллезные заболевания кожи, полиморфную эритему и контактный дерматит, псориаза, аллергических заболеваний, таких как астма, аллергический ринит, атопический дерматит, гиперчувствительность к пище и крапивница, иммунологических заболеваний легких, таких как эозинофильная пневмония, идиопатический легочный фиброз и гиперчувствительный пневмонит, связанных с трансплантацией заболеваний, включающих отторжение трансплантата и реакцию "трансплантат против хозяина".

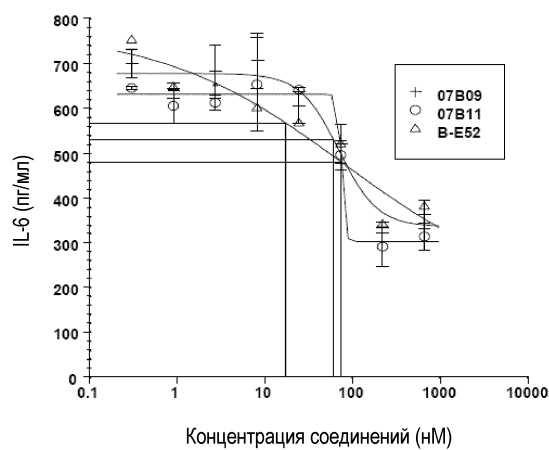
13. Способ лечения пациента посредством введения эффективного количества полипептида по пп.1-10, где способ предназначен для лечения системной красной волчанки, ревматоидного артрита, остеоартрита, юношеского хронического артрита, спондилоартропатий, системного склероза, идиопатических воспалительных миопатий, синдрома Шегрена, системного васкулита, саркоидоза, аутоиммунной гемолитической анемии, аутоиммунной тромбоцитопении, тиреоидита, сахарного диабета, иммуноопосредованных заболеваний почек, демиелинизирующих заболеваний центральной и периферической нервной системы, таких как рассеянный склероз, идиопатическая демиелинизирующая полинейропатия или синдром Гийена-Барре и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, болезней желчи и желчных путей, таких как инфекционный аутоиммунный хронический активный гепатит, первичный билиарный цирроз, гранулематозный гепатит и склерозирующий холангит, воспалительного заболевания кишечника, глютенчувствительной энтеропатии и болезни Уиппла, аутоиммунных или иммуноопосредованных заболеваний кожи, включающих буллезные заболевания кожи, полиморфную эритему и контактный дерматит, псориаза, аллергических заболеваний, таких как астма, аллергический ринит, атопический дерматит, гиперчувствительность к пище и крапивница, иммунологических заболеваний легких, таких как эозинофильная пневмония, идиопатический легочный фиброз и гиперчувствительный пневмонит, связанных с трансплантацией заболеваний, включающих отторжение трансплантата и реакцию "трансплантат против хозяина".



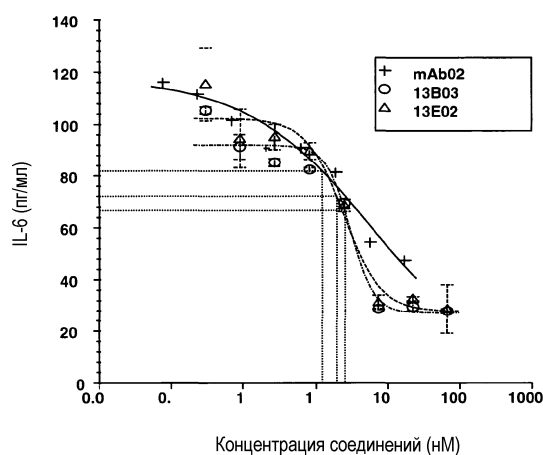
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

Класс 1 Семейство 1 01D02 (SEQ ID NO: 623)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGLSFSSYALGWFRQAP GKERDFVAAINWSGDNTHYADSVKGRFTISRDNAKNTVSLQ MNSLKPEDTAVYYCAAQLGYESGYSLTYDYYDWGQGTQV TVSS
Класс 1 Семейство 2 01G03 (SEQ ID NO: 624)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASERTISNYDMGWFRQAP GKERELIAADISWSALNTNYADSVKGRFTISRDNAKNMVYL QMNNLKPEDTAVYYCAARRSGYASFDNWGQGTQVTVSS
Класс 1 Семейство 3 02E03 (SEQ ID NO: 625)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWARQAP GEGLEWVSDINSGGTRTTYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQ MNSLKPEDTAVYVCAKLSVFRSQLGGKYYGGDYENRGQGT QVTVSS
Класс 1 Семейство 4 03B08 (SEQ ID NO: 626)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDY AIGWFRQAP GKEREGVSCISSDGSIIYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYHCAFRGTGWAEECVDYDYGWQGTQVTV SS
Класс 1 Семейство 5 03E05 (SEQ ID NO: 627)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVTFFDDYSIGWFRQAP GKEREGVSCISSDGIPIYYSDFKGRFTTSIDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAAGFGRCAEFDSWGQGTQVTVSS
Класс 2 Семейство 6 01D06 (SEQ ID NO: 628)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAADGRFTFSTYGMTWFRQV PGKEREFVAHIPRSTYSPYYANSVKGRFTIARDDAKSTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAVFTGGTYVPTAYDYGWQGTQVTV SS
Класс 2 Семейство 7 02A08 (SEQ ID NO: 629)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCADRSERSFSFNAMGWFRQAP GKEREFVAAISATGDDTYADSVKGRFAISRDTARNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCGARVNFDTVSYTNDYAYWGQGTQV TVSS
Класс 2 Семейство 8 02A10 (SEQ ID NO: 630)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALGYAIGWFRQAP GKEREGVSCDSSSDGRTYYGDSVKGRFTISTDSAKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCATCTDFEYDYGWQGTQVTVSS
Класс 2 Семейство 8 04B09 (SEQ ID NO: 631)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLGYYAIGWFRQAP GKEREGVSCDSSSDGDTYYANSVKGRFTISTDNGKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCATCTDWNYYDYGWQGTQVTVSS
Класс 2 Семейство 9 03C07 (SEQ ID NO: 632)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDY AIGWFRQAP GKEREA VSCFSSSDGSIIYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQM NSLKPEDTAVYYCAGGGGSYYYTQLNYCYDMDYWGKGTQ VTVSS
Класс 2 Семейство 10 04A02 (SEQ ID NO: 633)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASRNINIINMAWYRQAP GNQRELVAAMTSDATTEYADSVKGRFTISRDIPE NTVYLQM NSLKPEDTAVYYCNAKGIWDYLGRRDFGDYWGQGTQVTV SS

Класс 2 Семейство 11 04B10 (SEQ ID NO: 634)	EVQLVESGGGLVQAGGSQSLSCVASGTIVNINVMGWYRQA PGKQRELVALITSGGGTTYGDSVKGRFTISIDNAKNTVILQM NSLEAEDTAVYYCAAIEGYYSGGTYFSSEAHWGQGTQVTV SS
Класс 2 Семейство 11 04G01 (SEQ ID NO: 635)	EVQLVESGGGLVQAGGSQRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQA PGKQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYLE MNSLKAEDTAVYYCAAIEGYYSGGTYYSSEAHWGQGTQVT VSS
Класс 2 Семейство 12 04F09 (SEQ ID NO: 636)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFSTHAMGWFRQA PGKERDFVAAIRWSDGSSFYADSVKGRFTISRDNNAKNAVYL QNSNLKSEDTAVYYCYADVEGPTALHKYWGRGTQVTVSS
Класс 2 Семейство 13 09D10 (SEQ ID NO: 637)	EVQLVESGGGLVQAGGSLSLSCAASGSVFRIDVMRWHRQA PGKQREFLASIASGGTTNYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCGANAESGPYTYWGLGTQVTVSS
Класс 2 Семейство 14 09G10 (SEQ ID NO: 638)	EVQLVESGGGLVQAGGSRLSCAASDSVFTAKAVGWYRQP PGLQREWVAIITSGGKTNYADSSVKGRFTVSVDKVKNVTVL QMNSLKPEDTAVYYCYAQWMGRDYGWQGTQVTVSS
Класс 2 Семейство 15 11A06 (SEQ ID NO: 639)	EVQLVESGGGLVQPGESLRLSCKASGFSLDYYALGWFRQAP GKEREGISCITSSDASAYYTDSVKGRFTISRDNNAKNTVYLQ NSLKTEDTAIYYCAAALLTCSSYYDAYTYWGQGTQVTVSS
Класс 3 Семейство 16 06E11 (SEQ ID NO: 640)	EVQLVESGGGLVQAGGSRLSCPVSGRAFSRGRLGWFRQAP GKEREFVAVAHWSGAITSYADSVKGRFTISRDNNAKNTMNL QMNSLKPEDTAVYYCAADSETSGNWWVYGWQGTQVTVSS
Класс 3 Семейство 17 07B09 (SEQ ID NO: 641)	EVQLVESGGGLVQAGGSRLSCGASGGTFSSYATGWFRQAP GKEREFVAVLRWSDGHTAYADSVKGRFTISRDNNAKNTMYL QMSSLKPEDTAIYYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSS
Класс 3 Семейство 17 24G10 (SEQ ID NO: 642)	EVQLVESGGGLVQAGGSRLSCGAAGGTFSSYATGWFRQA PGKEREFVAVFRWSDSHTAYADSVKGRFTISRDNNAKNTVYL QMSSLKPEDTAIYYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSS
Класс 3 Семейство 18 07B11 (SEQ ID NO: 643)	EVQLVESGGGLVQAGGSRLSCVASGRAFSYVMGWFRQA PGMEREFVALIRWSDGITGYVDSVKGRFTISRDNNAKNTVYL QMNSLKPEDTAVYYCAAAPRPDGYDYWGQGTQVTVSS
Класс 3 Семейство 19 08A08 (SEQ ID NO: 644)	EVQLVESGGGLVQAGGSRLSCAASGRFTFRPYRMGWFRRA PGKAREFVTLISWSSGRTSYADSVKGRFTISRDSAKNAVYLY MDNLKPEDTAVYFCAVDLSGDAVYDSWGQGTQVTVSS
Класс 3 Семейство 20 08B07 (SEQ ID NO: 645)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRDFRVKNVGVIRQAP GKQRELVAITVGGSTNYADSAKGRFTISRDNNAKNTVYLQ SSLKPEDTAVYYCNAVATVDYTGTYSDGFWGQGTQVTVS S

