

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037813**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.05.24

(21) Номер заявки
201891594

(22) Дата подачи заявки
2017.02.17

(51) Int. Cl. **C07K 16/24** (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(54) **АНТИТЕЛА К IL-17C**

(31) **16156582.5; 16156651.8**

(32) **2016.02.19; 2016.02.22**

(33) **EP**

(43) **2019.01.31**

(86) **PCT/EP2017/053592**

(87) **WO 2017/140831 2017.08.24**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**МОРФОСИС АГ (DE); ГАЛАПАГОС
НВ (BE)**

(72) Изобретатель:
**Хас Ян Доминик, Клаттиг Йюрген
(DE), Вандегинсте Ник Эрнест Рене
(BE)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Билык А.В., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Путинцев А.И. (RU)**

(56) WO-A1-2013057241
WO-A2-9960127
WO-A1-2007047738

RAJITA PAPPU ET AL.: "The IL-17
Family Cytokines in Immunity and Disease",
JOURNAL OF CLINICAL IMMUNOLOGY,
KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS-PLENUM
PUBLISHERS, NE, vol. 30, no. 2, 23 February 2010
(2010-02-23), pages 185-195, XP019791216, ISSN:
1573-2592, the whole document

(57) Изобретение предусматривает антитела или фрагменты антител, которые связываются с IL-17C человека. В частности, оно относится к антителам или фрагментам антител, которые характеризуются комбинированными полезными свойствами и, таким образом, являются применимыми для лечения людей, например, с атопическим дерматитом или псориазом.

B1

037813

037813

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Заявка на данное изобретение относится к антителам или фрагментам антител, которые взаимодействуют с IL-17C человека. Настоящее изобретение также относится к нуклеиновым кислотам, векторам и клеткам-хозяевам, способным экспрессировать указанные антитела или их фрагменты, к фармацевтическим композициям, содержащим указанные антитела или их фрагменты, и к вариантам применения указанных антител или их фрагментов для лечения определенных заболеваний.

Предпосылки изобретения

IL-17C представляет собой секретируемый гомодимер из семейства белков IL17. In vitro было показано, что IL-17C стимулирует высвобождение TNF- α и IL-1 β из моноцитов линии THP-1 (Li et al. (2000), Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 97, 773-8). IL-17C может индуцировать экспрессию мРНК, кодирующей воспалительные цитокины, такие как IL-1 β , IL-6 и IL-23, в клетках перитонеального экссудата (PEC) и в линии клеток 3T3 (Yamaguchi et al. (2007), J. Immunol 179, 7128-36).

Роль IL-17C в качестве провоспалительного цитокина, играющего важную роль в иммунологической защите, была изложена в нескольких исследованиях (Chang et al. (2011, Immunity, 35, 611-621, Song et al. (2011), Nature Immunology, 12, 12, Ramirez-Carrozzi et al. (2011), Nature Immunology, 12, 12). Также недавно была показана потенциальная роль в прогрессировании конкретных опухолей и раковых тканей (Xinyang Song (2014), Immunity, 40, 140-152).

Недавно в патентном документе WO 2013/057241 с помощью эксперимента установили, что ингибирование IL-17C является перспективным подходом в лечении воспалительных нарушений. Тем не менее соответствующие антитела, используемые в патентном документе WO 2013/057241, являются суррогатными антителами, специфичными в отношении IL-17C мыши, но было показано, что они вообще не являются реактивными в отношении IL-17C человека. Помимо этого, уже были предложены дополнительные антитела, являющиеся антагонистами по отношению IL-17C, (например, в патентном документе WO 1999/060127), но они являются или поликлональными сыворотками, или суррогатными антителами, которые специфически связывают только IL-17C мыши.

Соответственно, существует необходимость в изучении и выявлении антител, которые связывают IL-17C человека для уменьшения тяжести обусловленных IL-17C заболеваний или нарушений у человека.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении представлены новые антитела и фрагменты антител. Антитела и фрагменты антител, раскрытые в данном документе, связывают IL-17C человека и также перекрестно реагируют с IL-17C от макака-крабоеда и мышей. Кроме того, раскрытые антитела ингибируют связывание IL-17C с его рецептором среди соответствующих видов - человека, мыши и макака-крабоеда, - при концентрации IC₅₀, составляющей 80 пМ или меньше. Как раскрыто и подтверждено в примерах в данном документе, доказано, что указанные антитела являются эффективными в разных мышинных моделях in vivo атопического дерматита и псориаза.

Таким образом, раскрытые антитела или фрагменты антител являются наилучшими в плане эффективности и обеспечивают подходящие и перспективные соединения для лечения людей, например, с атопическим дерматитом или псориазом.

Настоящее изобретение предусматривает антитела или фрагменты антител, которые связывают IL-17C человека, имеющие участки CDR, согласно табл. 1 настоящего описания. Настоящее изобретение также предусматривает специфические антитела или фрагменты антител, имеющие вариабельный участок тяжелой цепи, вариабельные участки CDR легкой цепи, содержащие аминокислотные последовательности согласно табл. 1 настоящего описания.

Настоящее изобретение также предусматривает специфические антитела или фрагменты антител, которые конкурируют со специфическими антителами или фрагментами антител, раскрытыми в данном документе. Настоящее изобретение также предусматривает специфические антитела или фрагменты антител, которые связываются с тем же самым эпитопом, что и специфические антитела или фрагменты антител, раскрытые в данном документе.

Настоящее изобретение также предусматривает выделенные антитела или фрагменты антител по настоящему изобретению для применения в медицине.

Настоящее изобретение также предусматривает способы лечения субъекта, страдающего от нарушения, такого как воспалительное нарушение, путем введения указанному субъекту эффективного количества антител или фрагментов антител по настоящему изобретению. Предпочтительно указанный субъект является человеком.

Настоящее изобретение также предусматривает фармацевтические композиции, содержащие выделенные антитела или фрагменты антител по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

Настоящее изобретение также обеспечивает нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела или фрагменты антител по настоящему изобретению.

Настоящее изобретение также предусматривает векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, коди-

рующие антитела или фрагменты антител по настоящему изобретению.

Настоящее изобретение также предусматривает клетку-хозяина, содержащую вектор или нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела или фрагменты антител по настоящему изобретению.

Заявленные антитела или фрагменты антител являются полезными. Более того, заявленный способ является полезным для определения таких антител или фрагментов.

Заявленные антитела или фрагменты антител используются для изменения биологической активности IL-17C человека. В частности, заявленные антитела или фрагменты антител предназначены для терапевтического применения, как, например, для лечения воспалительных нарушений, таких как, например, ревматоидный артрит, псориаз, воспаление легких, COPD, и/или для лечения атопического дерматита (AD), в том числе AD со степенью тяжести от умеренной до тяжелой.

Краткое описание графических материалов

Фиг. 1: Дозозависимое предупреждение утолщения уха, вызванного местным нанесением MC903 на кожу уха, с помощью MAB#1.

Данные выражены в виде средних значений $\pm$ стандартная ошибка среднего (SEM) (n=8 на группу). Статистическую значимость относительно MC903+MOR03207 рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. (DEX: дексаметазон; EtOH: этанол).

Фиг. 2: Дозозависимое уменьшение воспаления уха, вызванного местным нанесением MC903 на кожу уха, с помощью MAB#1.

Воспаление уха оценивали в день 5, используя визуализацию *in vivo*. Левая панель: количественная оценка интенсивности сигнала в ушах. Отдельные точки данных (n=8 на группу) представляют усредненную интенсивность для обеих ушей; данные также показаны в виде средних значений (горизонтальные линии) $\pm$ SEM. Статистическую значимость относительно MC903+MOR03207 рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. Правая панель: репрезентативные изображения мышиных ушей от животных из разных групп лечения получали с помощью устройства Bruker *in vivo* Xtreme Imager через 24 ч после инъекции зонда Prosense 680. (DEX: дексаметазон; EtOH: этанол).

Фиг. 3: Дозозависимое уменьшение утолщения эпидермального и дермального слоев кожи, вызванного местным нанесением MC903 на кожу уха, с помощью MAB#1.

Данные представлены в виде отдельных точек данных (n=8 на группу) и средних значений (горизонтальные линии) $\pm$ SEM. Статистическую значимость относительно MC903+MOR03207 рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. Левая панель: данные по толщине эпидермиса; правая панель: данные по толщине дермы.

Фиг. 4: Дозозависимое ингибирование MC903-опосредованного повышения экспрессии TSLP и IL-33 в ухе и уровней TARC в плазме крови с помощью MAB#1.

Данные представлены в виде отдельных точек данных (n=8 на группу) и средних значений (горизонтальные линии) $\pm$ SEM. Статистическую значимость относительно группы MC903+MOR03207 рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. Верхняя левая панель: данные по экспрессии белка TSLP в ухе; нижняя левая панель: данные по экспрессии белка IL-33 в ухе; верхняя правая панель: данные по уровням белка TARC в плазме крови.

Фиг. 5: Дозозависимое уменьшение утолщения уха, вызванное местным нанесением MC903 на кожу уха, с помощью терапевтического введения MAB#1.

Данные выражены в виде средних значений $\pm$ SEM (n=10 на группу). Статистическую значимость относительно MC903+MOR03207 рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. (DEX: дексаметазон; EtOH: этанол).

Фиг. 6: Дозозависимое уменьшение воспаления уха, вызванного местным нанесением MC903 на кожу уха, с помощью терапевтического введения MAB#1.

Воспаление уха оценивали в день 12 с использованием визуализации *in vivo*, и при этом интенсивность сигнала в ушах представлена графически. Отдельные точки данных (n=10 на группу) представляют среднюю интенсивность для обеих ушей; данные также показаны в виде средних значений (горизонтальные линии) $\pm$ SEM. Статистическую значимость относительно MC903+MOR03207 рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. (DEX: дексаметазон; EtOH: этанол).

Фиг. 7: Дозозависимое уменьшение утолщения эпидермального и дермального слоев кожи, вызванного местным нанесением MC903 на кожу уха, с помощью терапевтического введения MAB#1.

Данные представлены в виде отдельных точек данных (n=10 на группу) и средних значений (горизонтальные линии) $\pm$ SEM. Статистическую значимость относительно MC903+MOR03207 рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета:

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Левая панель: данные по толщине эпидермиса; правая панель: данные по толщине дермы. (DEX: дексаметазон; EtOH: этанол).

Фиг. 8: Дозозависимое снижение инфильтрации дермы эозинофилами, Т-клетками и тучными клетками с помощью терапевтического введения МАВ#1.

Данные представлены в виде отдельных точек данных ($n=10$ на группу) и средних значений (горизонтальные линии) $\pm$ SEM. Статистическую значимость относительно MC903+MOR03207 рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Верхняя левая панель: данные по эозинофилам; верхняя правая панель: данные по тучным клеткам; нижняя левая панель: данные по Т-клеткам. (DEX: дексаметазон; EtOH: этанол).

Фиг. 9: Снижение экспрессии IL-33, IL-4 и S100A9, которая была по-прежнему повышена в день 16 (11 дней после прекращения нанесения MC903), с помощью терапевтического введения МАВ#1.

Данные представлены в виде отдельных точек данных ($n=10$ на группу) и средних значений (горизонтальные линии) $\pm$ SEM. Статистическую значимость относительно группы MC903+MOR03207 рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Верхняя левая панель: данные по экспрессии мРНК S100A9 в ухе; нижняя левая панель: данные по экспрессии мРНК IL-4 в ухе; верхняя правая панель: данные по уровням белка IL-33 в ухе.

Фиг. 10: Снижение макроскопических клинических признаков AD-подобного воспаления в спонтанной и хронической модели чешуйчатого хвоста с помощью МАВ#1.

Клиническую оценку в баллах воспаления кожи для каждой мыши проводили в начале (неделя 0) и в конце (неделя 6) обработки. Данные представляют собой среднее значение $\pm$ SD для каждой группы обработки ($n=8$ на группу). Статистическую значимость относительно группы, обработанной изотипическим антителом, рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Фиг. 11: Снижение подобного экзематозному воспалению глазных век в спонтанной и хронической модели чешуйчатого хвоста с помощью МАВ#1.

Воспаление кожи век оценивали в баллах в конце обработки (неделя 6). Данные представляют собой среднее значение $\pm$ SD для каждой группы обработки ($n=8$ на группу). Статистическую значимость относительно группы, обработанной изотипическим антителом, рассчитывали с использованием дисперсионного анализа и апостериорного множественного сравнения Даннета: (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к ряду антител или фрагментов антител, которые распознают IL-17C человека.

Определения.

Термин "IL-17C" относится к белку, известному как интерлейкин 17C.