Класс 3 Семейство 21 08H01 (SEQ ID NO: 646)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGASGGTFSSYATGWFRQAP GKEREIVAVLRWSDSHTAYADSVGRFTISRDKAKNTVYLQ MSSLKPEDTAIYYCTTGTRPGEWHYWGQGTQVTVSS
Класс 3 Семейство 22 12A09 (SEQ ID NO: 647)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYRMAWVRQAP GKGLEWVSSTSTGGEMTNYADSVKGRFTISRDNAKNTLHL QMNSLKPEDTALYYCAAGTSAGHWSTGGQGTQVTVSS
Класс 3 Семейство 23 16A04 (SEQ ID NO: 648)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAP GKEREFIGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKNTLYLQM SSLKAEDTAVYYCTADQEFGLRFRSEYWGQGTQVTVSS
Класс 3 Семейство 24 24B08 (SEQ ID NO: 649)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGGTFSTYKMGWFRQA PGKEREIVARISTNGPTAYAEFVKGRFTVSRENTKNTVYLQ MNSLNIEDTAVYYCAAGYDSLAFAGYDYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 25 01A01 (SEQ ID NO: 650)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAP GKEREGVSCFTSSDGRFTFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQ MNSLEPEDTAVYFCAAVNTFDESAYAAFACVDVVRWGQGT QVTVSS
Класс 4 Семейство 26 09B09 (SEQ ID NO: 651)	EMQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMYWARQA PGKGLEWISALAPGGDDEYYADSVNNGRFTISRDNKAENSLYL QMNSLKSEDTAVYYCAKDHNVGYRTGEYDYGGQGTQVTV SS
Класс 4 Семейство 26 09E11 (SEQ ID NO: 652)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMYWVRQA PGKGLEWISALAPGGDNRYADSVNNGRFTISRDNKAENSLYL QMNSLKSEDTAVYYCAKDHNVGYRTGEYDYGGQGTQVTV SS
Класс 4 Семейство 26 10A04 (SEQ ID NO: 653)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMYWVRQA PGKGLEWISALAPGGGNRYAESVNNGRFTISRDNKAENSLYL QMNSLKSEDTAVYYCAKDHNVGYRTGEYDYGGQGTQVTV SS
Класс 4 Семейство 26 10A05 (SEQ ID NO: 654)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMYWVRQA PGKGLEWISALAPGGDNRYADSVNNGRFTISRDNKAENSLYL QMNSLKSEDTAVYYCAKDHNVGYRTGEYDYGGQGTQVTV SS
Класс 4 Семейство 26 10D11 (SEQ ID NO: 655)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFSSYWMYWVRQA PGKGLEWISALAPGGEHRYADSVNNGRFTISRDNKAENSLYL QMNSLKSEDTAVYYCAKDHNVGYRTGEYDYGGQGTQVTV SS
Класс 4 Семейство 26 10F02 (SEQ ID NO: 656)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMYWVRQA PGKGLEWISALAPGGGNAYYADSVNNGRFTISRDNKAENLLYL QMNSLKSEDTAVYYCAKDHNVGYRTGEYDYGGQGTQVTV SS

Класс 4 Семейство 27 11A02 (SEQ ID NO: 657)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVIFRLNAMGWYRAA PGKQRELVAIIINGGSTNYADSVKGRFTISRDSAKNAVYLQM NSLKPEDTAVYYCYYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 27 11A07 (SEQ ID NO: 658)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAAPGVIFRLNAMGWYRAA PGKQRELVAIIANGGSTNYADSVKGRFTISRDSAKNAVYLQ MNSLKPEDTAVYYCYYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 27 11C08 (SEQ ID NO: 659)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVIFRLNAMGWYRAA PGKQRELVAIIVNGGSTNYADSVKGRFTISRDSAKNAVYLQ MNSLKPEDTAVYYCYYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 27 11C09 (SEQ ID NO: 660)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVIFRLNAMGWYRAA PGKQRELVAIIVNGGSTNYADSVKGRFTISRDSAKNAVYLQ MDSLKPEDTAVYYCYYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 27 12H11 (SEQ ID NO: 661)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGVIFRLNAMGWYRAA PGKQRELVAIIVNGGSTNYADSVKGRFTISRDNAMNAVYLQ MNSLKPEDTAVYYCYYNIPGDVYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 28 13B03 (SEQ ID NO: 662)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTP GKEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNAMNTVDLQ MDSLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 28 13D05 (SEQ ID NO: 663)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTP GKEREFVAGIRWTDAYTEYAASVKGRFTISRDNAMNTVGLQ MDSLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGSQVTVSS
Класс 4 Семейство 29 13E02 (SEQ ID NO: 664)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYDAMGWLQAPG KEREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQM NSLKPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTV SS
Класс 4 Семейство 29 01D08 (SEQ ID NO: 665)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYAMGWLQAPG KEREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLEM NSLKPEDTAVYYCATRRGRYYVWDSNDYENWGQGTQVTV SS
Класс 4 Семейство 29 13E07 (SEQ ID NO: 666)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYAMGWLQAPG KEREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQM NSLKPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTV SS
Класс 4 Семейство 29 13G06 (SEQ ID NO: 667)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYHAMGWLQAPG KEREFVAAVSGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQ MNSLKPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVT VSS

Класс 4 Семейство 29 13H05 (SEQ ID NO: 668)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWFRQAPG KEREFVAAISGSGEDTYADSVKGRFTCSKDNAKDTMYLQ MNSLKPEDTAVYYCATRRGLYFIDTSNDYENWGQGTQVTV SS
Класс 4 Семейство 30 13E05 (SEQ ID NO: 669)	EVQLVESGGGKVQAGDSLTLSCVASGGTFSNYAAWFRQAP GKDRRELVVSIKRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCASAYNPGVGYDYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 30 17B03 (SEQ ID NO: 670)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCEASGGTFSNYAAWFRQGP GKGRRELVVSIKRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQ MNSLKPEDTGIIYCASAYNPGIGYDYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 30 17D08 (SEQ ID NO: 671)	EVQLVESGGGLVQAGDSLTLSCVASGGTFSNYAAWFRQAP GKDRRELVVSIKRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCASAYNPGVGYDYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 30 17E05 (SEQ ID NO: 672)	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCEASGGTFSNYAAWFRQGP GKGRRELVVSIKRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQ MNSLKPEDTGIIYCASAYNPGIGYDYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 30 17G08 (SEQ ID NO: 673)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCEASGGTFSNYAAWFRQGP GKGRRELVVSIKRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQ MNSLKPEDTGIIYCASAYNPGIGYDYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 30 17H04 (SEQ ID NO: 674)	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCVASGGTFSNYAAWFRQAP GKGRRELIVSIKRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCASAYNPGIGYDYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 30 17H07 (SEQ ID NO: 675)	EVQLVESGGGLVQAGDSLTLSCVASGGTFSNYAAWFRQAP GKDRRELVVSIKRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCASAYNPGVGYDYWGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 31 01C09 (SEQ ID NO: 676)	EVQLVKSGGGLVQAGGSLKLSAASGRTFTTYPMGWFRQA PGKEREFVGAISMSGEDTIYATSVKGRFTISRDDARNTVTLH MTSLKPEDTAVYYCAARTSYNGRYDYIDDYSYWGQGTQVT VSS
Класс 4 Семейство 31 01F10 (SEQ ID NO: 677)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYPMGWFRQA PGKEREFVAAISMSGEDAAYATSVKGRFTISRDNARNTVYL HMTTLKPEDTAVYYCAARTSYNGIYDYIDDYSYWGQGTQ VTVSS
Класс 4 Семейство 31 02D02 (SEQ ID NO: 678)	EVQLVESGGGLVQAGGSLKLSAASGRTFTTYPMGWFRQA PGKEREFVAAISMSGDDTAYATFVKGRFTIVRDDDKNVYL HMTSLKPEDTAVYYCAARTSYSGTYDYIDDYSYWGQGTQV TVSS

Класс 4 Семейство 31 13A08 (SEQ ID NO: 679)	EVQLVESRGRLVQAGGSLRLSCAASGRTFTSYPMGWFRQAP GKEREFVAAISMSGDDAAYADFVRGRFTISRDDARNTVYLH MTSLKPEDTAVYYCAARTSYDGTIDYIDYSSWGQGTQVT VSS
Класс 4 Семейство 31 13B05 (SEQ ID NO: 680)	EVQLVESGGRLVQAGGSLRLSCAASGRTFTSYPMGWFRQAP GKEREFVAAISMSGDDTAYTDFVRGRFTISRDDARNTVYLH MTSLKPEDTAVYYCAARTSYDGTIDYIDYSSWGQGTQVT VSS
Класс 4 Семейство 31 13C06 (SEQ ID NO: 681)	EVQLVESGGRLVQAGGSLRLSCAASGRTFTSYPMGWFRQAP GKEREFVAAISMSGDDAAYADFVRGRFTISRDDARNTVYLH MTSLKPEDTAVYYCAARTSYDGTIDYIDYSSWGQGTQVT VSS
Класс 4 Семейство 31 13E01 (SEQ ID NO: 682)	EVQLVESEGGLVQAGGSLRLSCARSGHAFTSYPMGWFRQA PGKEREFVAAISMSGDDTIYRDFVKGRFTISRDNARNTVYLH MTSLKPEDTAVYYCAARTSYDGRYDYIDYSSWGQGTQVT VSS
Класс 4 Семейство 31 13E03 (SEQ ID NO: 683)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYPMGWFRQA PGKEREFVAAISMSGDDTAYATFVKGRFTISRDSARNTVYL HMTRLKPEDTAVYSCAARTSYDGRYDYIDYSDWGQGTQV TVSS
Класс 4 Семейство 31 13E08 (SEQ ID NO: 684)	EVQLVESRGGLVQAGGSLRLSCAGSGRTLYSYPMGWFRQA PGKEREFVAAISMSGDDTAVATFVKGRFTISRDNARNTVYL HMTSLKPEDTAVYHCAARTSYSGRYDYIDYSSWGQGTQV TVSS
Класс 4 Семейство 31 13G04 (SEQ ID NO: 685)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTLYSYPMGWFRQA PGKEREFVAAISMSGDDTAVATFVKGRFTISRDNARNTVYL HMSSLPEDTAVYHCAARTSYSGRYDYIDYSSWGQGTQV TVSS
Класс 4 Семейство 31 13G05 (SEQ ID NO: 686)	EVQLVESGGGLVQAGGSLELSCARSGRTFTTYPMGWFRQAP GKEREFVAAISMSGDDTAYATFVKGRFTFSRDDDKNNTVYLH MTSLKPEDTAVYYCAARTSYSGMYDYIDYSSWGQGTQVT VSS
Класс 4 Семейство 31 13G08 (SEQ ID NO: 687)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFFSYPMGWFRQAP GKEREFVAAISMSGDDSAIRDFVKGRFTISRDNARDTVYLH MTSLKPEDTAIYYCAARTSYNGRYDYIDYSSWGQGTQVT VSS
Класс 4 Семейство 31 13H03 (SEQ ID NO: 688)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYPMGWFRQA PGKEREFVAAISMSGDDTAYATFVKGRFTISRDNARNTVYL HMTRLKPEDTAVYSCAARTSYDGRYDYIDYSDWGQGTQV TVSS
Класс 4 Семейство 31 17C01 (SEQ ID NO: 689)	EVQLVESGGRLVQAGGSLRLPCAASGRTFTSYPMGWFRQAP GKEREFVAAISMSGDDAAYADFVRGRFTISRDDARNTVYLH MTSLKPEDTAVYYCAARTSYDGTIDYIDYSSWGQGTQVT VSS
Класс 4 Семейство 32 15A08 (SEQ ID NO: 690)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQAP GKEREGVSCVSSDGRTAYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQ MNSLPEDTAVYYCATVMEYGLGCTTDVLDAGWGQGLTVT VSS
Класс 4 Семейство 33 13G02 (SEQ ID NO: 691)	EVQLVESRGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSVFAMRWFRQA PGKEREFVAGISWTGGTTYADSVKGRFTMSADNAKNTVY LQMNSLPEDTAVYYCAVDVGGGSDRYLGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 33 17E02 (SEQ ID NO: 692)	EVQLVESRGGLVQAGGSLRLSCAASGGTFSVFAMRWFRQA PGKEREFVAGISWTGGTTYADSVKGRFTMSADNAKNTVY LQMNSLPEDTAVYYCAVDVGGGSDRYLGQGTQVTVSS
Класс 4 Семейство 33 18B05 (SEQ ID NO: 693)	EVQLVKSGLLVQPGGSLRLSCAASGGTFSFAMGWFRQAP GKEREFVAAIRWSDGSSYYADSVKGRFTISRDNAKNAVHLQ SNSLSKSEDVAVYYCYADVQGGHLHYWGQGTQVTVSS

Фиг. 5

IL17MS0026 (04G01-9GS-ALB8-9GS-16A04) (SEQ ID NO:710)	EVQLVESGGGLVQAGGSQRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSTDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLEMNSL KAEDTAVYYCAAIEGYYSGGTYYSEAHWGQGTQVTVSSGGG GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSSFGMSWV RQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYL QMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVTVSSGGGGSGGG EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KREFIGAIISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGTQVTVSS
IL17MS0070 (16A04-9GS-ALB8-9GS-04G01) (SEQ ID NO:711)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KREFIGAIISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSSFGMSWVRQA PGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQ LVESGGGLVQAGGSQRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPGKQR ELVALIFSGGSTDYADSVKGRFTISRDNKNTVYLEMNSLKA EDTAVYYCAAIEGYYSGGTYYSEAHWGQGTQVTVSS
IL17MS0089 (02A08-35GS-16A04-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:712)	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCADSERFSFNAMGWFRQAPG KREFVAAISATGDDTYADSVKGRFAISRDTARNTVYLQMNS LKPEDTAVYYCGARVNFDTVSYTNDYAYWGQGTQVTVSSG GGSGGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVES GGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKREFIGA ISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKNTLYLQMSSLKAEDTAVY YCTADQEFGLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQL VESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQMNSLRPED TAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSS
IL17MS0096 (03C07-35GS-16A04-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:713)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYAIWFRQAPGK EREAVSCFSSSDGSIYYADSVKGRFTISSDNKNTVYLQMNSLK PEDTAVYYCAGGGGSYYTQLNYCYDMDYWGKGTQVTVSSG GGSGGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVES GGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKREFIGA ISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKNTLYLQMSSLKAEDTAVY YCTADQEFGLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQL VESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQMNSLRPED TAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSS

IL17MS0101 (04B09-35GS-07B11-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:714)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLGYYAIGWFRQAPGK EREGVSCDSSSDGDTYYANSVKGRFTISTDNGKNTVYLQMNSL KPEDTAVYYCATCTDWNVDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGG SLRLSCVASGRAFSYVMGWFRQAPGMEREFVALIRWSDGITG YVDSVKGRFTISRDNANKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA AVRPGDYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPG NSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SRSSQGTLLTVSS
IL17MS0110 (04G01-35GS-16A04-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:715)	EVQLVESGGGLVQAGGSQRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSTDYADSVKGRFTISRDNANKNTVYLEMNSL KAEDTAVYYCAAIEGYSGGTYYSEAHWGQGTQVTVSSGGG GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGG GLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFVAGS SGDSIYYAVSEKDRFTISRDNANKNTLYLQMSSLKAEDTAVYYC TADQEFGLRFRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGDTLYADSVKGRFTISRDNANKTTLYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSRSSQGTLLTVSS
IL17MS0113 (09G10-35GS-06E11-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:716)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASDSVFTAKAVGWYRQPPG LQREWVAIITSGGKTNADSSVKGRFTVSVDKVKNTVTLQMN SLKPEDTAVYYCYAQWMGRDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQA GGSLRLSCPVSGRAFSRGRLGWFRQAPGKEREFVAVAHWSGAI TSYADSVKGRFTISRDNANKNTMNLQMNSLKPEDTAVYYCAAD SETSGNWVYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLV QPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSG DTLYADSVKGRFTISRDNANKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG GSLSRSSQGTLLTVSS
IL17MS0119 (09G10-35GS-24G10-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:717)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASDSVFTAKAVGWYRQPPG LQREWVAIITSGGKTNADSSVKGRFTVSVDKVKNTVTLQMN SLKPEDTAVYYCYAQWMGRDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQA GGSLRLSCGAAGGTFSSYATGWFRQAPGKEREFVAVFRWSDS HTAYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMSSLKPEDTAIYYCTTA TRPGEWDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQ PGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGD TLYADSVKGRFTISRDNANKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG SLSRSSQGTLLTVSS