IL-17C человека имеет следующую аминокислотную последовательность (UniProt Q9P0M4):

```
MTLLPGLLFTWLHTCLAHNDPSLRGHPHSHGTPHCYSAEELPLGQAPPHLLA
RGAKWGGQALPVALVSSLEAASHRGRHERPSATTQCPVLRPEEVLEADTHQR
SISPWRYRVDTDDEDRYPQKLAFACELCRGCIDARTGRETAALNSVRLQSLLV
LRRRPCSRDGSGLPTPGAFAFHTEFIRVPVGCTCVLPRSV (SEQ ID No.: 1)
```

IL-17C мыши имеет следующую аминокислотную последовательность (UniProt Q8K4C5):

```
MSLLLLGWLPTGMTHQDPPSWGKPRSHRTLRCYSAEELSHGQAPPHLLTRS
ARWEQALPVALVASLEATGHRRQHEGPLAGTQCPVLRPEEVLEADTHERSIS
PWRYRIDTDENRYPQKLAVAECLCRGCINAKTGRETAALNSVQLQSLVLRR
QPCSRDGTADPTPGSFAFHTEFIRVPVGCTCVLPRSTQ (SEQ ID No.: 2)
```

IL-17C макака-крабеда имеет следующую аминокислотную последовательность (XP_005592825.1):

```
MTLLPGLLFTWLHACLAHQDPFLRGHPHHTGTPRCYSAEELPLGQAPPHLLA
RGAKWGGQALPVALVSSLEAAGHRRRHDRPSAATQCPVLRPEEVLEADTHQR
SISPWRYRVDTDDEDRYPQKLAFACELCRGCIDPRTGRETAALNSVRLQSLLV
LRRRPCSRDGSGLPTPGAFAFHTEFIRVPVGCTCVLPRSV (SEQ ID No.: 3)
```

Термин "IL17RA" относится к белку, известному как рецептор А интерлейкина 17. IL17RA человека характеризуется следующей аминокислотной последовательностью (UniProt Q96F46):

MGAARSPPSAVPGPLLGLLLLLLVLPAGGASLRLLDHRALVCSQPGLNCTVKNSTC
 LDDSWIHPRLNLTSSPKDLQILHFAHTQQGDLFPVAHIEWTLQTDASILYLEGAELS
 VLQNTNERLCVRFEFLSKLRHHRRWRFTFSHFVVDPDQEYEVTVHHLPKPIPDG
 DPNHQSKNFLVPDCEHARMKVTPCMSSGSLWDPNITVETLEAHQLRVSTLWNES
 THYQILLTSFPHMENHSCFEHMHIPAPRPEEFHQRSNVTLTRNLKGCCRHHQVQIQ
 PFFSSCLNDCLRHSATVSCPEMPDTPPIPDYMWVYWFITGISILLVGSVILLVCM
 TWRLAGPGSEKYSDDTKYTDGLPAADLIPPLKPRKVWIYSADHPLYDVVLKFAQ
 FLLTACGTEVALDLLEEQAISEAGVMTWVGRQKQEMVESNSKIIVLCSRGRTRAKWQ
 ALLGRGAPVRLRCDHGKPVGDLFTAAMNMILPDFKRPACFGTYVVCYFSEVSCDGD
 VPDLFGAAPRYPLMDRFEEVYFRIQDLEMFQPMHRVGEISGDNYLRSPGGRQL
 RAALDRFRDWQVRCPDWFECENLYSADDQDAPSLDEEVFEEPLPPGTGIVKRAPL
 VREPGSQACLAIDPLVGEEGGA AVAKLEPHLQPRGQPAPQPLHTLVLAEEGALVA
 AVEPGPLADGA AVRLALAGEGEACPLLGSPPGAGRNSVLFPLVPDPEDSPLGSSTnMA
 SPDLLPEDVREHLEGLMLSLFEQSLSCQAQGGCSRPA MVLTDPHTPYEEEEQRQSV
 QSDQGYISRSPQPPEGLTEMEEEEEEEQDPGKPALPLSPEDLESRLSLRQQLLFR
 QLQKNSGWDTMGSESEGPSA (SEQ ID No.: 4)

Термин "IL17RE" относится к белку, известному как рецептор Е интерлейкина 17. IL17RE человека характеризуется следующей аминокислотной последовательностью (UniProt Q8NFR9):

MGSSRLAALLPLLLIVIDLSDSAGIGFRHLPHWNTRCPLASHTDDSTGSSAYIPCRT
 WWALFSTKPWCVRVWHCSRCLCQHLLSGGSLQRLFHLLVQSKKSSTFKFYRR
 HKMPAPAQRKLLPRRHLSEKSHHISIPSPDISHKGLRSKRTQPSDPETWESLPRLDS
 QRHGGPEFSFDLLPEARAIRVTISSGPEVSVRLCHQWALECEELSSPYDVQKIVSGG
 HTVELPYEFLLPCLCIEASYLQEDTVRRKKCPFQSWPEAYGSDFWKSVHFTDYSQH
 TQMVMALTLCPLKLEAALCQRHDWHTLCKDLPNATARES DGWYVLEKVDLHPQL
 CFKFSGNSSHVECPHQTSGLTSWNVSMDTQAQQLILHFSSRMHATFSAAWSLPG
 LGQDTLVPPVYTVSQARGSSPVSLDIIPFLRPGCCVLVWRSDVQFAWKHLLCPDVS
 YRHLGLLILALLLTLGVVLA LTCRRPQSGPGPARPVLLLHAADSEAQRRLVGALA
 ELLRAALGGGRDIVDLWEGRHVARVGPLWLWAARTRVAREQGTVLLWWSGADL
 RPVSGDPDRAAPLLALLHAAPRPLLLAYFSRLCAKGDIPPLRALPRYRLRLDLPRL
 LRALDARPF AEATSWGRLGARQRQRSLRLECSRLEREARLADLG (SEQ ID No.: 5)

IL17RE мыши имеет аминокислотную последовательность (UniProt Q8BH06):

MGSPRLAALLSLPLLIGLAVSARVACPCLRSWTSCHLLAYRVDKRFAGLQWGWFF
 PLLVRKSKSPPKFEDYWRHRTPASFQRKLLGSPSLSEESHRISSIPSSAISHRGQRTK
 RAQPSAAEGREHLPEAGSQKCGGPEFSFDLLPEVQAVRVTIPAGPKASVRLCYQW
 ALECEDLSPFDQTQKIVSGGHTVDLPYEFLLPCMIEASYLQEDTVRRKKCPFQSWP
 EAYGSDFWQSIRFTDYSQHNQMVMA LTRCPLKLEASLCWRQDPLTPCETLPNATA
 QESEGWYILENVDLHPQLCFKFSEFNSSHVECPHQSGSLPSWTVSMDTQAQQLTL
 HFSSRTYATFSAAWSDPGLGPDnMPPVYSISQTQGSVPVTLDIIPFLRQENCILVW
 RSDVHF AWKHVLCPDVSHRHLGLLILALLALTALVGVLVLLGRRLLPGSGRTRPVLL
 LHAADSEAQRRLVGALAE LRLTALGGGRDIVDLWEGTHVARIGPLPWLWAARERV
 AREQGTVLLWNCAGPSTACSGDPQAASLRTLCAAPRPLLLAYFSRLCAKGDIPRP
 LRALPRYRLRLDLPRLRALDAQPATLASSWSHLGAKRCLKNRLEQCHLLELEAAKD
 DYQGSTNSPCGFSCS (SEQ ID No.: 6)

Термины "антагонист IL-17C" и "IL-17C-антагонист" используются взаимозаменяемо в данном документе, и они относятся к любой молекуле, которая ингибирует активность или функцию IL-17C. Термин "антагонист IL-17C" включает без ограничения антитела или фрагменты антител, специфически связывающиеся с IL-17C. Предпочтительно антагонист IL-17C в настоящем изобретении представляет собой антитело, специфичное в отношении IL-17C человека. Такое антитело может быть любого типа, такое как антитело мыши, крысы, химерное, гуманизированное антитело или антитело человека.

Используемый в данном документе термин "антитело" относится к белку, содержащему по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные между собой дисульфидными связями, которые взаимодействуют с антигеном. Каждая тяжелая цепь состоит из вариабельного участка тяжелой цепи (в настоящем документе сокращенно VH) и константного участка тяжелой цепи. Константный участок тяжелой цепи состоит из трех доменов, CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из вариабельного участка легкой цепи (в настоящем документе сокращенно VL) и константного участка легкой цепи. Константный участок легкой цепи состоит из одного домена - CL. Участки VH и VL можно дополнительно подразделить на участки гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность

участками (CDR), которые чередуются с более консервативными участками, называемыми каркасными участками (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Вариабельные участки тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные участки антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. Термин "антитело" включает, например, моноклональные антитела, антитела человека, гуманизированные антитела, верблюжьи антитела и химерные антитела. Антитела могут относиться к любому изотипу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), классу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подклассу. Как легкая, так и тяжелая цепи подразделяются на участки структурной и функциональной гомологии.

Используемая в данном документе фраза "фрагмент антитела" относится к одной или нескольким частям антитела, которые сохраняют способность специфически взаимодействовать (например, путем связывания, стерического несоответствия, стабилизирующего пространственного распределения) с антигеном. Примеры связывающих фрагментов включают без ограничения Fab-фрагмент, моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1; F(ab)₂-фрагмент, бивалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, связанных дисульфидным мостиком в шарнирном участке; Fd-фрагмент, состоящий из доменов VH и CH1; Fv-фрагмент, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела, dAb-фрагмент (Ward et al. (1989), *Nature*, 341:544-546), который состоит из домена VH; и выделенный участок, определяющий комплементарность (CDR). Более того, несмотря на то, что два домена Fv-фрагмента, VL и VH, кодируются отдельными генами, их можно соединить с применением рекомбинантных способов с помощью синтетического линкера, который позволяет образовать им единую белковую цепь, в которой участки VL и VH соединяются попарно с образованием моновалентных молекул (известных как одноцепочечные Fv (scFv), см., например, Bird et al. (1988), *Science*, 242:423-426; and Huston et al. (1988), *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:5879-5883). Подразумевается, что такие одноцепочечные антитела также охвачены выражением "фрагмент антитела". Эти фрагменты антитела получают, используя традиционные методики, известные специалистам в данной области техники, и фрагменты проверяют на пригодность таким же образом, как и интактные антитела. Фрагменты антител также могут быть включены в однодоменные антитела, макситела, мини-тела, внутриклеточные антитела, диатела, триатела, тетратела, v-NAR и bis-scFv (см., например, Hollinger and Hudson, (2005), *Nature Biotechnology*, 23:1126-1136). Фрагменты антител можно прививать к остовам на основе полипептидов, таких как фибронектин типа III (Fn3) (см. патент США № 6703199, в котором описываются монотела на основе полипептида, представляющего собой фибронектин). Фрагменты антител могут быть включены в одноцепочечные молекулы, содержащие пару tandemных Fv-сегментов (VH-CH1-VH-CH1), которые вместе с комплементарными полипептидами легкой цепи образуют пару антигенсвязывающих участков (Zapata et al. (1995), *Protein Eng.* 8:1057-1062; и патент США № 5641870).

Используемое в данном документе выражение "антитело человека" или "фрагмент антитела человека" включает антитела и фрагменты антител, содержащие вариабельные участки, в которых и каркасные, и CDR-участки получены из последовательностей человеческого происхождения. Кроме того, если антитело содержит константный участок, тогда константный участок также получен из таких последовательностей. Источники человеческого происхождения включают, например, последовательности зародышевой линии человека или мутантные версии последовательностей зародышевой линии человека или антитела, содержащего консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализа каркасных последовательностей человека, например, как описано в Knappik et al. (2000), *J. Mol. Biol.* 296:57-86).

Структуры и местоположения вариабельных доменов иммуноглобулинов, например CDR, можно определять с применением хорошо известных схем нумерации, например схемы нумерации по Kabat, схемы нумерации по Chothia или комбинации схем по Kabat и Chothia (см., например, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, U.S. Department of Health and Human Services (1991), eds. Kabat et al., Lazikani et al. (1997), *J. Mol. Biol.* 273:927-948); Kabat et al. (1991), *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th edit., NIH Publication no. 91-3242 U.S. Department of Health and Human Services; Chothia et al. (1987), *J. Mol. Biol.* 196:901-917; Chothia et al. (1989), *Nature*, 342:877-883; и Al-Lazikani et al. (1997), *J. Mol. Biol.* 273:927-948).

В данном документе выражения "гуманизированное антитело" или "фрагмент гуманизированного антитела" определены как молекула антитела, которая имеет константные участки антитела, полученные из последовательностей человеческого происхождения, и при этом вариабельные участки антитела и их части или только CDR получены от другого вида. Например, гуманизированное антитело может быть с привитыми CDR, где CDR вариабельного домена имеют происхождение, отличное от человеческого, тогда как один или несколько каркасов вариабельного домена имеют человеческое происхождение, и константный домен (если таковой имеется) имеет человеческое происхождение.

Термин "химерное антитело" или "фрагмент химерного антитела" определен в данном документе как молекула антитела, которая содержит константные участки антитела, полученные из последователь-

ностей, встречающихся у одного вида, и переменные участки антитела, происходящие из другого вида, или соответствующие им. Предпочтительно константные участки антитела получены из последовательностей, встречающихся у людей, или соответствуют им, а переменные участки антитела (например, VH-, VL-, CDR- или FR-участки) получены из последовательностей, встречающихся у животного, отличного от человека, например мыши, крысы, кролика или хомячка.

Термин "выделенный" относится к соединению, которое может представлять собой, например, антитело или фрагмент антитела, которое(которые) практически не содержит других антител или фрагментов антител, характеризующихся отличной антигенной специфичностью. Более того, выделенное антитело или фрагмент антитела могут практически не содержать другой клеточный материал и/или химические вещества. Таким образом, согласно некоторым аспектам предусмотренные антитела представляют собой выделенные антитела, которые были отделены от антител с отличной специфичностью. Выделенное антитело может представлять собой моноклональное антитело. Выделенное антитело может представлять собой рекомбинантное моноклональное антитело. Выделенное антитело, которое специфически связывается с эпитопом, изоформой или вариантом мишени, может, однако, характеризоваться перекрестной реактивностью с другими родственными антигенами, например, из других видов (например, видов-гомологов).

Термин "рекомбинантное антитело", используемое в данном документе, включает все антитела, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены с помощью не существующих в природе способов. Например, антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированы так, чтобы экспрессировать антитело, антитела, выбранные и выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки антител человека, и антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные с помощью любых других способов, которые включают сплайсинг всего или части гена иммуноглобулина человека, последовательностей для других последовательностей ДНК или антител, выделенных из животного (например, мыши), которые являются трансгенными или трансхромосомальными по отношению к генам иммуноглобулина человека или полученной из них гибридомы. Предпочтительно такие рекомбинантные антитела содержат переменные участки, в которых каркасные и CDR-участки получены из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. В определенных вариантах осуществления, однако, такие рекомбинантные антитела человека можно подвергать мутагенезу *in vitro* (или, если применяют животное, трансгенное по последовательностям Ig человека, соматическому мутагенезу *in vivo*), и, таким образом, аминокислотные последовательности VH- и VL-участков рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, поскольку получены из последовательностей VH и VL зародышевой линии человека и родственны им, в естественных условиях могут не встречаться в пределах репертуара антител зародышевой линии человека *in vivo*. Рекомбинантное антитело может представлять собой моноклональное антитело. В одном из вариантов осуществления антитела и фрагменты антител, раскрытые в данном документе, выделены из библиотеки антител Ylanthia®, раскрытой в US 13/321564 или US 13/299367, оба из которых включены в данный документ посредством ссылки.

В контексте данного документа термин "моноклональное антитело" относится к препарату молекул антител одной молекулярной композиции. Композиция моноклонального антитела характеризуется уникальным участком связывания с уникальной специфичностью связывания и аффинностью к конкретным эпитопам.