IL17MS0123 (11A06-35GS-08H01-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:718)	EVQLVESGGGLVQPGESLRLSCKASGFSLDYYALGWFRQAPGK EREGISCITSSDASAYYTDSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNSLK TEDTAIYYCAAALLTCSSYYDAYTYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLRLSCGASGGTFSSYATGWFRQAPGKEREFVAVLRWS DSHTAYADSVEGRFTISR DGAKNTVY LQMSS LKPEDTAIYYCT TGTRPGEWHYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VQPGNSLRLSCAASGFTSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGS GSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLY LQMNSLRPEDTAVYYCT IGGSLSRSSQGLTVTVSS
IL17MS0131 (06E11-35GS-09G10-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:719)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCPVS GRAFSRGR LGWFRQAPG KEREFVAVAHWSGAITSYADSVKGRFTFSRDN AKNTMNLQMN SLKPEDTAVYYCAADSETSGN WVYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLRLSCAASDSVFTAKAVGWYRQPGLQREWVAITSSG KTN YADSSVKGRFTVSV DKVKNTVTLQMNSLKPEDTAVYYCY AQWMGRDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QPGNSLRLSCAASGFTSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGS DTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLY LQMNSLRPEDTAVYYCTIG GSLSRSSQGLTVTVSS
IL17MS0141 (07B11-35GS-04B09-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:720)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRAFSSYVMGWFRQAPG MEREFVALIRWSDGITGYVDSVKGRFTISRDN AKNTVY LQMNS LKPEDTAVYYCAA AVRPGDYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG GSLRLSCAASGFTLGYYAIGWFRQAPGKEREGVSCDSSSDGDT YYANSVKGRFTISTDNGKNTVY LQMNS LKPEDTAVYYCATCT DWN YDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG NSLRLSCAASGFTSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGS GSDTL YADSVKGRFTISRDN AKTTLY LQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSL SRSSQGLTVTVSS
IL17MS0150 (08H01-35GS-11A06-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:721)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGASGGTFSSYATGWFRQAPG KEREFVAVLRWSDSHTAYADSVEGRFTISR DGAKNTVY LQMSS LKPEDTAIYYCTTGTRPGEWHYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPG SLRLSCKASGFSLDYYALGWFRQAPGKEREGISCITSSDASAYY TDSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNS LKTEDTAIYYCAAALLTC SSYYDAYTYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQ PGNSLRLSCAASGFTSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGS GSD TLYADSVKGRFTISRDN AKTTLY LQMNSLRPEDTAVYYCTIGG SLSRSSQGLTVTVSS

IL17MS0151 (16A04-35GS-02A08-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:722)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFIGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNGKNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGVV QPGGSLRLSCADSERFSFNAMGWFRQAPGKEREFVAAISATG DDTYYADSVKGRFAISRDTARNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCG ARVNFDGTVSYTNDYAYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQL VESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPED TAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS
IL17MS0152 (16A04-35GS-03C07-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:723)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFIGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNGKNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLRLSCAASGFTFDDY AIGWFRQAPGKEREA VSCFSSD GSIYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAG GGGSYYYTQLNYCYDMDYWGKGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQ LVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPED TAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS
IL17MS0154 (16A04-35GS-04G01-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:724)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFIGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNGKNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSQRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPGKQRELVALIFSGG STDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLEMNSLKAEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSEAHWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTA VYYCTIGGSLSRSSQGTLTVSS
IL17MS0166 (24G10-35GS-04G01-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:725)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGAAGGTFSSYATGWFRQAPG KEREFVAVFRWSDSHTAYADSVKGRFTISRDGAKNTLYLQMSS LKPEDTAIYYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAG GSQRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPGKQRELVALIFSGGST YADSVKGRFTISRDNAKNTVYLEMNSLKAEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSEAHWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESG GLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSIS GSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYY CTIGGSLSRSSQGTLTVSS

IL17MS1001 (01A01-9GS-ALB8-9GS-01A01) (SEQ ID NO:726)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAPGK EREGVSCFTSSDGRIFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSL EPEDTAVYFCAAVNTFDESAYAAFACYDVVRWGQGTQVTVSS GGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGM SWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKT TLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGGS GGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQ APGKEREGVSCFTSSDGRIFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQ MNSLEPEDTAVYFCAAVNTFDESAYAAFACYDVVRWGQGTQ VTVSS
IL17MS1003 (13B03-9GS-ALB8-9GS-13B03) (SEQ ID NO:727)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNAKNTVDLQMD SLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSE VQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKG LEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRP EDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGSEVQLVES GGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPGKREFVA GIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNAKNTVDLQMDSLKPEDTA VYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSS
IL17MS1004 (13B05-9GS-ALB8-9GS-13B05) (SEQ ID NO:728)	EVQLVESGGRLVQAGGSLRLSCAASGRTFTSYPMGWFRQAPG KREFVAAISMSGDDTAYTDFVRGRFTISRDDARNTVYLHMTS LKPEDTAVYYCAARTSYDGTYYIDYISYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSW VRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTL YLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGG GSEVQLVESGGRLVQAGGSLRLSCAASGRTFTSYPMGWFRQAP GKREFVAAISMSGDDTAYTDFVRGRFTISRDDARNTVYLHMT SLKPEDTAVYYCAARTSYDGTYYIDYISYWGQGTQVTVSS
IL17MS1005 (13E02-9GS-ALB8-9GS-13E02) (SEQ ID NO:729)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSL KPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSSGGG GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWV RQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYL QMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGGS EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSL KPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS

IL17MS1006 (13E05-9GS-ALB8-9GS-13E05) (SEQ ID NO:730)	EVQLVESGGGKVQAGDSLTLSCVASGGTFSNYAAWFRQAPGK DRRELVVSIFRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQMNSL KPEDTAVYYCASAYNPGVGYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG SEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPG KGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLV ESGGGKVQAGDSLTLSCVASGGTFSNYAAWFRQAPGKDRREL VVSIFRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQMNSLKPEDT AVYYCASAYNPGVGYDYWGQGTQVTVSS
IL17MS1009 (01A01-35GS-01A01-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:731)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAPGK EREGVSCFTSSDGRTFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSL EPEDTAVYFCAAVNTFDESAYAAFACYDVVRWGQGTQVTVSS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAPGKREGVS CFTSSDGRTFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSLEPEDTA VYFCAAVNTFDESAYAAFACYDVVRWGQGTQVTVSSGGGGG GGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFSSFGMSWVRQ APGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQ MNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVTVSS
IL17MS1010 (11C08-35GS-11C08-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:732)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVIFRLNAMGWYRAAPG KQRELVAIIVNGGSTNYADSVKGRFTISRDSAKNAVYLMNSL KPEDTAVYYCYNIPGDVYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSL RLSCAASGVIFRLNAMGWYRAAPGKQRELVAIIVNGGSTNYAD SVKGRFTISRDSAKNAVYLMNSLKPEDTAVYYCYNIPGDVY WGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSC AASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVK GRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LTVTVSS
IL17MS1011 (13B03-35GS-13B03-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:733)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNKNTVDLQMD SLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGSVQAGD SLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPGKREFVAGIRWSDAYTE YANSVKGRFTISRDNKNTVDLQMDSLKPEDTAVYYCVLDLS TVRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSL RLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYA DSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSR SQGTTLTVTVSS

IL17MS1012 (13B05-35GS-13B05-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:734)	EVQLVESGGRLVQAGGSLRLSCAASGRTFTSYPMGWFRQAPGK KREFVAAISMSGDDTAYTDFVRGRFTISRDDARNTVYLHMTS LKPEDTAVYYCAARTSYDGTIDYIDYSYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESG GRLVQAGGSLRLSCAASGRTFTSYPMGWFRQAPGKREFVAAI MSGDDTAYTDFVRGRFTISRDDARNTVYLHMTSLKPEDTAVY YCAARTSYDGTIDYIDYSYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEV QLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGL EWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLRSSQGTLTVSS
IL17MS1013 (13E02-35GS-13E02-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:735)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSL KPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSSGGG GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGG GLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGKREFVAAISG SGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSLKPEDTAVYY CATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQ LVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGL WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPE TAVYYCTIGGSLRSSQGTLTVSS
IL17MS1014 (13E05-35GS-13E05-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:736)	EVQLVESGGGKVQAGDSLTLSCVASGGTFSNYAAWFRQAPGK DRREL VVSIFRTGSITYTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQMNSL KPEDTAVYYCASAYNPGVGYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGKVQA GDSLTLSCVASGGTFSNYAAWFRQAPGKDRREL VVSIFRTGSIT YTADSVKGRFTASRVNTKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCASAY NPGVGYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQ PGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSD TLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGG SLRSSQGTLTVSS
IL17MS1015 (17C01-35GS-17C01-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:737)	EVQLVESGGRLVQAGGSLRLPCAASGRTFTSYPMGWFRQAPG KREFVAAISMSGDDAAYADFVRGRFTISRDDARNTVYLHMTS LKPEDTAVYYCAARTSYDGTIDYIDYSYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESG GRLVQAGGSLRLPCAASGRTFTSYPMGWFRQAPGKREFVAAI MSGDDAAYADFVRGRFTISRDDARNTVYLHMTSLKPEDTAV YYCAARTSYDGTIDYIDYSYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSE VQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGK LEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRP EDTAVYYCTIGGSLRSSQGTLTVSS

IL17MS2002 (06E11-9GS-ALB8-9GS-13B03) (SEQ ID NO:738)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCPVS GRAFSRGR LGWFRQAPG KREFVAVAHWSGAITSYADSVKGRFTFSRDNAKNTMNLQMN SLKPEDTAVYYCAADSETSGNWVYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQA PGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQ LVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPGKERE FVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDN AKNTVDLQMDSLKPE DTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSS
IL17MS2004 (06E11-9GS-ALB8-9GS-13E02) (SEQ ID NO:739)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCPVS GRAFSRGR LGWFRQAPG KREFVAVAHWSGAITSYADSVKGRFTFSRDNAKNTMNLQMN SLKPEDTAVYYCAADSETSGNWVYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQA PGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQ LVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGR TYDAMGWLRQAPGKREF VAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMN SLKPED TAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS2017 (08H01-9GS-ALB8-9GS-13B03) (SEQ ID NO:740)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGASGGTFSSYATGWFRQAPG KREFVAVLRWSDSHTAYADSV EGRFTISR DGAKNTVYLQ MSS LKPEDTAIYYCTTGTRPGEW WHYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGK GLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLR PEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVES GGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPGKREFVA GIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDN AKNTVDLQMDSLKPEDTA VYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSS
IL17MS2019 (08H01-9GS-ALB8-9GS-13E02) (SEQ ID NO:741)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGASGGTFSSYATGWFRQAPG KREFVAVLRWSDSHTAYADSV EGRFTISR DGAKNTVYLQ MSS LKPEDTAIYYCTTGTRPGEW WHYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGK GLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMN SLR PEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVES GGGLVQAGGSLRLSCAASGR TYDAMGWLRQAPGKREFVAAI SGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMN SLKPEDTAVY YCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS

IL17MS2022 (16A04-9GS-ALB8-9GS-13B03) (SEQ ID NO:742)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFIGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKGNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQA PGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQ LVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPGKERE FVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNAKNTVDLQMDSLKPE DTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSS
IL17MS2024 (16A04-9GS-ALB8-9GS-13E02) (SEQ ID NO:743)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFIGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKGNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQA PGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQM NSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQ LVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGKERE VAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSLKPED TAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS2031 (24G10-9GS-ALB8-9GS-01A01) (SEQ ID NO:744)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGAAGGTFSSYATGWFRQAPG KEREFVAVFRWSDSHTAYADSVKGRFTISRDKAKNTLYLQMSS LKPEDTAIYYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGK GLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLR PEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVES GGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAPGKEREGVSC FTSSDGRTFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSLEPEDTAV YFCAAVNTFDESAYAAFACYDVVRWGQGTQVTVSS
IL17MS2042 (01A01-9GS-ALB8-9GS-24G10) (SEQ ID NO:745)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAPGK EREGVSCFTSSDGRTFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSL EPEDTAVYFCAAVNTFDESAYAAFACYDVVRWGQGTQVTVSS GGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGM SWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKT TLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGGG GGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGAAGGTFSSYATGWFR QAPGKEREFVAVFRWSDSHTAYADSVKGRFTISRDKAKNTLYL QMSSLKPEDTAIYYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSS

IL17MS2043 (13B03-9GS-ALB8-9GS-06E11) (SEQ ID NO:746)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNANTVDLQMD SLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSE VQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKG LEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNANTTLYLQMNSLRP EDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGSEVQLVES GGGLVQAGGSLRLSCPVSGRAFSRGRLGWFRQAPGKREFVA VAHWSGAITSYADSVKGRFTFSRDNANTMNLQMNSLKPEDT AVYYCAADSETSGNWVYWGQGTQVTVSS
IL17MS2046 (13B03-9GS-ALB8-9GS-08H01) (SEQ ID NO:747)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNANTVDLQMD SLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSE VQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKG LEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNANTTLYLQMNSLRP EDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGSEVQLVES GGGLVQAGGSLRLSCGASGGTFSSYATGWFRQAPGKREFVA VLRWSDSHTAYADSVGRFTISRDNANTVYLQMSSSLKPEDTA IYYCTTGTRPGEWHYWGQGTQVTVSS
IL17MS2047 (13B03-9GS-ALB8-9GS-16A04) (SEQ ID NO:748)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNANTVDLQMD SLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSE VQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKG LEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNANTTLYLQMNSLRP EDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGSEVQLVES GGGLVQAGGSLRLSCAASGRFTFSSYVVGWFRQAPGKREFIGA ISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNANGKNTLYLQMSSSLKAEDTAVY YCTADQEFGLRFRSEYWGQGTQVTVSS
IL17MS2057 (13E02-9GS-ALB8-9GS-06E11) (SEQ ID NO:749)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSL KPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSSGGG GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWV RQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNANTTLYL QMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGG EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCPVSGRAFSRGRLGWFRQAPG KREFVAVAHWSGAITSYADSVKGRFTFSRDNANTMNLQMNSL SLKPEDTAVYYCAADSETSGNWVYWGQGTQVTVSS

IL17MS2060 (13E02-9GS-ALB8-9GS-08H01) (SEQ ID NO:750)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSL KPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSSGGG GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWV RQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYL QMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGG EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGASGGTFSSYATGWFRQAPG KREFVAVLRWSDSHTAYADSVKGRFTISRDKAKNTVYLQMSS LKPEDTAIYYCTTGRPGEWHYWGQGTQVTVSS
IL17MS2061 (13E02-9GS-ALB8-9GS-16A04) (SEQ ID NO:751)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRITYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSL KPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSSGGG GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWV RQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYL QMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGG EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KREFIGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGLRFRSEYWGQGTQVTVSS
IL17MS2081 (07B11-35GS-01A01-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:752)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRAFSSYVMGWFRQAPG MEREFVALIRWSDGITGYVDSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNS LKPEDTAVYYCAAAPRPGDYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQA GGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAPGKEREGVSCFTSSDGR TFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYFCAAV NTFDESAYAAFACYDVVRWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQL VESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPED TAVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSS
IL17MS2092 (16A04-35GS-13B03-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:753)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KREFIGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGLRFRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSGV QAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPGKREFVAGIRWSD AYTEYANSVKGRFTISRDNKNTVLDLQMDSLKPEDTAVYYCV LDLSTVRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQP GNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGD TLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGG SLSRSSQGTTLTVSS

IL17MS2094 (16A04-35GS-13E02-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:754)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFIGAISGSDSIYYAVSEKDRFTISRDNKGNTLYLQMSSLK AEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLV QAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGKEREFVAAISGSGD DTYYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSLKPEDTAVYYCAT RRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLTYLQMNSLRPEDTA VYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSS
IL17MS2101 (24G10-35GS-01A01-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:755)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCGAAGGTFSSYATGWFRQAPG KEREFVAVFRWSDSHTAYADSVKGRFTISRDKAKNTLYLQMSS LKPEDTAIYYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAPGKEREGVSCFTSSDGRTF YADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYFCAAVNT FDESAYAAFACYDVVRWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLTYLQMNSLRPEDTA VYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSS
IL17MS2108 (01A01-35GS-07B11-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:756)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAPGK EREGVSCFTSSDGRTFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSL EPEDTAVYFCAAVNTFDESAYAAFACYDVVRWGQGTQVTVSS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQAGGSLRLSCVASGRAFSSYVMGWFRQAPGMEREFV ALIRWSDGITGYVDSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDT AVYYCAAAPRGDYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLV ESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLTYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSS
IL17MS2112 (01A01-35GS-24G10-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:757)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYDIGWFRQAPGK EREGVSCFTSSDGRTFYADSVKGRFTVSADNAKNTVYLQMNSL EPEDTAVYFCAAVNTFDESAYAAFACYDVVRWGQGTQVTVSS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQAGGSLRLSCGAAGGTFSSYATGWFRQAPGKEREFV AVFRWSDSHTAYADSVKGRFTISRDKAKNTLYLQMSSLKPEDT AIYYCTTATRPGEWDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLTYLQMNSLRPEDTA VYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSS
IL17MS2117 (13B03-35GS-16A04-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:758)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNKNTVDLQMD SLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGG SLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFIGAISGSDSIYY AVSEKDRFTISRDNKGNTLYLQMSSLKAEDTAVYYCTADQEF GLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQ PGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSD TLYADSVKGRFTISRDNKTTLTYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGG SLSRSSQGTTLTVSS
IL17MS2131 (13BE02-35GS-16A04-9GS-ALB8) (SEQ ID NO:759)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNSL KPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSSGGG GSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGG GLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFIGAISG SGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKGNTLYLQMSSLKAEDTAVYYC TADQEFGLRFGRSEYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVE SGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLTYLQMNSLRPEDTA VYYCTIGGSLSRSSQGTTLTVSS

Фиг. 6

IL17MS3010 (IL17MS04G01 основное) (SEQ ID NO:760)	EVQLVESGGGLVQPGGSQLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNS LRAEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3011 (IL17MS04G01 вариант1) (SEQ ID NO:761)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNS LRAEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3012 (IL17MS04G01 вариант2) (SEQ ID NO:762)	EVQLVESGGGLVQPGGSQLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAP GKQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNS SLRAEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3013 (IL17MS04G01 вариант3) (SEQ ID NO:763)	EVQLVESGGGLVQPGGSQLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNS LRPEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3014 (IL17MS04G01 вариант4) (SEQ ID NO:764)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNS LRAEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3015 (IL17MS04G01 вариант5) (SEQ ID NO:765)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNS LRPEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3016 (IL17MS04G01 вариант6) (SEQ ID NO:766)	EVQLVESGGGLVQPGGSQLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAP GKQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNS SLRPEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3017 (IL17MS04G01 вариант7) (SEQ ID NO:767)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNS LRPEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3018 (IL17MS13E02 основное) (SEQ ID NO:768)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKD NSGITMY LQMNSL RPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3019 (IL17MS13E02 вариант1) (SEQ ID NO:769)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGRTYDAMGWFRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISKD NSGITMY LQMNSL RPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3020 (IL17MS13E02 вариант2) (SEQ ID NO:770)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISRDN SGITMY LQMNSL RPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS

IL17MS3021 (IL17MS13E02вариант3) (SEQ ID NO:771)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNSKITMYLQMNSL RPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3022 (IL17MS13E02вариант4) (SEQ ID NO:772)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNSGNTMYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3023 (IL17MS13E02вариант5) (SEQ ID NO:773)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWFRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDNNGITMYLQMNSL RPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3024 (IL17MS13E02вариант6) (SEQ ID NO:774)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWFRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNSKITMYLQMNSL RPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3025 (IL17MS13E02вариант7) (SEQ ID NO:775)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWFRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNSGNTMYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3026 (IL17MS13E02вариант8) (SEQ ID NO:776)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDNKITMYLQMNSL RPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3027 (IL17MS13E02вариант9) (SEQ ID NO:777)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDNNGNTMYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3028 (IL17MS13E02вариант10) (SEQ ID NO:778)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNSKNTMYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3029 (IL17MS13E02вариант11) (SEQ ID NO:779)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWFRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDNKITMYLQMNSL RPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3030 (IL17MS13E02вариант12) (SEQ ID NO:780)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWFRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNSKNTMYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3031 (IL17MS13E02вариант13) (SEQ ID NO:781)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWFRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDNNGNTMYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGLTVTVSS

IL17MS3032 (IL17MS13E02вариант14) (SEQ ID NO:782)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDN SKNTMYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS3033 (IL17MS13E02вариант15) (SEQ ID NO:783)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWFRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDN SKNTMYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS3034 (IL17MS13E02(M34L)) (SEQ ID NO:784)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDALGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNS LKPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS3035 (IL17MS13E02(M78L)) (SEQ ID NO:785)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPG KEREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNAGITLYLQMNS LKPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS3036 (IL17MS13E02(S100dT)) (SEQ ID NO:786)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPG KEREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMN SLKPEDTAVYYCATRRGLYYVWDTNDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS3037 (IL17MS13E02(S100dA)) (SEQ ID NO:787)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPG KEREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMN SLKPEDTAVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS3038 (IL17MS013E02(M34V)) (SEQ ID NO:788)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAVGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNAGITMYLQMNS LKPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS3039 (IL17MS013E02(M78V)) (SEQ ID NO:789)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPG KEREFVAAISGSGDDTTYADSVKGRFTISKDNAGITVYLQMN SLKPEDTAVYYCATRRGLYYVWDSNDYENWGQGTQVTVSS
IL17MS3040 (IL17MS016A04(D55G)) (SEQ ID NO:790)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAP GKEREFIGAISGSGSIYYAVSEKDRFTISRDN GKNTLYLQMSS LKAEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGTQVTVSS
IL17MS3041 (IL17MS016A04(D55E)) (SEQ ID NO:791)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAP GKEREFIGAISGSGESIYYAVSEKDRFTISRDN GKNTLYLQMSS LKAEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGTQVTVSS
IL17MS3042 (IL17MS016A04(S56T)) (SEQ ID NO:792)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAP GKEREFIGAISGSGDTIYYAVSEKDRFTISRDN GKNTLYLQMSS LKAEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGTQVTVSS

IL17MS3043 (IL17MS013B03(A14P,D16G,A74S,D79Y,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:793)	EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMD SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVSS
IL17MS3044 (IL17MS013B03(S11L,A14P,A74S,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:794)	EVQLVESGGGLVQPGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDN SKNTVDLQMD SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVSS
IL17MS3045 (IL17MS013B03(A14P,T40A,A74S,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:795)	EVQLVESGGGSVQPGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQAPG KEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDN SKNTVDLQMD SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVSS
IL17MS3046 (IL17MS013B03(A14P,N61A,A74S,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:796)	EVQLVESGGGSVQPGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KEREFVAGIRWSDAYTEYAASVKGRFTISRDN SKNTVDLQMD SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVSS
IL17MS3047 (IL17MS013B03(S11L,A14P,D16G,T40A,N61A,A74S,D79Y,D82aN,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:797)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQAPG KEREFVAGIRWSDAYTEYAASVKGRFTISRDN SKNTVYLQMN SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVSS
IL17MS3048 (IL17MS013B03(A14P,A74S,D82aN,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:798)	EVQLVESGGGSVQPGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDN SKNTVDLQMN SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVSS
IL17MS3049 (IL17MS013B03(A14P,T40A,A74S,D79Y,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:799)	EVQLVESGGGSVQPGDSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQAPG KEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMD SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVSS
IL17MS3050 (IL17MS013B03(A14P,D16G,A74S,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:800)	EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGRANSINWFGWFRQTPG KEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDN SKNTVDLQMD SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVSS
IL17MS3051 (IL17MS013B03(N29F)) (SEQ ID NO:801)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRAFSINWFGWFRQTPG KEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDN AKNTVDLQM DSLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSS

IL17MS3052 (IL17MS013B03(N29S)) (SEQ ID NO:802)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRASSINWFGWFRQTPG KEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNANTVDLQM DSLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSS
IL17MS3053 (IL17MS013B03(S30T)) (SEQ ID NO:803)	EVQLVESGGGSVQAGDSLRLSCAASGRANTINWFGWFRQTP GKEREFVAGIRWSDAYTEYANSVKGRFTISRDNANTVDLQ MDSLKPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTQVTVSS
IL17MS3054 (IL17MS016A04(A14P,G7 4S,K83R,A84P,Q108L)) (SEQ ID NO:804)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFVGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKNTLYLQMSSL RPEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTLLTVSS
IL17MS3055 (IL17MS016A04(A14P,D6 5G,S82aN,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:805)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFVGAISGSGDSIYYAVSEKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTLLTVSS
IL17MS3056 (IL17MS016A04(A14P,I4 8V,G74S,K83R,Q108L)) (SEQ ID NO:806)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFVGAISGSGDSIYYAVSEKDRFTISRDNKNTLYLQMSS LRAEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTLLTVSS
IL17MS3057 (IL17MS13B03 + E1D S11L A14P D16G N29F T40A N61D A74S D79Y D82aN K83R L108Q) (SEQ ID NO:807)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRAFSINWFGWFRQAPG KEREFVAGIRWSDAYTEYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTLLTVSS
IL17MS3058 (IL17MS16A04 + A14P I48V D65G G74S S82aN K83R A84P L108Q) (SEQ ID NO:808)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFVGAISGSGDSIYYAVSEKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTLLTVSS
IL17MS3059 (IL17MS16A04 + E1D A14P I48V D55E D65G G74S S82aN K83R A84P Q108L) (SEQ ID NO:809)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFVGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTADQEFGYLRFGRSEYWGQGTLLTVSS

IL17MS3060 (IL17MS04G01 + E1D, A14P, Q18L, A74S, E81Q, K83R, A84P, Q108L) (SEQ ID NO:810)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNS LRPEDTAVYYCAAEEIGYYSGGTYYSEAHWGQGT LVTVSS
IL17MS3061 (IL17MS04G01 + E1D, A14P, Q18L, T23A, A74S, E81Q, K83R, A84P, Q108L) (SEQ ID NO:811)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTIVNIHVMGWYRQAP GKQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNS SLRPEDTAVYYCAAEEIGYYSGGTYYSEAHWGQGT LVTVSS
IL17MS3062 (IL17MS16A04 + A14P, I48V, D55E, D65G, G74S, S82aN, K83R, A84P, Q108L) (SEQ ID NO:812)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFVGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTADQEFGYLRFRSEYWGQGT LVTVSS
IL17MS3063 (C132.IL17MS16A04 + E1D, A14P, D55E, D65G, G74S, S82aN, K83R, A84P, Q108L) (SEQ ID NO:813)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFVGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RPEDTAVYYCTADQEFGYLRFRSEYWGQGT LVTVSS
IL17MS3064 (C132.IL17MS16A04 + E1D, A14P, I48V, S56T, D65G, G74S, S82aN, K83R, A84P, Q108L) (SEQ ID NO:814)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFVGAISGSGDTIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTADQEFGYLRFRSEYWGQGT LVTVSS
IL17MS3065 (IL17MS16A04 + E1D, A14P, S56T, D65G, G74S, S82aN, K83R, A84P, Q108L) (SEQ ID NO:815)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPG KEREFVGAISGSGDTIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RPEDTAVYYCTADQEFGYLRFRSEYWGQGT LVTVSS
IL17MS3066 (IL17MS13B03 + E1D, S11L, A14P, D16G, N29S, T40A, N61D, A74S, D79Y, D82aN, K83R, Q108L) (SEQ ID NO:816)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRASSINWFGWFRQAPG KEREFVAGIRWSDAYTEYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNS SLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGT LVTVSS