Используемый в данном документе термин "связывается специфично с", "специфично связывается с", является "специфичным к/в отношении" или "специфично распознает" или тому подобный относится к измеряемым и воспроизводимым взаимодействиям, таким как связывание между мишенью и антителом или фрагментом антитела, что является определяющим для наличия мишени в присутствии гетерогенной популяции молекул, в том числе биологических молекул. Например, антитело или фрагмент антитела, которые специфично связываются с мишенью (которая может являться антигеном или эпитопом антигена), представляют собой антитело или фрагмент антитела, которые связывают данную мишень с более высокой аффинностью, авидностью, более легко и/или с большей продолжительностью, чем связываются с другими мишенями. В определенных вариантах осуществления антитело или фрагмент антитела специфически связываются с эпитопом на белке, который является консервативным среди белков из различных видов. В другом варианте осуществления специфическое связывание может включать исключительное связывание, но не требует его. Антитела или фрагменты антител, раскрытые в данном документе, специфически связываются с IL-17C человека. Предпочтительно раскрытые антитела или фрагменты антител, специфичные в отношении IL-17C человека, специфически связываются с IL-17C от другого вида, таким как IL-17C от мыши, крысы, макака-резуса и/или макака-крабоеда. Еще более предпочтительно антитела или фрагменты антител, раскрытые в данном документе, являются специфичными в отношении IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши. Способы определения того, специфически ли связываются две молекулы, хорошо известны в данной области и включают, например, стандартный анализ ELISA. Оценку в баллах можно проводить с помощью стандартного проявления окрашивания (например, с применением вторичного антитела с пероксидазой хрена и тетраметилбензидина с перекисью водорода). Реакцию в определенных лунках оценивают по оптической плотности, например, при 450 нм. Типичный фон (=отрицательная реакция) может соответствовать 0,1 OD; типичная положи-

тельная реакция может соответствовать 1 OD. Это означает, что различие положительной/отрицательной реакции может быть более чем 5-кратным. Как правило, определение специфичности связывания осуществляют с применением не одного эталонного антигена, а набора приблизительно из трех-пяти неродственных антигенов, таких как белки сухого молока, BSA, трансферрин и т.п.

Термин "авидность" применяется для описания общей силы взаимодействий между белками за счет множества связей. Авидность отличается от аффинности, которая описывает силу отдельной связи. Как таковая, авидность представляет собой общую синергическую силу аффинностей связывания (функциональную аффинность), а не сумму связей. С помощью антител по настоящему изобретению оба антиген-связывающих участка из пар VH/VL одновременно взаимодействуют с IL-17C. Хотя каждое взаимодействие за счет единичного связывания легко может быть нарушено (в зависимости от относительной аффинности), поскольку в одно и то же время имеют место взаимодействия за счет множественных связей, временное отсутствие связывания одного участка не позволяет молекуле диффундировать, и связывание такого участка, вероятно, восстанавливается. Общий эффект заключается в синергическом, сильном связывании антигена с антителом.

В контексте данного документа термин "аффинность" относится к силе взаимодействия между полипептидом и его мишенью в одном участке. В пределах каждого участка связывающая область полипептида взаимодействует с его мишенью во множестве участков посредством слабых нековалентных сил; чем больше взаимодействий, тем сильнее аффинность.

Используемый в данном документе термин " K_D " относится к константе диссоциации, которая получена из соотношения K_d и K_a (т.е. K_d/K_a) и которая выражается в виде молярной концентрации (M). Значения K_D для антигенсвязывающих частиц, таких как, например, моноклональные антитела, можно определить с применением способов, хорошо известных из уровня техники. Способами определения K_D для антигенсвязывающей частицы, такой как, например, моноклональное антитело, являются SET (равновесное титрование раствора) или метод поверхностного плазмонного резонанса с применением биосенсорной системы, такой как система Biacore®. В настоящем изобретении антитело, специфичное к IL-17C, как правило, характеризуется константой скорости диссоциации (K_D) (k_{off}/k_{on}), составляющей менее 5×10^{-2} M, менее 10^{-2} M, менее 5×10^{-3} M, менее 10^{-3} M, менее 5×10^{-4} M, менее 10^{-4} M, менее 5×10^{-5} M, менее 10^{-5} M, менее 5×10^{-6} M, менее 10^{-6} M, менее 5×10^{-7} M, менее 10^{-7} M, менее 5×10^{-8} M, менее 10^{-8} M, менее 5×10^{-9} M, менее 10^{-9} M, менее 5×10^{-10} M, менее 5×10^{-10} M, менее 5×10^{-11} M, менее 10^{-11} M, менее 5×10^{-12} M, менее 10^{-12} M, менее 5×10^{-13} M, менее 10^{-13} M, менее 5×10^{-14} M, менее 10^{-14} M, менее 5×10^{-15} M или менее 10^{-15} M, или меньше.

Выражение "перекрестно конкурирует" означает способность антитела, фрагмента антитела или других антигенсвязывающих частиц препятствовать связыванию других антител, фрагментов антител или антигенсвязывающих частиц со специфическим антигеном в стандартном анализе конкурентного связывания. Способность или степень, с которой антитело, фрагмент антитела или другие антигенсвязывающие частицы способны препятствовать связыванию другого антитела, фрагмента антитела или антигенсвязывающих частиц с определенным антигеном, и, таким образом, их способность перекрестно конкурировать в соответствии с настоящим изобретением можно определить с применением стандартных анализов конкурентного связывания. В одном подходящем анализе используется технология Biacore (например, с применением прибора Biacore 3000 (Biacore, Уппсала, Швеция)), с помощью которого можно измерить степень взаимодействия, используя технологию на основе поверхностного плазмонного резонанса. В другом анализе для измерения перекрестной конкуренции применяется подход на основе ELISA. Высокопроизводительный способ "эпитоп-специфической сортировки" антител, основанный на их перекрестной конкуренции, описан в международной заявке на патент WO 2003/48731. Перекрестная конкуренция имеет место, если исследуемые антитело или фрагмент антитела обеспечивают снижение связывания одного из описанных в табл. 1 антител с IL-17C на 60% или больше, в частности, на 70% или больше и, более конкретно, на 80% или больше и если одно из описанных в табл. 1 антител обеспечивает снижение связывания указанного антитела или фрагмента антитела с IL-17C на 60% или больше, в частности, на 70% или больше и, более конкретно, на 80% или больше.

Термин "эпитоп" включает любой белковый участок, который специфически распознается антителом или его фрагментом или Т-клеточным рецептором или иным образом взаимодействует с молекулой. Обычно эпитопы представляют собой химически активные поверхностные группы молекул, таких как аминокислоты или боковые цепи углеводов или сахаров, и обычно могут обладать специфическими характеристиками трехмерной структуры, а также специфическими характеристиками заряда. Как будет понятно специалисту в данной области техники, практически все, с чем антитело может специфически связываться, может представлять собой эпитоп.

Выражение "связывает тот же эпитоп, что и" означает способность антитела, фрагмента антитела или другой антигенсвязывающей частицы связываться со специфическим антигеном и связываться с тем же самым эпитопом, что и иллюстративное антитело при использовании той же самой методики картирования эпитопов для сравнения антител. Эпитопы иллюстративного антитела и других антител можно определять с помощью методик картирования эпитопов. Методики картирования эпитопов хорошо из-

вестны в данной области техники. Например, конформационные эпитопы легко идентифицируются путем определения пространственной конформации аминокислот, например, с помощью метода на основе водород-дейтериевого обмена, рентгеноструктурной кристаллографии и двухмерной ядерной магнитно-резонансной спектроскопии.

Композиции по настоящему изобретению можно использовать для терапевтических или профилактических способов применения. Настоящее изобретение, таким образом, предусматривает фармацевтическую композицию, содержащую антитело (или функциональный фрагмент антитела), раскрытые в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество для них. В связанном аспекте в настоящем изобретении предусматривается способ лечения воспалительного нарушения. Такой способ включает стадии введения субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества фармацевтической композиции, которая содержит антитело (или функциональный фрагмент антитела), описанные или рассмотренные в данном документе.

В настоящем изобретении предусмотрены терапевтические способы, включающие введение терапевтически эффективного количества раскрытого антитела к IL-17C субъекту, нуждающемуся в таком лечении. Используемое в данном документе выражение "терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" относится к количеству антитела к IL-17C, необходимому для получения необходимого биологического ответа. В соответствии с заявленным изобретением терапевтически эффективным количеством является количество антитела к IL-17C, требуемое для лечения и/или предупреждения заболевания.

Используемый в данном контексте термин "субъект" или "вид" относится к любому млекопитающему, включая грызунов, таких как мышь или крыса, и приматов, таких как макак-крабоед (*Macaca fascicularis*), макак-резус (*Macaca mulatta*) или люди (*Homo sapiens*). Предпочтительно субъектом является примат, наиболее предпочтительно человек.

Варианты осуществления.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат:

(a) участок HCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 7, участок HCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 8, участок HCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 9, участок LCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 14, и участок LCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 15; или

(b) участок HCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 27, и участок LCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 28.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 7, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 8, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 9, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15 или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат:

(a) участок HCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 10, участок HCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 11, участок HCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 12, участок LCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 14, и участок LCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 15; или

(b) участок HCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 23, участок HCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 24, участок HCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 25, участок LCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 27, и участок LCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 28.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат

LCDR3 под SEQ ID No.: 15 и дополнительно содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 17 или легкую цепь под SEQ ID No.: 16; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28, и дополнительно содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 или легкую цепь под SEQ ID No.: 29; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 23, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 24, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 25, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28, и дополнительно содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 или легкую цепь под SEQ ID No.: 29.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 17 и легкую цепь под SEQ ID No.: 16.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 и легкую цепь под SEQ ID No.: 29.

В дополнительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 43 и легкую цепь под SEQ ID No.: 42.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 56 и легкую цепь под SEQ ID No.: 55.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения антитело или фрагмент антитела представляют собой выделенное антитело или фрагмент антитела.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения антитело или фрагмент антитела представляют собой рекомбинантное антитело или фрагмент антитела.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C для применения в лечении нарушения или состояния, ассоциированных с нежелательным присутствием IL-17C.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции на основе нуклеиновой кислоты, содержащей последовательность нуклеиновой кислоты или множество последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих антитело или фрагмент антитела, специфичных в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 7, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 8, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 9, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 10, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 11, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 12, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 23, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 24, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 25, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции на основе вектора, содержащей вектор или множество векторов, содержащих последовательность нуклеиновой кислоты или множество последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих антитело или фрагмент антитела, раскрытые в табл. 1.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к клетке, содержащей композицию на основе вектора, содержащую вектор или множество векторов, содержащих последовательность нуклеиновой кислоты или множество последовательностей нуклеиновой кислоты, кодирующих антитело или фрагмент антитела, раскрытые в табл. 1.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей антитело или фрагмент антитела, раскрытые в табл. 1, и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество.

В одном варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела, специфичные к IL-17C, блокируют связывание IL-17C с рецептором IL-17C. В дополнительном варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела, специфичные к IL-17C, блокируют связывание IL-17C с рецептором IL-17C, где указанный рецептор представляет собой IL17RE. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела блокируют связывание IL-17C с IL17RE. В дру-

гом варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 7, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 8, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 9, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 10, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 11, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 12, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 23, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 24, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 25, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28.

В другом варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 17 и легкую цепь под SEQ ID No.: 16, или тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 и легкую цепь под SEQ ID No.: 29, или тяжелую цепь и легкую цепь, которые характеризуются по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичностью с тяжелой цепью под SEQ ID No.: 17 или 30 и легкой цепью под SEQ ID No.: 16 или 29.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, специфичным к IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела бивалентно связываются с гомодимером IL-17C и образуют комплекс, состоящий из указанных антитела или фрагмента антитела и одного гомодимера IL-17C, и где указанные антитело или фрагмент антитела блокируют связывание IL-17C с IL17RE.

В определенных вариантах осуществления указанные антитело или фрагмент антитела, специфичные в отношении IL-17C, блокируют связывание IL-17C с одним или несколькими рецепторами IL-17C. В другом варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 7, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 8, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 9, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 10, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 11, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 12, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 23, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 24, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 25, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28.

В другом варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 17 и легкую цепь под SEQ ID No.: 16, или тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 и легкую цепь под SEQ ID No.: 29, или тяжелую цепь и легкую цепь, которые характеризуются по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичностью с тяжелой цепью под SEQ ID No.: 17 или 30 и легкой цепью под SEQ ID No.: 16 или 29.

В альтернативных вариантах осуществления указанные антитело или фрагмент антитела, специфичные в отношении рецептора IL-17C, блокируют связывание IL-17C с рецепторами IL-17C, где рецепторы IL-17C включают IL17RE и IL17RA. В альтернативных вариантах осуществления указанные антитело или фрагмент антитела, специфичные в отношении рецептора IL-17C, блокируют связывание IL-17C с IL17RE и IL17RA. В определенных аспектах указанные антитело или фрагмент антитела, специфичные в отношении IL-17C, блокируют связывание IL-17C с IL17RE при концентрации IC_{50} менее 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 и 1 нМ, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 пМ. В определенных аспектах концентрацию IC_{50} можно определить с помощью ELISA; SET, FACS или MSD (Meso Scale Discovery). В другом аспекте концентрация IC_{50} может быть определена с помощью способа, описанного в данном документе в примере 3. В другом варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 17 и легкую цепь под SEQ ID No.: 16, или тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 и легкую цепь под SEQ ID No.: 29, или тяжелую цепь и легкую цепь, которые характеризуются по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичностью с тяжелой цепью под SEQ ID No.: 17 или 30 и легкой цепью под SEQ ID No.: 16 или 29.

В одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела являются специфичными в отношении IL-17C человека. В дополнительном варианте осуществления раскрытые антитело

или фрагмент антитела, специфичные в отношении IL-17C, перекрестно реагируют с IL-17C других видов, таким как IL-17C мыши, крысы, макака-резуса и/или макака-крабоеда. В другом варианте осуществления антитело или фрагмент антитела являются специфичными в отношении IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши. В дополнительном варианте осуществления антитело или фрагмент антитела являются специфичными в отношении IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши. В другом варианте осуществления антитело или фрагмент антитела являются специфичными в отношении IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 7, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 8, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 9, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 10, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 11, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 12, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 23, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 24, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 25, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28.

В другом варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 17 и легкую цепь под SEQ ID No.: 16, или тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 и легкую цепь под SEQ ID No.: 29, или тяжелую цепь и легкую цепь, которые характеризуются по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичностью с тяжелой цепью под SEQ ID No.: 17 или 30 и легкой цепью под SEQ ID No.: 16 или 29.

В еще одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела специфически связываются с IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши и блокируют связывание IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши с их специфическим рецептором IL17RE при концентрации IC_{50} менее 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 нМ, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 пМ. В другом аспекте указанное антитело представлено в формате IgG1. В другом варианте осуществления указанную концентрацию IC_{50} определяют в анализе ингибирования связывания рецепторов, описанном в примере 3.

В еще одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела специфически связываются с IL-17C человека и блокируют связывание IL-17C человека с IL17RE человека при концентрации IC_{50} менее 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 нМ, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 пМ. В другом аспекте указанное антитело представлено в формате IgG1. В других вариантах осуществления указанную концентрацию IC_{50} определяют в анализе ингибирования связывания рецепторов, описанном в примере 3.