IL17MS3067 (IL17MS13B03 + E1D, S11L, A14P, D16G, N29S, F34M, T40A, N61D, A74S, D79Y, D82aN, K83R, Q108L) (SEQ ID NO:817)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRASSINWMGWFRQAP GKEREVAVAGIRWSDAYTEYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQM NSLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLTVTVSS
IL17MS3068 (IL17MS13B03 + S11L, A14P, D16G, N29S, F34M, T40A, N61D, A74S, D79Y, D82aN, K83R, Q108L) (SEQ ID NO:818)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRASSINWMGWFRQAP GKEREVAVAGIRWSDAYTEYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQM NSLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLTVTVSS
IL17MS3069 (IL17MS13E02 + A14P, K71R, A74S, G75K, I76N, M78L, K83R, S100dA, Q108L) (SEQ ID NO:819)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITYDAMGWLRLQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3070 (IL17MS13E02 + E1D, A14P, K71R, A74S, G75K, I76N, M78L, K83R, S100dA, Q108L) (SEQ ID NO:820)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITYDAMGWLRLQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3071 (IL17MS13E02 + A14P, M34L, K71R, A74S, G75K, I76N, M78L, K83R, S100dA, Q108L) (SEQ ID NO:821)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITYDALGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3072 (IL17MS13E02 + E1D, A14P, M34L, K71R, A74S, G75K, I76N, M78L, K83R, S100dA, Q108L) (SEQ ID NO:822)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRITYDALGWLRQAPGK EREFVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGLTVTVSS
IL17MS3073 (C132.IL17MS04G01 + E1D, A14P, Q18L, E81Q, K83R, A84P, Q108L) (SEQ ID NO:823)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPG KQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNS LRPEDTAVYYCAAIEGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3074 (IL17MS04G01 + E1D, A14P, Q18L, T23A, E81Q, K83R, A84P, Q108L) (SEQ ID NO:824)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTIVNIHVMGWYRQAP GKQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMN SLRPEDTAVYYCAAIEGYYSGGTYYSSEAHWGQGLTVTVSS
IL17MS3075 (IL17MS13B03 + E1D, S11L, A14P, D16G, N29S, F34M, T40A, N61D, D79Y, D82aN, K83R, Q108L) (SEQ ID NO:825)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRASSINWMGWFRQAP GKEREVAVAGIRWSDAYTEYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLTVTVSS

Фиг. 7

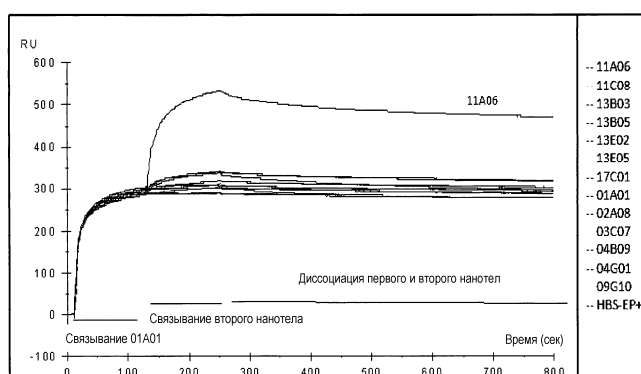
IL17MS3076 (SEQ ID NO:826)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRLQAPGKERE FVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDT AVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSE VQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTA VYYCTIGGSLSRSSQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGRASSINWMGWFRQAPGKEREFVAGIRWSDAY TEYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCVLDLST VRYWGQGTLLTVSS
IL17MS3077 (SEQ ID NO:827)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRASSINWMGWFRQAPGKE REFVAGIRWSDAYTEYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPE DTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESG GGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI GGSLSRSSQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGRTYDAMGWLRLQAPGKEREFVAAISGSGDDTYADSVK GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDAN DYENWGQGTLLTVSS
IL17MS3078 (SEQ ID NO:828)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRLQAPGKERE FVAAISGSGDDTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDT AVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSE VQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTA VYYCTIGGSLSRSSQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRLQAPGKEREFVAAISGSGDDTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATRRGLY YVWDANDYENWGQGTLLTVSS
IL17MS3079 (SEQ ID NO:829)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRASSINWMGWFRQAPGKE REFVAGIRWSDAYTEYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPE DTAVYYCVLDLSTVRYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESG GGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISG SGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTI GGSLSRSSQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGRASSINWMGWFRQAPGKEREFVAGIRWSDAYTEYADS VKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWG QGTLLTVSS
IL17MS3080 (SEQ ID NO:830)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPGKQ RELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDT AVYYCAAIEGYYSGGTYSSSEAHWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSE VQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTA VYYCTIGGSLSRSSQGTLLTVSS
IL17MS3081 (SEQ ID NO:831)	DVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKG LEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPED TAVYYCTIGGSLSRSSQGTLLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPGKQRELVALIFSGGS ADYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAIEGY YSGGTYSSSEAHWGQGTLLTVSS

IL17MS3082 (SEQ ID NO:832)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPGKQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSS EAHWGQGLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFIGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGLVTVSS
IL17MS3083 (SEQ ID NO:833)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFIGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGTIVNIHVMGWYRQAPGKQRELVALIFSGGSADYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAA EIGYYSGGTYYSS EAHWGQGLVTVSS
IL17MS3084 (SEQ ID NO:834)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFIGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRASSINWMGWFRQAPGKEREFIGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVSS
IL17MS3085 (SEQ ID NO:835)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRASSINWMGWFRQAPGKEREFVAGIRWSDAYTEYADSVKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCVLDLSTVRYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFIGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGLVTVSS
IL17MS3086 (SEQ ID NO:836)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFIGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGKEREFIGAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGLVTVSS
IL17MS3087 (SEQ ID NO:837)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGKEREFIGAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFIGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGLVTVSS
IL17MS3091 - а Меченный Мус-HIS вариант (SEQ ID NO: 838)	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYVVGWFRQAPGKEREFIGAISGSGESIYYAVSEKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTADQEFGLRFGRSEYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN AKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTYDAMGWLRQAPGKEREFIGAISGSGDDTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCATRRGLYYVWDANDYENWGQGLVTVSSGAAEQKLISEEDLN GAAHHHHHH