В еще одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела специфически связываются с IL-17C макака-крабоеда и блокируют связывание IL-17C макака-крабоеда с IL17RE макака-крабоеда при концентрации IC_{50} менее 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 нМ, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 пМ. В другом аспекте указанное антитело представлено в формате IgG1. В других вариантах осуществления указанную концентрацию IC_{50} определяют в анализе ингибирования связывания рецепторов, описанном в примере 3.

В еще одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела специфически связываются с IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши и блокируют связывание IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши с IL17RE человека, IL17RE макака-крабоеда и IL17RE мыши соответственно при концентрации IC_{50} для каждого, составляющей менее 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 нМ, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 пМ. В предпочтительном варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 7, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 8, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 9, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 10, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 11, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 12, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 23, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 24, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 25, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок

LCDR3 под SEQ ID No.: 28.

В другом варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 17 и легкую цепь под SEQ ID No.: 16, или тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 и легкую цепь под SEQ ID No.: 29, или тяжелую цепь и легкую цепь, которые характеризуются по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичностью с тяжелой цепью под SEQ ID No.: 17 или 30 и легкой цепью под SEQ ID No.: 16 или 29. В другом аспекте указанное антитело представлено в формате IgG1. В других вариантах осуществления указанную концентрацию IC₅₀ определяют в анализе ингибирования связывания рецепторов, описанном в примере 3.

В еще одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела ингибируют контролируемую с помощью IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши активацию репортерного гена NF-κB в клетках NIH3T3 при концентрации IC₅₀, составляющей менее 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 пМ. В предпочтительном варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 7, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 8, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 9, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 10, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 11, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 12, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 14 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 15; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 23, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 24, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 25, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 27 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 28.

В другом варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 17 и легкую цепь под SEQ ID No.: 16, или тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 и легкую цепь под SEQ ID No.: 29, или тяжелую цепь и легкую цепь, которые характеризуются по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичностью с тяжелой цепью под SEQ ID No.: 17 или 30 и легкой цепью под SEQ ID No.: 16 или 29. В другом аспекте указанное антитело представлено в формате IgG1. В других вариантах осуществления указанную концентрацию IC₅₀ определяют в анализе с репортерным геном NF-κB, контролируемым с помощью IL-17C, как описано в данном документе в примере 4.

В одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела являются специфичными в отношении IL-17C человека, кодируемого аминокислотной последовательностью под SEQ ID No.: 1. В одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела являются специфичными в отношении полипептида, содержащего аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 1. В дополнительном варианте осуществления указанное моноклональное антитело или фрагмент антитела представляют собой моноклональное антитело, специфичное к полипептиду, состоящему из аминокислотной последовательности под SEQ ID No.: 1. В другом варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела являются специфичными в отношении IL-17C человека, кодируемого аминокислотной последовательностью под SEQ ID No.: 1, и представляют собой моноклональное антитело или фрагмент моноклонального антитела.

В одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела, специфичные к IL-17C, представляют собой моноклональное антитело или фрагмент моноклонального антитела.

В одном варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела, специфичные к IL-17C, представляют собой человеческое, гуманизированное или химерное антитело. В определенных вариантах осуществления указанные антитело или фрагмент антитела, специфичные к IL-17C, представляют собой выделенные антитело или фрагмент антитела. В другом варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела представляют собой рекомбинантное антитело или фрагмент рекомбинантного антитела. В дополнительном варианте осуществления указанные антитело или фрагмент антитела представляют собой рекомбинантное антитело человека или фрагмент рекомбинантного антитела человека. В дополнительном варианте осуществления указанные рекомбинантное антитело человека или фрагмент рекомбинантного антитела человека представляют собой выделенное рекомбинантное антитело человека или фрагмент выделенного рекомбинантного антитела человека. В дополнительном варианте осуществления указанные рекомбинантное антитело человека или фрагмент рекомбинантного антитела человека или выделенное рекомбинантное антитело человека или фрагмент выделенного рекомбинантного антитела человека являются моноклинальными.

В другом варианте осуществления раскрытые антитело или фрагмент антитела содержат тяжелую цепь под SEQ ID No.: 17 и легкую цепь под SEQ ID No.: 16, или тяжелую цепь под SEQ ID No.: 30 и лег-

связываются с тем же эпитопом, что и антитело или фрагмент антитела, содержащие VH в соответствии с SEQ ID No.: 30 и VL в соответствии с SEQ ID No.: 29.

Участки указанного полипептида, которые включают в себя эпитоп, можно идентифицировать с помощью широкого ряда методик картирования эпитопов, хорошо известных из уровня техники. См., например, протоколы картирования эпитопов в *Methods in Molecular Biology*, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Humana Press, Totowa, New Jersey. Например, эпитопы можно определять, например, путем одновременного синтеза больших количеств пептидов на твердых подложках, пептидов, соответствующих частям молекулы белка, и вступления в реакцию пептидов с антителами, при этом пептиды все еще связаны с подложками. Такие методики известны из уровня техники и описаны, например, в патенте США № 4708871; публикациях Geysen et al. (1984), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 8:3998-4002; Geysen et al. (1985), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:78-182; Geysen et al. (1986), *Mol. Immunol.* 23:709-715. Аналогичным образом эпитопы легко идентифицируются путем определения пространственной конформации аминокислот, например, с помощью обмена водорода/дейтерия, рентгеновской кристаллографии и двухмерно-го ядерного магнитного резонанса. См., например, *Epitope Mapping Protocols*, выше. Антигенные участки белков также можно идентифицировать с применением стандартных графиков антигенности и гидрофобности, таких как рассчитанные с использованием, например, программного обеспечения Omega версии 1.0, доступного от Oxford Molecular Group. В этой компьютерной программе используется способ Hopp/Woods, Hopp et al. (1981), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78:3824-3828 для определения профилей антигенности и методика Кайта-Дулиттла, Kyte et al. (1982), *J. Mol. Biol.* 157:105-132; для построения графиков гидрофобности.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, содержащим 6 CDR, определенных по Kabat, из любого из антител, приведенных в табл. 1. В другом аспекте настоящее изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его фрагменту, содержащим 6 CDR, определенных по Kabat, из каждого из антител, приведенных в табл. 1.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителу или фрагменту антитела, содержащим 6 CDR, определенных по Chotia, из любого из антител, приведенных в табл. 1. В другом аспекте настоящее изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его фрагменту, содержащим 6 CDR, определенных по Chotia, из каждого из антител, приведенных в табл. 1.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителам или фрагментам антител, раскрытым в табл. 1, где указанные антитела или фрагменты антител могут связываться с IL-17C с аффинностью, составляющей приблизительно менее 100 нМ, более предпочтительно приблизительно менее 60 нМ и еще более предпочтительно приблизительно менее 30 нМ. Дополнительно, предпочтительными являются антитела или фрагменты антител, которые связываются с IL-17C с аффинностью, составляющей приблизительно менее 10 нМ и более предпочтительно приблизительно менее 3 нМ.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к антителам или фрагментам антител, раскрытым в табл. 1, где указанные антитела или фрагменты антител могут связываться с IL-17C с моновалентной аффинностью, составляющей приблизительно менее 100 нМ, более предпочтительно приблизительно менее 60 нМ и еще более предпочтительно приблизительно менее 30 нМ. Дополнительно, предпочтительными являются антитела или фрагменты антител, которые связываются с IL-17C с моновалентной аффинностью, составляющей приблизительно менее 10 нМ и более предпочтительно приблизительно менее 3 нМ.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к антителам или фрагментам антител, специфичным в отношении IL-17C, где указанные антитела или фрагменты антител характеризуются моновалентной аффинностью в отношении IL-17C с константой скорости диссоциации (K_D), составляющей менее 5×10^{-2} М, менее 10^{-2} М, менее 5×10^{-3} М, менее 10^{-3} М, менее 5×10^{-4} М, менее 10^{-4} М, менее 5×10^{-5} М, менее 10^{-5} М, менее 5×10^{-6} М, менее 10^{-6} М, менее 5×10^{-7} М, менее 10^{-7} М, менее 5×10^{-8} М, менее 10^{-8} М, менее 5×10^{-9} М, менее 10^{-9} М, менее 5×10^{-10} М, менее 10^{-10} М, менее 5×10^{-11} М, менее 10^{-11} М, менее 5×10^{-12} М, менее 10^{-12} М, менее 5×10^{-13} М, менее 10^{-13} М, менее 5×10^{-14} М, менее 10^{-14} М, менее 5×10^{-15} М или менее 10^{-15} М, и где указанные антитела или фрагменты антител в бивалентном формате характеризуются аффинностью в отношении IL-17C с константой скорости диссоциации (K_D), которая по меньшей мере в 2, 5, 10, 100, 1000, 10000 и 100000 раз меньше, чем константа скорости диссоциации (K_D) в моновалентном формате. В дополнительном варианте осуществления бивалентную аффинность указанных антител или фрагментов антител определяют в формате IgG, при этом моновалентную аффинность указанных антител или фрагментов антител определяют в формате Fab.

Композиции по настоящему изобретению предпочтительно представляют собой фармацевтические композиции, содержащие антитело или фрагмент антитела, специфичные к IL-17C, раскрытые в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество для лечения воспалительного нарушения или рака. Такие носители, разбавители и вспомогательные вещества известны из уровня техники, и специалист в данной области техники найдет состав и путь введения, наиболее подходящий для лечения субъекта с помощью антител к IL-17C или фрагментов антител по на-

стоящему изобретению.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, которые содержат антитело или фрагмент антитела, специфичные в отношении IL-17C, раскрытые в данном документе, для применения в лечении нарушения или состояния, ассоциированных с нежелательным присутствием IL-17C. В другом варианте осуществления указанное состояние, ассоциированное с нежелательным присутствием IL-17C, представляет собой воспалительное нарушение или рак. В другом варианте осуществления указанное воспалительное нарушение представляет собой ревматоидный артрит, псориаз, воспаление легких, COPD и/или атопический дерматит (AD), в том числе AD со степенью тяжести от умеренной до тяжелой. В предпочтительном варианте осуществления указанное воспалительное нарушение представляет собой атопический дерматит (AD) и/или AD со степенью тяжести от умеренной до тяжелой.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, которые содержат антитело или фрагмент антитела, специфичные в отношении IL-17C, раскрытые в данном документе, для применения в лечении нарушения или состояния, ассоциированных с нежелательным присутствием IL-17C. В другом варианте осуществления указанное состояние, ассоциированное с нежелательным присутствием IL-17C, представляет собой воспалительное нарушение или рак. В другом варианте осуществления указанное воспалительное нарушение представляет собой ревматоидный артрит, псориаз, воспаление легких, COPD и/или атопический дерматит (AD), в том числе AD со степенью тяжести от умеренной до тяжелой. В предпочтительном варианте осуществления указанное воспалительное нарушение представляет собой атопический дерматит (AD) и/или AD со степенью тяжести от умеренной до тяжелой.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению указанной фармацевтической композиции для лечения нарушения или состояния, ассоциированных с нежелательным присутствием IL-17C. В другом варианте осуществления указанное состояние, ассоциированное с нежелательным присутствием IL-17C, представляет собой воспалительное нарушение или рак. В другом варианте осуществления указанное воспалительное нарушение представляет собой ревматоидный артрит, псориаз, воспаление легких, COPD и/или атопический дерматит (AD), в том числе AD со степенью тяжести от умеренной до тяжелой. В предпочтительном варианте осуществления указанное воспалительное нарушение представляет собой атопический дерматит (AD) и/или AD со степенью тяжести от умеренной до тяжелой.

В другом аспекте в данном документе представлен способ лечения атопического дерматита (AD) и/или атопического дерматита (AD) со степенью тяжести от умеренной до тяжелой у субъекта, при этом способ предусматривает введение фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество антител или фрагментов антител к IL-17C по настоящему изобретению. В одном варианте осуществления указанный субъект является устойчивым к лечению, не дает ответа или характеризуется неадекватным ответом на лечение с помощью либо кортикостероидов (TCS), либо ингибитора кальциневрина для местного применения. В другом варианте осуществления субъект представляет собой субъекта, нуждающегося в лечении. В предпочтительном варианте осуществления субъект является человеком. В альтернативных аспектах указанный субъект представляет собой грызуна, такого как крыса или мышь.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу профилактики воспалительного нарушения у субъекта, при этом указанный способ предусматривает введение антагониста IL-17C указанному субъекту. Используемый в данном контексте термин "профилактика" относится к способам, которые направлены на предупреждение проявления заболевания или которые обеспечивают задержку проявления заболевания. В некоторых вариантах осуществления субъект является человеком. В альтернативных аспектах указанный субъект представляет собой грызуна, такого как крыса или мышь.

В некоторых вариантах осуществления антитела или фрагменты антител, специфичные в отношении IL-17C, по настоящему изобретению вводят подкожно. В других аспектах антитела или фрагменты антител, специфичные в отношении IL-17C, по настоящему изобретению вводят внутривенно, внутрисуставно или интраспинально.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его фрагменту, которые содержат VH и VL из любого из антител, приведенных в табл. 1.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его фрагменту, которые содержат тяжелую цепь (IgG1) и легкую цепь из любого из антител, приведенных в табл. 1.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей последовательность тяжелой цепи и/или последовательность легкой цепи антитела, которое связывается с IL-17C, при этом нуклеиновая кислота содержит

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 58, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 59, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 60, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 64, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 65 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 66; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 61, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 62, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 63, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 64, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 65 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 66; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 33, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 34, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 35, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 39, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 40 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 41; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 36, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 37, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 38, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 39, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 40 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 41; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 46, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 47, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 48, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 52, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 53 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 54; или

участок HCDR1 под SEQ ID No.: 49, участок HCDR2 под SEQ ID No.: 50, участок HCDR3 под SEQ ID No.: 51, участок LCDR1 под SEQ ID No.: 52, участок LCDR2 под SEQ ID No.: 53 и участок LCDR3 под SEQ ID No.: 54.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей выделенное моноклональное антитело или его фрагмент, где нуклеиновая кислота содержит участок VH под SEQ ID No.: 19 и участок VL под SEQ ID No.: 18 или участок VH и участок VL, которые характеризуются по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичностью с участком VH под SEQ ID No.: 19 и/или участком VL под SEQ ID No.: 18.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей выделенное моноклональное антитело или его фрагмент, где нуклеиновая кислота содержит участок VH под SEQ ID No.: 68 и участок VL под SEQ ID No.: 67 или участок VH и участок VL, которые характеризуются по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичностью с участком VH под SEQ ID No.: 68 и/или участком VL под SEQ ID No.: 67.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей выделенное моноклональное антитело или его фрагмент, где нуклеиновая кислота содержит участок VH под SEQ ID No.: 32 и участок VL под SEQ ID No.: 31 или участок VH и участок VL, которые характеризуются по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичностью с участком VH под SEQ ID No.: 32 и/или участком VL под SEQ ID No.: 31.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей выделенное моноклональное антитело или его фрагмент, где нуклеиновая кислота содержит тяжелую цепь (IgG1) под SEQ ID No.: 45 и легкую цепь под SEQ ID No.: 44.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей выделенное моноклональное антитело или его фрагмент, где нуклеиновая кислота содержит тяжелую цепь (IgG1) под SEQ ID No.: 70 и легкую цепь под SEQ ID No.: 69.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей выделенное моноклональное антитело или его фрагмент, где нуклеиновая кислота содержит тяжелую цепь (IgG1) под SEQ ID No.: 71 и легкую цепь под SEQ ID No.: 57.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей выделенное моноклональное антитело или его фрагмент, где нуклеиновая кислота содержит VH и VL из любого из антител, приведенных в табл. 1.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей выделенное моноклональное антитело или его фрагмент, где нуклеиновая кислота содержит тяжелую цепь (IgG1) и легкую цепь из любого из антител, приведенных в табл. 1.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения выделенного моноклонального антитела или его фрагмента из любого из антител, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

Последовательности антител

Антител о №		SEQ ID No.:	[ак]/ДНК
МAB#1	HCDR1(Kabat)	SEQ ID No.:7	DYAMH
	HCDR2(Kabat)	SEQ ID No.:8	YIGGVGEGTQYAESVKG
	HCDR3(Kabat)	SEQ ID No.:9	GFAIRYYGFDY
	HCDR1 (Chothia)	SEQ ID No.:10	GFTVSDY
	HCDR2 (Chothia)	SEQ ID No.:11	GGVGEG
	HCDR3 (Chothia)	SEQ ID No.:12	GFAIRYYGFDY
	LCDR1(Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:13	SGDKLGDKYAY
	LCDR2(Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:14	QDSKRPS
	LCDR3(Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:15	QVFTFPLVTT
	VL	SEQ ID No.:16	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYW YQQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAEDEADYYCQVFTFPLVTTVFGGGT KLTVLGQ
	VH	SEQ ID No.:17	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSDYAM HWVRQAPGKGLEWWSYIGGVGEGTQYAESVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFAI RYYGFDYWGGGTLTVSS
	VL (ДНК)	SEQ ID No.:18	agctatgaactgacccagccgagcgtagcgtagccaggcca gaccgccagcattacctgtagcgcgacaaaatggcgacaaatc gcctactggtatcagcagaacccgggagagcccggtgctggtatc tatcaggatagcaaacgcccagcgccattccagaacgcttagcgg cagcaacagcggaacacccgcccctgaccattagcggaacca ggccgaagacgaagccgattattactgacgggtttcacttcccgtgg ttactactgtgttggcgccggtaccaagctgaccgtgctggccag
	VH (ДНК)	SEQ ID No.:19	gaagtgcagctgctggaagcggtggcggtctggtgcagccagggtg tagcctgcgcctgagctgtgccgaagcggtctcacagtgtccgacta cgcaatgcattgggtgcgccaagcaccaggcaaaaggcctggaatgg gtgagttacataggtggcgtgggtgaggggacacaatatgcagagag cgtgaaaggctcgtttaccattagtcgcgataacagcaaaaacacccct gtatctgcaaatgaacagcctgcgggcagaagataccgcagtttattat tgcgcgcgtggttcgcaatccgttattatggatttgatttggggccagg gcaccctgggtactgtctcgagc
	HCDR1 (Kabat)	SEQ ID No.:33	gactacgcaatgcat

	HCDR2 (Kabat)	SEQ ID No.:34	tacataggtggcgtgggtgaggggacacaatatgcagagagcgtga aaggt
	HCDR3 (Kabat)	SEQ ID No.:35	ggtttcgcaatccgttattatggatttgattat
	HCDR1 (Chothia)	SEQ ID No.:36	ggcttcacagtgtccgactac
	HCDR2 (Chothia)	SEQ ID No.:37	ggggcgtgggtgagggg
	HCDR3 (Chothia)	SEQ ID No.:38	ggtttcgcaatccgttattatggatttgattat
	LCDR1 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:39	agcggcgacaaaactggcgacaaatacgctac
	LCDR2 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:40	caggatagcaaacgcccagac
	LCDR3 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:41	caggttttcactttcccgctgttactact
	Легкая цепь	SEQ ID No.:42	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYAYW YQKPGQSPVLVIYQDSKRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAEDEADYYCQVFTFPLVTTVFGGGT KLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNK YAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKT VAPTECS
	Тяжелая цепь (IgG1)	SEQ ID No.:43	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSDYAM HWVRQAPGKGLVWVSYIGGVGEGTQYAESVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGFAI RYYGFDYWGQGLTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAAAGCLVKDYFPEPTVTSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
	Легкая цепь (ДНК)	SEQ ID No.:44	agctatgaactgaccagccgagcggttagcgtagccaggcca gaccgccagcattacctgtagcggcgacaaactggcgacaaatac gcctactggtatcagcagaacccgggagcagccggtgctggtatc tatcaggatagcaaacgcccagcggcattccagaacgcttagcgg cagcaacagcggcaacaccgcccaccctgaccattagcggcaccga ggccgaagacgaagccgattattactgcccaggtttcactttccgctgg ttactactgtgttgccggcggtaccaagctgaccgtgctggccagcc caaagccgcccctagcgtgacctgtttccccaagcagcgaggaa ctccaggccaacaaggccaccctcgtgtgctgtagcagcactctac cctggcgccgtgaccgtggcctggaaggcgatagcagccctgtgaa ggccggcggtggaaaccaccaccccagcaagcagagcaacaaca aatacggccagcagctacctgagcctgacccccgagcagtgga gtccacagatcctacagctgccaggtcacacagagggcagcacc gtggaaaagaccgtggccccaccgagtgacgc

	Тяжелая цепь (IgG1, ДНК)	SEQ ID No.:45	gaagtgcagctgctggaagcggtggcggtctggtgcagccaggtgg tagcctgcgcctgagctgtgccgaagcggtctcacagtgtccgacta cgcaatgcattgggtgcgccaagcaccaggcaaggcctggaatgg gtgagttacataggtggcggtgggtgaggggacacaatatgcagagag cgtgaaaggtcgtttaccattagtcgcgataacagcaaaaacacccct gtatctgcaaatgaacagcctgcgggcagaagataccgcagtttattat tgcgcgcgtggttcgcaatccgttattatggatttgatttggggccagg gcacccctggtactgtctcgagcgcgtcgaccaaaggcccagcgtgt tcctctggccccagcagcaagagcacctctggcggaaacagccgc cctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagccgtgaccgtgtcc tggaactctggcgcctgaccagcggcgtgcacacctttcagccgtg ctccagagcagcggcctgtacagcctgagcagcgtctgtaccgtgcc cagcagcagcctgggcacccagacctaactctgcaacgtgaaccac aagcccagcaacacaagggtggacaagcgggtggaacccaagag ctgcgacaagaccacacctgtccccctgcccctgaaactgtct gggaggccctcgtgttctgttcccccaaggcctaaggacacccct gatgatcagccggacccccgaagtgcctgctggtggtggacgtgt cccacgaggaccctgaagtgaagttaattgtacgtggacggcgtgg aagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaac agcacctaccgggtggtgtccgtgtgacccgtgtgcaccaggactgg ctgaacggcacaagagtacaagtgaagggttccaacaaggccctgc ctgccccctcagagaaaaccatcagcaaggccaaaggccagcccc gcgagccccagggtgtacacactgccccctagcgggaagagatgac caagaaccagggtgtccctgacctgctcgtgaagggtcttccccag cgacattgcctggaatgggagagcaacggccagcccagagaacaa ctacaagaccacccccctgtgtggacagcagcgtctattctctgt tacagcaagctgacctggacaagagcgggtggcagcagggaac gtgttcagctgctcctgtatgcagaggccctgcacaaccactacacc cagaagtcctgagcctgagccccggcaag
	ДНК (оптимизированная)		
	HCDR1 (Kabat)	SEQ ID No.:58	gactacgctatgcac
	HCDR2 (Kabat)	SEQ ID No.:59	tatatggcggcggtggcgagggcaccagtagcgtgagtctgtgaa gggc
	HCDR3 (Kabat)	SEQ ID No.:60	ggcttcgccatccggtactacggcttcgactac
	HCDR1 (Chothia)	SEQ ID No.:61	ggcttcaccgtgtccgactac
	HCDR2 (Chothia)	SEQ ID No.:62	ggcggcgtggcgagggc
	HCDR3 (Chothia)	SEQ ID No.:63	ggcttcgccatccggtactacggcttcgactac
	LCDR1 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:64	tcggcgacaagctgggcgataagtacgcctac
	LCDR2 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:65	caggactccaagcgccctcc
	LCDR3 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:66	cagggtgtcacctccccctggtcaccacc
	VL (ДНК)	SEQ ID No.:67	tcctacgagctgaccagccccctcgtgtcgtgtctcctggccaga ccgcctcatcacctgttcggcgacaagctgggcgataagtaagcct actggtatcagcagaagcccgccagtcctccgtgtggtcatctacc aggactccaagcgccctcggcatccctgagcgggtctcgggtcca actccggcaacacggccaccctgacctctcggcaccagggccga ggacgaggccgactactactgcccaggtgttcacctccccctggtcacc accgtgttcggcgaggcaccagctgaccgtgtcgggccag

VH (ДНК)	SEQ ID No.:68	gagggtgcagctgctggaatccggcggaggactgggtcagcctggcg gctccctgagactgtcttgcgcgcctccggcttcacccgtgtccgactac gctatgcactgggtccgacagggcccttggaagggcctggaatgggt gtctatatcggcggcggtggcgaggccaccagtagctgagctgtgt gaagggccgggttcacccatctccgggacaactccaagaacacccctgt acctgcagatgaactccctgcggcggaggacaccccggtgtactac tgtgccagaggcttcgcatccggtactacggcttcgactactggggcc agggcaccctgggtaccgtgtctagc
Легкая цепь (ДНК)	SEQ ID No.:69	tcctacgagctgacccagccccctccgtgtcctgtctcctggccaga ccgcctccatcacctgttcggcgacaagctgggcgataagtagcgcct actggtatcagcagaagcccgccagtcctcccggtgtgtcatctacc aggactccaagcggccctccggcatccctgagcgggtctccggctcca actccggcaacaccccccacccctgacccatctccggcaccaggccga ggacgaggccgactactactgacagggtgtcaccttccccctggtcacc accgtgttcggcggaggcaccgaagctgacccgtgtggccagccta ggccgctccctccgtgacccctgttcccccatcctccgaggaactgca ggccaacaaggccacccctgggtgtcctgactcctcagacttctacccctggc gccgtgacctggcctggaaggccgacagctctcctgtgaaggccgg cgtggaaccaccacccctccaagcagtcacaacaataacgccc gcctcctcctacctgtccctgacccccgagcagtggaagtcccaccgg tcctacagctgccaggtcacacacgagggctccaccgtggaaaaga ccgtggccccctaccgagtgctcc
Тяжелая цепь (IgG1, ДНК)	SEQ ID No.:70	gagggtgcagctgctggaatccggcggaggactgggtcagcctggcg gctccctgagactgtcttgcgcgcctccggcttcacccgtgtccgactac gctatgcactgggtccgacagggcccttggaagggcctggaatgggt gtctatatcggcggcggtggcgaggccaccagtagctgagctgtgt gaagggccgggttcacccatctccgggacaactccaagaacacccctgt acctgcagatgaactccctgcggcggaggacaccccggtgtactac tgtgccagaggcttcgcatccggtactacggcttcgactactggggcc agggcaccctgtgacccgtgtctagcgctccaccaaggcccccctcc gtgttcccttggtccccctccagcaagtcaccccttggtggcaccgctg ccctgggtgctcgtgtcaaggactacttccccgagcccgtagccgtgtc ctggaaactctggcgcctgacccctccggcgtgcacaccttccctgcccgtg ctgcagtcctccggcctgtactccctgtcctccgtgtgacgtgcccctcc agctctctgggcaccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcc ctccaacaccaagggtgacaagcgggtggaaccaagtctctgagac aagaccacacctgtccccctgcccctgaaactgctgggcgg accttccgtgttctgttcccccaagcccaaggacacccctgatgtct cccggaaccccgaaagtacccgtggtgtgggtgacgtgtcccacgag gaccttgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcac aacgccaagaccaagcccagagaggaaacagtaactccacctac cgggtggtgtccgtgctgacccgtgctgcaccaggactggctgaacggc aaagagtacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgctgcccccat cgaaaagaccatctccaaggccaaggccagccccgagagcccca gggttacacactgccccctagccgggaagagatgaccaagaaccag gtgtccctgacctgtctgtcaagggtcttaccctccgacattgcccgt ggaatgggagtcacaacggccagccgagaacaactacaagaccac ccccctgtgtgactcgaacggctcatttctctgtactccaagctga ccgtggacaagtcgggtggcagcagggaacagtggttctcctgtccg tgatgcagaggccctgcacaaccactacaccagaagtcctgtcc ctgagccccggcaag

MAB#2	HCDR1 (Kabat)	SEQ ID No.:20	SDHYIS
	HCDR2 (Kabat)	SEQ ID No.:21	YISSSGSTTYAESVKG
	HCDR3 (Kabat)	SEQ ID No.:22	QSYFLPYFDV
	HCDR1 (Chothia)	SEQ ID No.:23	GFTFSDH
	HCDR2 (Chothia)	SEQ ID No.:24	SSSGST
	HCDR3 (Chothia)	SEQ ID No.:25	QSYFLPYFDV
	LCDR1 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:26	TGTSSDVGSYNLVS
	LCDR2 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:27	EGSKRPS
	LCDR3 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:28	ASRGSRRVLYV
	VL	SEQ ID No.:29	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLV SWYQQHPGKAPKLMIEGSKRPSGVSNRFSGSK SGNTASLTISGLQAEDEADYYCASRGSRRVLYVFG GGTKLTVLGQ
	VH	SEQ ID No.:30	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDHYI SWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTTYAESVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQSYF LPYFDVWGQGTLLTVSS
	VL (ДНК)	SEQ ID No.:31	cagagcgccctgaccagccagcagcgtagcggtagccaggcc agagcattaccattagctgcaccggcaccagcagcgagctggcag ctataacctggttagctggtatcagcagcatccggcgaagccccgaa actgatgatctatgaaggcagcaaacgcccagcggttagcaac cgcttttagtggcagcaaaagcggcaacaccgcccagcctgaccattag cggcctgcaagccgaagcgaagcggattattactgcgcaagtcgg ggaagccgtcgtgctgtatgttttggcggcggtaccaagctgaccgt gctgggccag
	VH (ДНК)	SEQ ID No.:32	caggtgcagctggtggaagcggcggtggcctggtgaaaccaggcg gtagcctgcgcctgagctgcgcgcagcggcctttaccttagcgatca ttacattagctggattcgccaggccccaggcaaaaggcctggaatgggt tagctatattagcagcagtggtgagcaccacctattacgcccagagcgt gaaaggccgctttaccattagccgcgataacgcaaaaaacgcctgt atctgcaaatgaacagcctgcgggcccgaagataccgcccgtgtattatt gcgcgcgacaatcctactatttctgccttatttcgacgtttggggccagg gcaccctggttactgtctcgagc
	HCDR1 (Kabat)	SEQ ID No.:46	agcgatcattacattagc
	HCDR2 (Kabat)	SEQ ID No.:47	tatattagcagcagtggtgagcaccacctattacgcccagagcgtgaa aggc
	HCDR3 (Kabat)	SEQ ID No.:48	caatcctactatttctgccttatttcgacgtt
	HCDR1 (Chothia)	SEQ ID No.:49	ggctttaccttagcgatcat
	HCDR2 (Chothia)	SEQ ID No.:50	agcagcagtggtgagcacc
	HCDR3 (Chothia)	SEQ ID No.:51	caatcctactatttctgccttatttcgacgtt
	LCDR1 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:52	accggcaccagcagcgagctgggcagctataacctggttagc