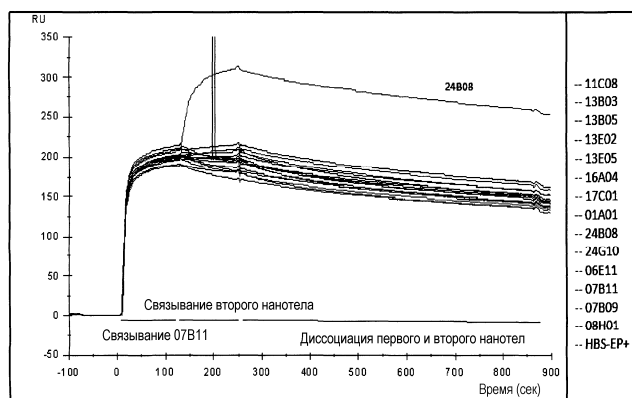
Фиг. 8

IL-17A-6His человека (SEQ ID NO:694)	GITIPRNP GCPNSEDKNFPRTVMVNLNIHNRNTNTNPKRSSDYNNRST SPWNLHRNEDPERYPSPVIWEAKCRHLGCINADGNVDYHMNSVPIQQ EILVLRREPPHCPNSFRLEKILVSVGCTCVTPIVHHVAHHHHHH
IL-17F-6His человека (SEQ ID NO:695)	RKIPKVGHTFFQKPESC PVPVGGSMKLDIGIINENQVRVSMRNIESRST SPWNYTVTWDPNRYPSSEVVQAQCRNLGCINAQGGKEDISMNSVPIQQ ETLVVRRKHQGC SVSFQLEKVLVTVGCTCVTPIVHHVQH HHHHHH
IL-17A-6His яванского макака (SEQ ID NO:696)	GIAIPRNSGCPNSEDKNFPRTVMVNLNIHNRNTSTNPKRSSDYNNRST SPWNLHRNEDPERYPSPVIWEAKCRHLGCINADGNVDYHMNSVPIQQ EILVLRREPRHCPNSFRLEKILVSVGCTCVTPIVHHVAHHHHHH
IL-17F-6His яванского макака (SEQ ID NO:697)	RKIPKVGHTFFQKPESC PVPVGGSMKLDIGIINENQVRVSMRNIESRST SPWNYTVTWDPNRYPSSEVVQAQCKHLGCINAQGGKEDISMNSVPIQQ ETLVVRRKHQGC SVSFQLEKVLVTVGCTCVTPIVHHVQH HHHHHH
IL-17A-6His мартышки (SEQ ID NO:698)	SPQNPGCPNAEDKNFPRTVMVNLNIRNRNTNSKRASDYNNRSSSPW NLHRNEDPERYPSPVIWEAKCRHLGCVDADGNVDYHMNSVPIQQEIL VLRREPRHCTNSFRLEKMLVSVGCTCVTPIVRHVAHHHHHH
IL-17F-6His мартышки (SEQ ID NO:699)	QRVPKEGQTFQKPESC PVPVGGSLKLDLGIINANQVRVPLSRNIERRST SPWNYTVTWDPNRYPSSEVVQAQCRHLGCVNAQGGKEDIFMNSVPIQQ ETLVVRRKHQGC SVSFQLEKLLVTVGCTCVKPLIHHVHHHHHH
IL-17A-6His морской свинки (SEQ ID NO:700)	GIPIPRNP GCP TATEGKNFLQNVKLNLSIFNPLTQNVNSRRSSDYKRS TSPWTLHRNENPNRYPPVIWEAECRYSGCVNAAGKEDHHVSSVPIQQ EILVLQREPQNCPLSFRLEKMKVTVGCTCVTPIVRHVGH HHHHHH
IL-17F-6His крысы (SEQ ID NO:701)	RRNPKVGLSALQKAGNCPPLEDNSVRVDIRIFNQNGISVPRDFQNR SSPWDYNITRDPDRFPSEIAEAQCRHSGCINAQGGEDGSMNSVPIQQE ILVLRREPQGCNSFRLEKMLIKVGCTCVTPIVHHAHHHHHH
IL-17A-6His мыши (SEQ ID NO:702)	AIIPQSSACPNTAKDFLQNVKVNKVFNSLGAKVSSRRPSDYLN RST SPWTLHRNEDPDRYPSPVIWEAQCRHQRCVNAEGKLDH HMMNSVLIQQ EILVLKREPESC PFTFRVEKMLVGVGCTCVASIVRQAHHHHHH
IL-17F-6His мыши (SEQ ID NO:703)	RKNPKAGVPALQKAGNCPPLEDNTVRVDIRIFNQNGISVPREFQNR SSSPWDYNITRDPHRFPSEIAEAQCRHSGCINAQGGEDSTMNSVAIQ EILVLRREPQGCNSFRLEKMLLVGCTCVKPIVHQAHHHHHH
Fab01-6His , легкая цепь (SEQ ID NO:704)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRL LYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSSPC TFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
Fab01-6His , тяжелая цепь (SEQ ID NO:705)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGL EWVAAINQDGEKYYVGSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRVEDT AVYYCVRDYYDILTDYYIHYYWYFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDK THHHHHH
mAb02 , легкая цепь (SEQ ID NO:706)	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRL LYGASSRATGIPDRFSGSGGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYGSSPC TFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
mAb02 , тяжелая цепь (SEQ ID NO:707)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGL EWVAAINQDGEKYYVGSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRVEDT AVYYCVRDYYDILTDYYIHYYWYFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

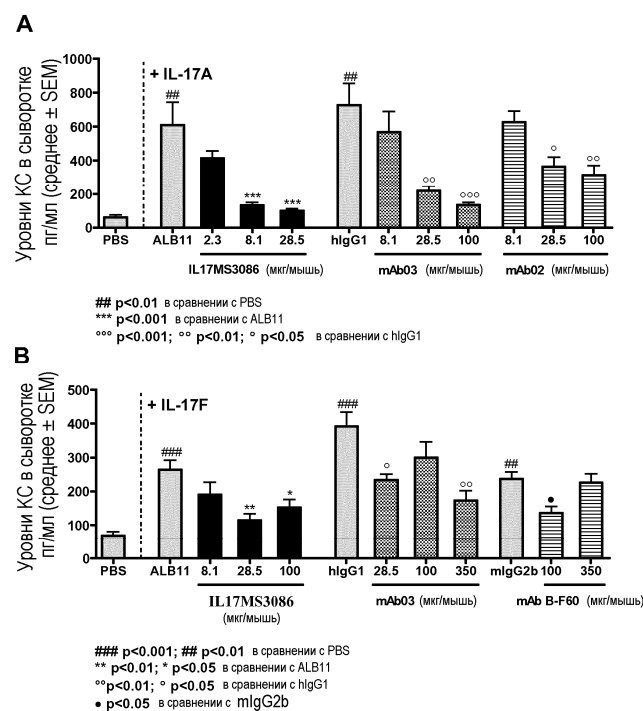
Фиг. 9



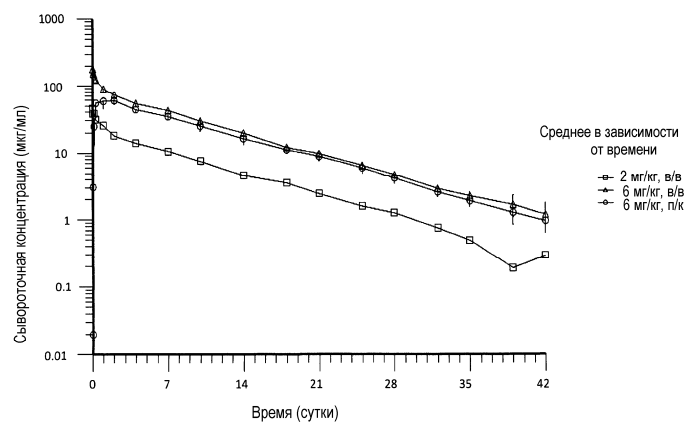
Фиг. 10



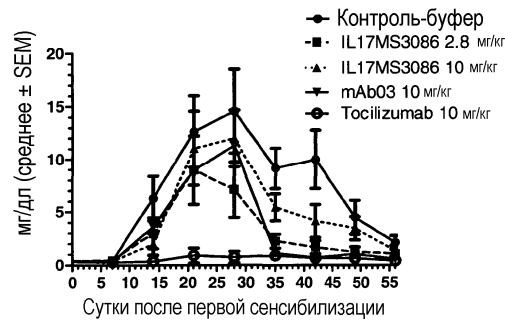
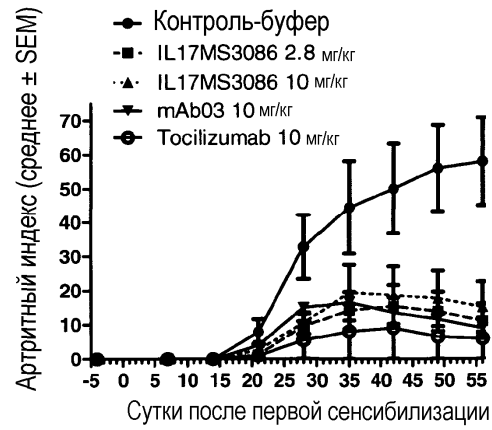
Фиг. 11



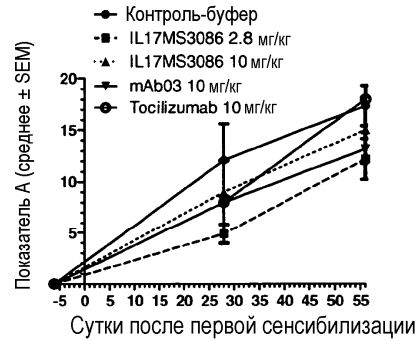
Фиг. 12



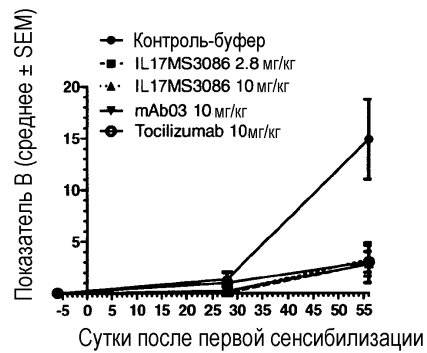
Фиг. 13

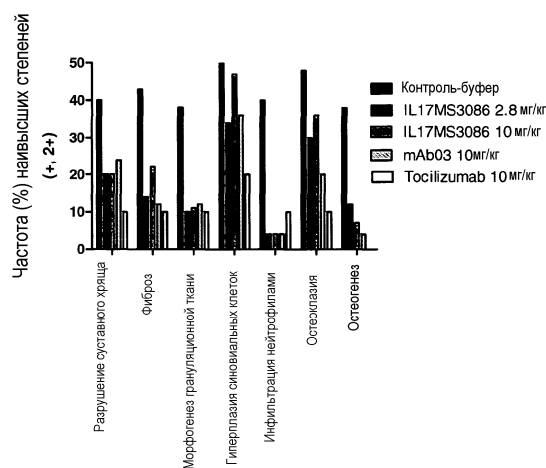


A

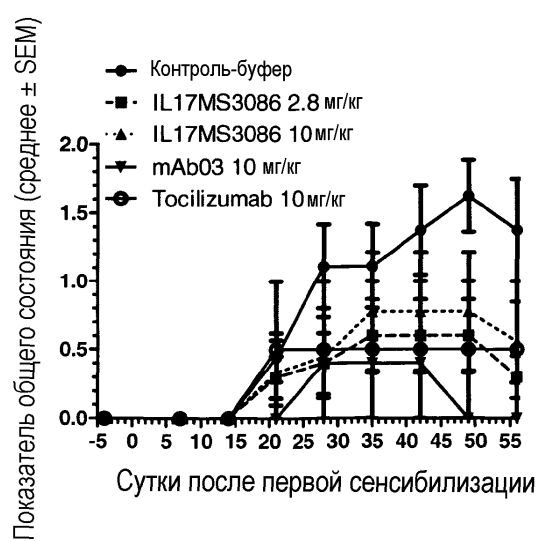


B





Фиг. 17



Фиг. 18