	LCDR2 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:53	gaaggcagcaaacgcccagc
	LCDR3 (Kabat и Chothia)	SEQ ID No.:54	gcaagtcggggaagccgtcgtgtgtatgtt
	Легкая цепь	SEQ ID No.:55	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLV SWYQQHPGKAPKLMIEGSKRPSGVSNRFSGSK SGNTASLTISGLQAEDEADYYCASRGSRRLVYVFG GGTKLTVLGGPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS NNKYAAGSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTV EKTVAPECS
	Тяжелая цепь (IgG1)	SEQ ID No.:56	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDHYI SWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTTYAESVKGRF TISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQSYF LPYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVYDVSHDEPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSL SPGK
	Легкая цепь (ДНК)	SEQ ID No.:57	cagagcgccctgaccagccagccagcgttagcggtagccagcc agagcattaccattagctgcacggcaccagcagcagcgtggcag ctataacctggtagctggtatcagcagcatccggcacaagcccgaa actgatgatctatgaaggcagcaaacgcccagcgcgttagcaac cgcttagtgccagcaaaagcggcaaacccgagcgtgaccattag cggcctgcaagccgaagcgaagcgcgattattactgcgaagtcgg ggaagccgtcgtgctgtatgttttggcggcgtaccagcgtgaccgt gctgggcccagcccaagcgcgcctagcgtgaccctgttccccc gcagcaggaactccagcccaacaaggccacctcgtgctgctgat cagcgaacttctaccctggcgcgtgaccgtggcctggaaggccgata gcagccctgtgaaggccggtggaaccaccacccagcgaagc agagcaacaacaatacgcgcgcagcagcactcgtgacgtgacc ccgagcagtggaagtcacacagatcctacagctgcaggtcacaca cgagggcagcaccgtggaagaccgtggccccaccagtgacg c
	Тяжелая цепь (ДНК, IgG1)	SEQ ID No.:71	caggtgcagctggtggaagcggcggcctggtgaaaccaggcg gtagcctgcgcctgagctgcgcgcagcggccttacccttagcgtatca ttacattagctgattgccagggccccaggcacaaggcctggaatgggt tagctatattagcagcagtggcagcaccacctattacgcgagagcgt gaaaggccgcttaccattagcgcgataaacgcaaaaacagcctgt atctgcaaatgaacagcctgcgggcgaagataccgcgctgtattatt gcgcgcgacaatcctactatttctgccttattcgacgtttggggccagg gcacctggttactgtctgcagcgcgtgcaccaaggccccagcgtgt tccctctggccccagcagcaagagcacctctggcggaacagccgc cctgggctgcctggtcaaggactacttcccagcgcctgaccgtgtcc tggaactctggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttccagcgtg ctccagagcagcggcctgtacagcctgagcagcgtcgtgaccgtgcc cagcagcagcctgggcaccagacctaactctgcaacgtgaaccac aagccagcaacacaaggtggacaagcgggtggaacccaagag ctgcgacaagaccacacctgtccccctgtccctgcccctgaactgt gggaggccctcctgttctgttcccccaaggcctaaggacacct gatgatcagcgggaccccgaaagtgacctgcgtggtggtggaactgt cccaagcagcctgaagtgaagttaattggtacgtggacggcgtgg aagtgcaacgccaagaccaagccagagaggaacagtacaac agcacctaccgggtggtgtccgtgtgacgtgtctgaccaggactgg ctgaacggcacaagagtacaagtcaaggtgtccaacaaggccctgc ctgccccatcgagaaaaccatcagcaaggccaaaggccagcccc gcgagccccaggtgtacacactgccccctagccgggaagagatgac caagaaccaggtgtccctgacctgcctgtgaagggtcttaccacag cgacattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaaca ctacaagaccacccccctgtgtggacagcagcggtcatttctctg tacagcaagctgacctggacaagagcgggtggcagcagggaac gtgttcagctgtccgtgtgacagcggccctgcacaaccactacac cagaagtccctgagcctgagccccggcaag

Демонстрационные примеры

Список сокращений:

ANOVA	дисперсионный анализ
BSA	бычий сывороточный альбумин
BW	вес тела
CDR	участок, определяющий комплементарность
DLS	динамическое рассеяние света
DMEM	среда Игла, модифицированная Дульбекко
EC ₅₀	50% эффективная концентрация

ECD	внеклеточный домен
ECL	электрохемилюминесценция
ELISA	твердофазный иммуноферментный анализ
EtOH	этанол
Fab	антигенсвязывающий фрагмент
FBS	сыворотка эмбриона телят
Fc	константный фрагмент
HPLC	высокоэффективная жидкостная хроматография
i.p.	внутрибрюшинный(внутрибрюшинно)
i.v.	внутривенный(внутривенно)
IC ₅₀	50% ингибирующая концентрация
IFN- γ	интерферон-гамма
Ig	иммуноглобулин
IHC	иммуногистохимия
IL-17R	рецептор интерлейкина 17
IL-xx	интерлейкин xx
K _D	константа диссоциации
MC903	кальципотриол
MPEK	первичные кератиноциты мыши
mPHK	матричная рибонуклеиновая кислота
NF- κ B	ядерный фактор каппа В
p.o.	per os, пероральный(перорально)
PBS	фосфатно-буферный солевой раствор
qPCR	количественная полимеразная цепная реакция
qRT-PCR	количественная полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
SEM	стандартная ошибка среднего
Th2	хелперные Т-клетки типа 2

Пример 1. Получение антигена, Fab-фрагментов и антител.

1.1. Получение антигена и контроль качества.

Выравнивали аминокислотные последовательности IL-17C человека, макака-крабоеда и мыши.

Без учета лидерной последовательности все три вида характеризовались 79% гомологией.

	Человек	Макак-крабоед	Мышь
Человек	100%	95%	79%
Макак-крабоед		100%	79%
Мышь			100%

IL-17C от разных видов приобретали у разных поставщиков или получали в собственной лаборатории и при необходимости солибилизировали. На 100 мкг белка добавляли 4 мкл биотинилирующего реагента для биотинилирования модуля ECL™ и инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре в темноте с осторожным перемешиванием. Далее биотинилированный белок очищали с использованием центрифужных колонок для обессоливания Zeba™ и определяли OD при 280 нм.

Антигены подвергали биотинилированию с использованием модуля для биотинилирования ECL™ (GE Healthcare; #1061918). После биотинилирования продукт очищали с применением центрифужных колонок для обессоливания Zeba™ (Pierce; #89889).

Биотинилированный и небиотинилированный IL-17C мыши, яванского макака и человека подвергали контролю качества, который включал анализы в денатурирующих восстанавливающих и денатурирующих невосстанавливающих условиях с помощью SDS-PAGE и в нативном состоянии с применением эксклюзионной хроматографии высокого давления (HP-SEC) и метода динамического рассеяния света (DLS).

HP-SEC осуществляли на HPLC-системе UltiMate 3000 Titanium от Dionex (Dionex Corporation, Гермеринг, Германия) в сочетании с miniDAWN Treos от Wyatt и Optilab rEX от Wyatt (Wyatt Technology Europe, Дербан, Германия). Для разделения использовали колонку TSK-Gel G3000SWxl от Tosoh (Tosoh Bioscience, Штутгарт, Германия). В случае каждого образца в колонку загружали 15 мкг белка, разделе-

ние осуществляли при скорости потока 0,5 мл/мин и результаты разделения регистрировали по УФ-поглощению при 280 нм. Буфер для разделения состоял из 49 мМ NaH_2PO_4 , 51 мМ Na_2HPO_4 , 100 мМ K_2SO_4 , 0,0005% Tween-80 при pH 6,8.

Все эксперименты с DLS осуществляли с применением системы DynaPro Titan на основе кювет (Wyatt Technology Europe, Дернабах, Германия) с концентрациями белка от 0,2 до 1,0 мг/мл. В случае осаждения или образования частиц перед экспериментом образец центрифугировали при 10000×g в течение 5 мин.

Внеклеточный домен (ECD) рецептора E IL-17 мыши (UniProt Q8BN06, изоформа 1) и рецептор E IL-17 человека (UniProt Q8NFR9) клонировали в вектор экспрессии pMAX_vk_Fc2_His с применением KpnI и EcoRV с получением в результате слитых конструкций с C-концевым Fc2_H. Помимо содержащей природную лидерную последовательность (AG00158) получали вторую конструкцию с V_k-лидерной последовательностью (AG00159).

Обе конструкции были транзистентно экспрессированы в клетках HKB11. Через три дня после трансфекции суспензию клеток увеличивали в масштабе и супернатант культуры клеток собирали через 6 дней после трансфекции. После стерилизации с помощью фильтрации растворов подвергали аффинной хроматографии с использованием белка А. Осуществляли замену буфера на PBS и образцы подвергали стерилизации с помощью фильтрации (размер пор 0,2 мкм). Концентрации белка определяли с помощью УФ-спектрофотометрии. Чистоту продуктов анализировали в денатурирующих восстанавливающих и денатурирующих невосстанавливающих условиях с помощью SDS-PAGE и в нативном состоянии с применением HP-SEC и метода DLS.

1.2. Пэннинг и получение Fab/антитела.

Для получения антител использовали библиотеку MorphoSys Ylanthia® для отбора Fab-фрагментов к IL-17C человека. Библиотека MorphoSys Ylanthia® (Tiller et al., mAbs 5:3, 1-26; May/June (2013) и патент США № 8728981) представляет собой коммерчески доступную фагмидную библиотеку, и для нее используется технология CysDisplay® для представления Fab на поверхности фагов (Lohning et al., WO 2001/05950).

Для выявления специфичных к IL-17C антител применяли различные стратегии пэннинга. Каждая стратегия пэннинга включала по меньшей мере три отдельных цикла пэннинга в отношении соответствующих антигенов, в том числе IL-17C человека (SEQ ID No.: 1) и мыши IL-17C.

Идентифицированным выделенным клоном позволяли созреть, подвергали перестройке и/или создавали зародышевую линию с целью повышения аффинности и/или функциональности. Затем несколько сотен клонов подвергали скринингу и тщательно тестировали в анализах *in vitro* на предмет функциональности, предусматривающих, например, оценку связывания с IL-17C человека, макака-крабоеда и мыши с помощью SET, ингибирование связывания IL-17C человека, макака-крабоеда и мыши с его соответствующим IL-17RE и функциональное ингибирование IL-17C (анализ IL-17RE-контролируемой активации репортерного гена NF-κB в мышинных клетках NIH3T3 и опосредованная IL-17C экспрессия CSF3 в первичных кератиноцитах мыши (МРЕК)).

И наконец, отбирали две предпочтительные лидерные молекулы (MAB#1 и MAB#2) и их дополнительно описывали в демонстрационных примерах, как изложено ниже.

Пример 2. Определение аффинности в формате моновалентного Fab и бивалентного IgG.

С помощью SET определяли аффинность моновалентного Fab и бивалентного IgG. Следовательно, очищенные Fab титровали в отношении IL-17C человека, макака-крабоеда или мыши для определения KD. Соответственно очищенные IgG титровали в отношении IL-17C человека, макака-крабоеда или мыши для определения EC₅₀.

Равновесное титрование раствора (SET) в основном осуществляли, как описано в литературе (Friquet et al. (1985), J. Immunol. Meth. 77:305-19). Для повышения чувствительности и точности способа SET его переводили из формата классической ELISA в технологию на основе ECL (Haenel et al. (2005), Anal. Biochem. 339.1:182-84).

Соответствующие результаты для MAB#1 и MAB#2 показаны в табл. 2 и 3 соответственно.

Пример 3. Определение характеристик Fab или IgG, специфичных к IL-17C, в отношении активности ингибирования рецептора.

Очищенные Fab или IgG, специфичные к IL-17C, соответственно тестировали в отношении их способности ингибировать связывание IL-17C с его специфическим рецептором IL-17RE. Для этого 384-луночные планшеты MA6000 (Meso Scale Discovery, MSD) покрывали 30 мкл химерного белка IL17RE/FC мыши при 75 нг/мл в PBS при 4°C в течение ночи. На следующий день антитело в серийном разведении (концентрации от 0,001 до 100 нМ) предварительно инкубировали в течение 30 мин при к.т. с равным объемом биотинилированного IL-17C человека/макака-крабоеда или мыши для определения концентрации IC₅₀ для ингибирования связывания рецептора. После блокирования планшетов в течение 1 ч с помощью 2,5% BSA в PBST ранее образованные комплексы антитело-лиганд добавляли на 1 ч в лунки, покрытые IL17RE/FC, и выявляли связывание с рецептором с помощью системы стрептавидин-ECL с применением MSD Sector Imager.

Оба антитела (MAB#1 и MAB#2) в равной степени ингибировали взаимодействие IL-17C человека/макака-крабоеда или мыши с IL-17RE в формате Fab и в формате IgG. Концентрации IC₅₀ в двухзначном пМ-диапазоне получали для обоих антител в формате IgG среди всех трех клинических значимых видов. Результаты показаны в строках 3 и 4 в табл. 2 и 3 соответственно.

Пример 4. Функциональное тестирование в анализе с контролируемым IL-17C репортерным геном NF-κB.

Очищенные IgG, специфичные к IL-17C, дополнительно тестировали в отношении их способности ингибировать биологическую активность IL-17C человека, мыши и макака-крабоеда в функциональном клеточном анализе, в котором отслеживают контролируемую IL-17C активацию репортерного гена NF-κB в клетках NIH3T3, сверхэкспрессирующих IL-17RE мыши.

Клетки NIH3T3 культивировали в DMEM, дополненной 10% FBS и 1% Pen/Strep при 37°C, 5% CO₂. Для анализа клетки NIH3T3 трансфицировали в суспензии с помощью ДНК в общем количестве 100 нг (20 нг конструкции для экспрессии IL-17RE мыши, 50 нг репортерной конструкции NF-κB-люцифераза и 30 нг pBluescript) с использованием средства для трансфекции Polyplus jet-PEI. Вкратце, ДНК разбавляли в 5 мкл 150 mM NaCl (на лунку) и готовили 0,2 мкл jet-PEI в 8 мкл 150 mM NaCl (на лунку). Через 5 мин инкубирования при комнатной температуре к раствору ДНК добавляли раствор JetPEI® и дополнительно инкубировали в течение 20-30 мин при комнатной температуре. Клетки NIH3T3 разбавляли с получением ~40000 клеток в 87 мкл среды. Клетки добавляли к смеси ДНК-JetPEI I® (87 мкл клеток и 13 мкл смеси ДНК-JetPEI I®/лунка) и конечный объем переносили в 96-луночные планшеты.

После инкубирования в течение ночи при 37°C в инкубаторе с увлажнением и 5% CO₂ среду удаляли и заменяли jetPEI® 90 мкл среды, содержащей 5% FBS и 1% Pen/Strep. К клеткам добавляли 10 мкл антител в серийном разведении, выполненном в DPBS, которые предварительно инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре с равным объемом очищенного рекомбинантного IL-17C (или IL-17C человека (Novus #NBP1-42910), или mIL-17C мыши (R&D Systems #2306-ml-025), или IL-17C макака-крабоеда (полученного в собственной лаборатории)). Конечная концентрация IL-17C составляла 0,5 нг/мл.

После инкубирования планшетов при 37°C в CO₂-инкубаторе добавляли 100 мкл SteadyLite Plus (Perkin Elmer), после чего считывали люминесценцию на Envision (Perkin Elmer).

Оба антитела эффективно снижали активацию репортерного гена NF-κB, опосредованную IL-17RE, в присутствии IL-17C человека, мыши и макака-крабоеда. Соответствующие результаты можно найти в строке 5 табл. 2 и 3 соответственно.

Пример 5. Контролируемая IL-17C экспрессия генов в первичных кератиноцитах человека.

В кератиноцитах эндогенно экспрессируются рецепторы IL-17RE и IL-17RA, каждый из которых необходим для функциональной передачи сигнала IL-17C. Первичные кератиноциты человека, полученные от здоровых индивидуумов, и первичные кератиноциты мышей, полученные от мышей C57BL/6, таким образом, использовали для определения способности IgG1 MAB#1 и IgG1 MAB#2 подавлять биологическую активность соответственно IL-17C человека и мыши в более физиологическом контексте.

NHEK (нормальные эпидермальные кератиноциты человека) получали от Lonza и культивировали в среде для выращивания кератиноцитов с добавками (набор KGM-Gold™ Bullet, Lonza) согласно протоколу производителя. NHEK, которые субкультивировали до 3 пассажа и замораживали, размораживали и сразу же высевали на среду для культивирования клеток KGM при 30000 клеток/лунку в 96-луночный планшет для культивирования клеток. Через 2 дня среду удаляли и заменяли на KGM-Gold без гидрокортизона перед добавлением ML-17C (Novus #NBP1-42910) и hTNFα (Peprotech #300-01A) до конечных концентраций 10 нг/мл каждого.

Для тестирования антител IL-17C человека сперва предварительно инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре с равным объемом серийного разведения антитела, выполненного в DPBS. Проводили стимуляцию клеток с использованием рекомбинантного IL-17C (предварительно инкубированного с разведением или без разведения антитела) в присутствии TNFα. Известно, что одновременная стимуляция с использованием IL-17C и TNFα приводит в результате к синергической индукции разных генов, и было показано, что она является необходимой, поскольку в отдельности IL-17C оказывает ограниченный эффект на экспрессию исследуемых генов.

Клетки культивировали в течение 48 ч, а затем общую РНК экстрагировали с использованием набора RNeasy 96 Kit (Qiagen), подвергали обратной транскрипции с использованием реагентов для обратной транскрипции Taqman® (Applied Biosystems) и определяли экспрессию генов бета-дефензина 2 DEFB4A (человека) или CSF3 (мыши) с помощью количественной полимеразной цепной реакции (qPCR). Вкратце, готовили 10 мкл реакционных смесей с применением универсального мастер-микса/No AmpErase® UNG Taqman® для ПЦР и предварительно сконструированных наборов праймеров/зондов по заказу для анализа экспрессии генов DEFB4B или CSF3 (#Hs00823638_m1, все от Applied Biosystems). Осуществляли qPCR на приборе для ПЦР в режиме реального времени VNA7™ (Applied Biosystems). Экспрессию гена нормализовали относительно гена "домашнего хозяйства" либо β-актина (набор праймеров Taqman #4310881E), либо GAPDH (набор праймеров Taqman #4310893E).

Было показано, что оба антитела (MAB#1 и MAB#2) эффективно снижают экспрессию гена 2 DEFB4A (человека) или CSF3 (мыши) соответственно и подтверждают свою способность к нейтрализации биологической активности IL-17C человека, а также IL-17C мыши (табл. 2 и 3).

Обзор определения *in vitro* функциональных характеристик.

Соответствующие результаты, полученные при тестировании *in vitro*, сведены в табл. 2 для MAB#1 и в табл. 3 для MAB#2. Аминокислотные последовательности и последовательности нуклеиновых кислот переменных участков и CDR этих двух родительских антител показаны в табл. 1. Оба антитела удовлетворяли соответствующим критериям и считались перспективными молекулами в плане клинической разработки.

Таблица 2
Сводные данные определения характеристик MAB#1 *in vitro*

MAB#1	IL-17C человека	IL-17C мыши	IL-17C макака-крабоеда
Моновалентная аффинность (Fab), определенная с помощью SET	$K_D = 3950 \pm 50$ нМ (n=2)	$K_D = 28000 \pm 4000$ нМ (n=2)	$K_D = 22000 \pm 100$ нМ (n=2)
Кажущаяся аффинность (IgG), определенная с помощью SET	$EC_{50} = 19 \pm 6,9$ нМ (n=3)	$EC_{50} = 387 \pm 63$ нМ (n=3)	$EC_{50} = 257 \pm 59$ нМ
Анализ ингибирования рецепторов – формат Fab	$IC_{50} = 2900$ нМ	$IC_{50} = 6000$ нМ	$IC_{50} = 2700$ нМ
Анализ ингибирования рецепторов – формат IgG	$IC_{50} = 59$ нМ	$IC_{50} = 55$ нМ	$IC_{50} = 44$ нМ
Анализ с использованием репортерного гена NF-κB	$IC_{50} = 31,3 \pm 12,1$ нМ (n=3)	$IC_{50} = 47,6 \pm 9,4$ нМ (n=3)	$IC_{50} = 12,8 \pm 1,9$ нМ (n=3)
Анализ с использованием кератиноцитов	$IC_{50} = 319,2 \pm 86,3$ нМ (n=3)	$IC_{50} = 112,1 \pm 26,7$ нМ (n=3)	Не определено

Таблица 3
Сводные данные определения характеристик MAB#2 *in vitro*

MAB#2	IL-17C человека	IL-17C мыши	IL-17C макака-крабоеда
Моновалентная аффинность (Fab), определенная с помощью SET	$K_D = 37 \pm 17$ нМ (n=2)	$K_D = 460 \pm 90$ нМ (n=2)	$K_D = 63 \pm 20$ нМ (n=2)
Кажущаяся аффинность (IgG), определенная с помощью SET	$EC_{50} = 16 \pm 4$ нМ (n=3)	$EC_{50} = 323 \pm 12$ нМ (n=3)	Не тестировали
Анализ ингибирования рецепторов – формат Fab	$IC_{50} = 76$ нМ	$IC_{50} = 150$ нМ	$IC_{50} = 50$ нМ
Анализ ингибирования рецепторов – формат IgG	$IC_{50} = 58$ нМ	$IC_{50} = 48$ нМ	$IC_{50} = 57$ нМ
Анализ с использованием репортерного гена NF-κB	$IC_{50} = 18,5 \pm 2,2$ нМ (n=3)	$IC_{50} = 64,8 \pm 8,6$ нМ (n=3)	$IC_{50} = 12,9 \pm 4,5$ нМ (n=3)
Анализ с использованием кератиноцитов	$IC_{50} = 279,9 \pm 161,7$ нМ (n=3)	$IC_{50} = 51,0 \pm 9,0$ нМ (n=3)	Не определено

Пример 6. Анализ перекрестной конкуренции на основе ELISA.

Перекрестную конкуренцию антитела к IL-17C или другого средства, связывающего IL-17C, можно выявить с применением анализа ELISA в соответствии со следующей стандартной процедурой.

Общий принцип анализа ELISA включает покрытие антителом к IL-17C (таким как MAB#1 или MAB#2) лунок планшета для ELISA. Затем в раствор добавляли избыточное количество второго, потенциально перекрестно конкурирующего антитела к IL-17C (т.е. не связанного с планшетом для ELISA). Далее в лунки затем добавляли ограниченное количество IL-17C-FC.

Антитело, которым покрыты лунки, и антитело в растворе будут конкурировать за связывание с ограниченным количеством молекул IL-17C. Затем планшет промывали для удаления молекул IL-17C, которые не связались с покрывающим антителом, а также с целью удаления второго антитела в фазе раствора, а также любых комплексов, образовавшихся между вторым антителом в фазе раствора и IL-17C. Количество связанного IL-17C затем измеряли с использованием соответствующего реагента для выявления IL-17C. Для этого IL-17C может быть слит с меткой, например Fc, Flag и им подобными, которую

можно выявить с помощью соответствующего средства, специфичного для метки.

Антитело в растворе, которое перекрестно конкурирует с покрывающим антителом, будет способно вызвать снижение количества молекул IL-17C, которые может связать покрывающее антитело, по сравнению с количеством молекул IL-17C, которое покрывающее антитело может связать при отсутствии второго антитела в фазе раствора.

Этот анализ более подробно описан ниже для двух антител, обозначенных Ab-X и Ab-Y. В том случае, если Ab-X выбрано в качестве иммобилизованного антитела, им покрывали лунки планшета для ELISA, после чего планшеты блокировали подходящим блокирующим раствором для сведения к минимуму неспецифического связывания добавляемых в дальнейшем реагентов. Затем в планшеты для ELISA добавляли избыточное количество Ab-Y так, что концентрация в молях Ab-Y с участками связывания IL-17C на лунку по меньшей мере в 10 раз превышала концентрацию в молях Ab-X с участками связывания IL-17C на лунку при покрытии планшета для ELISA. IL-17C добавляли таким образом, что концентрация добавляемого в молях IL-17C на лунку была по меньшей мере в 25 раз меньше, чем концентрация в молях Ab-X с участками связывания IL-17C, применяемого для покрытия каждой лунки. По истечении подходящего периода инкубирования планшет для ELISA промывали и добавляли реагент для выявления, специфичный к антигену IL-17C, с целью измерения количества молекул IL-17C, специфически связанных покрывающим антителом к IL-17C (в данном случае Ab-X). Фоновый сигнал для анализа определяли как сигнал, полученный в лунках с покрывающим антителом (в данном случае Ab-X), со вторым антителом в фазе раствора (в данном случае Ab-Y), только буфером (т.е. без IL-17C) и реагентами для выявления. Сигнал положительного контроля для анализа определяли как сигнал, полученный в лунках с покрывающим антителом (в данном случае Ab-X), со вторым антителом в фазе раствора, только буфером (т.е. без второго антитела в фазе раствора), реагентами для выявления IL-17C. ELISA-анализ должен выполняться таким образом, чтобы сигнал положительного контроля по меньшей мере в 6 раз превышал фоновый сигнал.

Во избежание каких-либо артефактов (например, существенно отличающихся между Ab-X и Ab-Y аффинностей в отношении IL-17C), в результате выбора того, какое антитело будет использоваться в качестве покрывающего антитела, а которое будет использоваться в качестве второго (конкурентного) антитела, анализ перекрестного блокирования должен выполняться в двух форматах: 1) формат 1 представляет собой вариант, в котором Ab-X является антителом, которым покрывают планшет для ELISA, а Ab-Y является конкурентным антителом, которое находится в растворе, и 2) формат 2 представляет собой вариант, когда Ab-Y является антителом, которым покрывают планшет для ELISA, а Ab-X является конкурентным антителом, которое находится в растворе.

Пример 7. Индуцированная с помощью IL-23 модель псориаза у мышей.

Для оценки эффективности *in vivo* и терапевтического потенциала оба кандидатных антитела дополнительно оценивали на моделях псориаза у мышей, индуцированного IL-23.

Модель псориаза, индуцированного с помощью IL-23, у мышей, по сути реализована, как описано в Rizzo H. et al., *J. Immunol.* (2011), Vol. 186(3), p. 1495-1502.

Вкратце, поражения кожи индуцировали у мышей Balb/C путем внутрикожной инъекции IL-23 в уши (1 мкг) в течение 4 последовательных дней (от дня 1 до дня 4). Измерения общей толщины уха проводили ежедневно до дня 5 включительно, в который мышей умерщвляли. После умерщвления отбирали образцы ушных раковин и их разрезали продольно на две половины. Одну половину фиксировали в формалине для тщательного гистологического анализа толщины эпидермиса/дермы кожи уха. Вторую половину погружали в RNeasy Lysis Buffer для анализа с помощью количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (qRT-PCR) уровней экспрессии мРНК связанных с заболеванием провоспалительных цитокинов IL-17A, IL-22 и IL-13 и белков с противомикробной активностью LCN2, S100A8 и S100A9. Группы мышей (n=10), которым вводили IL-23, обрабатывали антителами MAB#1 или MAB#2, которые вводили дважды *i.p.* в дозе 10 мг/кг (один раз за 3 дня до и один раз непосредственно перед первой внутрикожной инъекцией IL-23).

Каждое антитело тестировали в двух независимых экспериментах, разделенных на три разных исследования. В каждое исследование включали следующие контрольные группы (в каждой n=10).

Контрольная группа мышей не получала ежедневных инъекций IL-23, а вместо этого ежедневно получала внутрикожные инъекции раствора BSA/PBS в том же самом объеме. Данную группу обрабатывали с помощью изотипического антитела MOR03207 (2×, 10 мг/кг, *i.p.*), представляющего собой отрицательный контроль.

Для каждого исследования общую толщину уха и толщину эпидермиса определяли в течение периода времени и использовали отдельные точки данных на животное для определения % предупреждения утолщения, опосредованного IL-23. Данные по экспрессии, полученные с помощью qPCR, выражали с помощью уравнения Rq (относительного количества) ($Rq = 2^{-\Delta Ct}$, где $\Delta Ct = Ct$ (представляющий интерес ген) - Ct (ген "домашнего хозяйства") после нормализации по уровням экспрессии циклофилина A, используемого в качестве гена "домашнего хозяйства"). Что касается всех измерений, то данные среднее значение $\pm$ SEM для групп сравнивали с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) и апостери-

орного множественного сравнения Даннета с помощью программного обеспечения PRISM. Значение "p" <0,05 считали статистически значимым (*p<0,05; ** p<0,01; ***p<0,001; ns: статистически не значимое).

Таким образом, введение обоих кандидатных IgG MAB#1 и MAB#2 (2×10 мг/кг) уменьшало тяжесть воспаления кожи, вызванного IL-23, демонстрируя эффективность *in vivo* и терапевтический потенциал обоих антител. Оба антитела проявляли аналогичные эффекты при уровне индуцированного IL-23 утолщения эпидермиса и аналогичное воздействие при уровне индуцированной IL-23 экспрессии генов (см. табл. 4).

Таблица 4

Сводные данные эффективности *in vivo* в модели IL-23

	MAB#1	MAB#2
% предупреждения увеличения общей толщины уха (среднее значение и значимость в 2-3 исследованиях)	-34 Значимость в 2 исследованиях из 2	-6 Не значимо в 2 исследованиях из 2
% предупреждения утолщения эпидермиса (среднее значение и значимость в 2-3 исследованиях)	-62 Значимость в 2 исследованиях из 2	-50 Значимость в 2 исследованиях из 2
Количество связанных с заболеванием генов со значимо сниженной экспрессией (в каждом из 3 проведенных исследований)	не тестировали/3/6	1/6/не тестировали

Пример 8. Мышиная модель атопического дерматита с использованием MC903.

Эффективность антитела MAB#1 при атопическом дерматите оценивали на мышиной модели атопического дерматита с кожным воспалением неинфекционной природы, где местное применение аналога витамина D3 с низким кальцемическим эффектом, MC903 (кальципотриол), вызывает поражение кожи, такое как атопический дерматит, который характеризуется красной и чешуйчатой кожей, сопровождается эпидермальной гиперплазией и инфильтрацией дермы различными типами клеток, а также повышением уровня цитокина Th2 в коже и повышенным уровнем IgE в сыворотке крови (Li M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006), Vol. 103(31), p. 11736-11741; Li M. et al., J. Invest. Dermatol. (2009), Vol. 129(2), p. 498-502).

8.1. Животные.

Мышей Balb/c (самок в возрасте 8 недель) получали из Janvier Labs (Франция). Мышей содержали при 12-часовом цикле чередования света и темноты (0700-1900). Температуру поддерживали при 22°C и пищу с водой предоставляли *ad libitum*.

8.2. Экспериментальные процедуры.

С целью индуцирования AD-подобного ответа 2 нмоль MC903 (Tocris, растворенный в этаноле) местно наносили в объеме 20 мкл на оба уха мышей в течение 5 последовательных дней. Контрольная группа без заболевания получала то же количество этанола (EtOH).

Тяжесть воспаления кожи (эритема и утолщение) оценивали ежедневно. Утолщение ушей измеряли с помощью электронного штангенциркуля (Mitutoyo). Воспаление дополнительно оценивали с применением методики визуализации *in vivo*. С этой целью зонд Prosense 680 (1,6 нмоль, Perkin Elmer) вводили интраперитонеально за 24 ч до визуализации. Визуализацию проводили с помощью системы визуализации Bruker In-vivo Xtreme. Изображения получали с помощью сильно охлаждаемой камеры 4MP CCD (при значении диафрагмы 1,1, биннинг 2×2, время экспозиции 5 с, Ex 630 нм, Em 700 нм). Для анатомической совместной регистрации получали изображение отражения (значение диафрагмы 2,8, время экспозиции 0,175 с). Все изображения получали при поле зрения 190×190 и изображения анализировали с применением программного обеспечения для молекулярной визуализации Molecular Imaging версии 7.1 (Bruker Biospin, Биллерика, Массачусетс, США). Для каждой группы средние значения и стандартную ошибку среднего (sem) рассчитывали с применением для каждой мыши среднего значения левого и правого уха.

После умерщвления проводили отбор образцов кожи уха и фиксировали в 4% формальдегиде перед погружением в парафин. Срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином (окрашивание H&E) для гистоморфометрической оценки толщины эпидермиса путем анализа изображений с помощью программного обеспечения Sins'Com (Франция). Измеряли пять полей на ухо (поле зрения под большим увеличением ×20), покрывающих все ухо сверху вниз, и пять значений на ухо и на мышью усредняли (левое/правое ухо). Дополнительный набор срезов ткани получали для ИHC окрашивания IL-17C с применением биотинилированного антитела MAB к IL-17C (и отрицательного контроля, представляющего собой биотинилированное изотипическое антитело MOR03207). Обработку и окрашивание по сути проводили, как описано выше.

Также проводили отбор образцов кожи уха для анализа экспрессии цитокина с использованием qPCR или ELISA. Кусочки ткани уха для анализа генов с помощью qPCR погружали в стабилизирующий раствор RNeasy Lysis Buffer (Qiagen) и хранили при -20°C. Образцы кожи уха для количественного определения на уровне белка сразу же быстро замораживали в жидком N₂ и хранили при -80°C. Для анализа экспрес-

сии генов ткань измельчали и лизировали в лизирующем растворе для РНК с использованием гомогенизатора Precellys (микропробирки, заполненные керамидными гранулами диаметром 1,4 мм, 3 раза, 3 цикла по 15 с при 6000 об/мин). Общую РНК дополнительно выделяли с применением набора для выделения РНК от NucleoSpin® в соответствии с инструкциями производителя (Macherey-Nagel) и 300 нг подвергали обратной транскрипции с применением набора для высокопроизводительной обратной транскрипции кДНК от Applied Biosystems™. 5 мкл 10-кратно разбавленной кДНК применяли в реакциях количественной ПЦР в реальном времени с применением технологии SYBR Green с ген-специфическими праймерами от Qiagen. qPCR выполняли на системе для ПЦР в реальном времени VNA™ 7 (Applied Biosystems). Экспрессию генов нормализовали относительно экспрессии 3 различных генов "домашнего хозяйства" (циклофилин, β -актин и GAPDH) и выражали как относительный уровень мРНК специфической экспрессии генов, полученный с помощью метода $2^{-\Delta Ct}$, с формулой $\Delta Ct = Ct \text{ гена} - \text{геометрическое среднее } Ct\text{-значение (гены "домашнего хозяйства")}$. Для количественного определения экспрессии на уровне белка ткани сначала измельчали и лизировали в 250 мкл лизирующего буфера (реагент для выделения белка ткани T-PER™ (Pierce), дополненного коктейлем ингибиторов протеазы (Roche) и коктейлем ингибиторов фосфатазы Halt™ (Pierce)) с применением гомогенизатора Precellys (микропробирки, заполненные металлическими гранулами диаметром 2,8 мм, 10 мин, 14000 об/мин при 4°C). Количество TSLP в ушах определяли с помощью наборов для определения TSLP мыши DuoSet ELISA от R&D System. Количество нормализовали относительно общего содержания белка в лизате, которое определяли с помощью реагента Кумасси для анализа белка (Thermo Fisher) относительно стандартного белка BSA. Данные выражали в виде количества цитокина в ухе, которое рассчитывали с использованием формулы: концентрация цитокина в образце/концентрация белка в образце $\times$ общее содержание белка в ухе.

Значимость эффекта обработки на каждое из считываний оценивали с помощью программного обеспечения Prism® с использованием однофакторного дисперсионного анализа с последующим апостериорным множественным сравнением Даннета относительно контрольной группы MC903+MOR03207 с * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

8.3. Эффективность MAB#1 в мышинной модели атопического дерматита (профилактической).

Эффективность разных доз MAB#1 в модели атопического дерматита MC903 оценивали в плане профилактики. Вкратце, поражения кожи у мышей BALB/c вызывали путем местного применения 2 нмоль MC903 (растворенного в этаноле) на обоих ушах в течение 5 последовательных дней; мышей умерщвляли в день 8. MAB#1 вводили i.p. 3 раза, т. е. за 3 до первого нанесения MC903, в начале и через 4 дня после него. Оценивали эффекты в отношении отека уха, воспаления уха, гиперплазии эпидермиса, утолщения дермы и экспрессии генов. Группа мышей, которая получала отрицательный контроль, представляющий собой изотипическое антитело (MOR03207), служила в качестве группы сравнения. Дексаметазон (5 мг/кг в 0,5% метилцеллюлозе, вводимый ежедневно пероральным путем (p.o.), как и в первый день нанесения MC903) использовали в качестве активного препарата сравнения. Мышей делили в произвольном порядке на равные группы ($n=10$).

Тяжесть воспаления кожи (эритема и утолщение) наблюдали на протяжении эксперимента. Общую толщину уха измеряли с использованием измерителя толщины Митутойо на протяжении эксперимента. Воспаление дополнительно оценивали в день 5, используя методику визуализации *in vivo*, как описано в 8.2).

Эффект от воздействия этанола (в качестве контроля, представляющего собой среду-носитель) на ухо отсутствовал. И наоборот, обработанные MC903 уши становились покрасневшими и отечными. Обработка с использованием MAB#1 в дозах 2 мг/кг или выше существенно предотвращала утолщение уха. Эффект, обусловленный MAB#1, был максимальным при дозе 10 мг/кг и сравнимым с эффектом дексаметазона (фиг. 1). Наряду с данными наблюдениями воспаление уха (которое оценивали с помощью визуализации *in vivo* в день 5) было ярко выраженным у животных, которых обрабатывали MC903, и оно снижалось под воздействием MAB#1, причем значительный и почти максимальный эффект наблюдали при дозе 10 мг/кг (фиг. 2).

Для подтверждения уменьшения толщины уха под воздействием MAB#1 гистологические срезы ушей, отобранные в день 8, окрашивали гематоксилином и эозином для гистоморфометрической оценки толщины эпидермиса и дермы. Получали значения данных для пяти полей на ухо, охватывающих все ухо от верха до низа, и получали среднее на мышь. MAB#1 в дозах 10 мг/кг и выше значительно предотвращало увеличение толщины слоя как эпидермиса, так и дермы (фиг. 3).

8.3.1. Эффект MAB#1 в отношении экспрессии генов.

Для дополнительной характеристики эффекта MAB#1 в модели воспаления кожи, подобного атопическому дерматиту, вызванного MC903, экспрессию разных генов, связанных с атопическим дерматитом, анализировали на уровне мРНК с помощью qPCR или на уровне белка с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Экспрессия белков TSLP и IL-33 в ушах и уровень TARC в плазме крови повышались с помощью нанесения MC903 и значительно подавлялись при обработке MAB#1 при дозах 10 мг/кг или выше (фиг. 4). Аналогичный подавляющий эффект наблюдали у MAB#1 в отношении нескольких других генов, которые положительно регулировались в обработанных MC903 ушах, подобно

IL-31 (цитокин, связанный с появлением зуда при atopическом дерматите), Th2-цитокину IL-4 и другим генам, которые, как было показано, положительно регулируются при atopическом дерматите человека, подобно S100A8/9 и IFN- γ . И наоборот, было показано, что MAB#1 предупреждает понижающую регуляцию FLG2 в обработанных MC903 ушах, что может свидетельствовать о потенциальной роли MAB#1 в восстановлении барьерной функции.

8.4. Эффективность MAB#1 в мышинной модели atopического дерматита (терапевтической).

Эффективность разных доз MAB#1 в модели atopического дерматита с использованием MC903 оценивали в плане терапии, связанном с заболеванием. Вкратце, вызывали у мышей Balb/c поражения кожи перед началом какой-либо обработки путем местного нанесения 2 нмоль MC903 (растворенного в этаноле) на обоих ушах в течение 5 последовательных дней. MAB#1 вводили i.p. 4 раза, при этом первое введение проводили в последний день нанесения MC903 на кожу (день 5) с последующими введениями в дни 8, 12 и 15. Мышей умерщвляли в день 16. Оценивали эффекты в отношении отека уха, воспаления уха, гиперплазии эпидермиса, утолщения дермы и экспрессии генов. Кроме того, также оценивали эффект в отношении мигрирующих иммунных клеток (эозинофилов, Т-клеток и тучных клеток). Группа мышей, которая получала отрицательный контроль, представляющий собой изотипическое антитело (MOR03207), служила в качестве группы сравнения. Дексаметазон (1 мг/кг в 0,5% метилцеллюлозы, который вводили p.o. с последнего дня нанесения MC903 в день 5, а в последующем в дни 8-12 и дни 15-16) использовали в качестве активного препарата сравнения.

8.4.1. Эффект MAB#1 в отношении общей толщины и воспаления уха.

Общую толщину уха измеряли с использованием измерителя толщины Митутой на протяжении эксперимента. Местное нанесение MC903 на уши вызывало выраженное увеличение толщины уха со дня 3 при сравнении с ушами, обработанными этанолом (в качестве контроля, представляющего собой средуноситель, для MC903). Активная фаза заболевания хорошо вызывалась в день 5 (т. е. в день первой обработки) и продолжала развиваться впоследствии (несмотря на то, что нанесение MC903 прекращали), как очевидно из продолжающегося увеличения отека уха в группе, обработанной антителом MOR03207, представляющим собой отрицательный контроль (фиг. 5). Обработка с помощью MAB#1 при дозах 0,4 мг/кг или выше значимо уменьшала толщину уха, как в день 12, при этом более высокие дозы MAB#1 имели более выраженный эффект и значительно уменьшали толщину уха даже в более ранние временные точки (как в день 8 для MAB#1 при 50 мг/кг и в день 10 для доз 10 и 2 мг/кг). Наряду с данными наблюдениями воспаление уха, которое оценивали с помощью визуализации *in vivo* (как описано в 8.2) в день 12, было по-прежнему повышенным у животных, которых обрабатывали антителом, представляющим собой отрицательный контроль, и существенно снижалось под воздействием MAB#1 при всех дозах, причем максимальный эффект наблюдали при дозе 2 мг/кг (фиг. 6).

8.4.2. Эффект MAB#1 в отношении толщины эпидермиса/дермы уха.

Для подтверждения уменьшения толщины уха с помощью MAB#1 гистологические срезы ушей, отобранных в день 16, окрашивали гематоксилином и эозином для гистоморфометрической оценки толщины эпидермиса и дермы. MAB#1 при дозах 2 мг/кг и выше существенно снижал увеличение толщины слоя как эпидермиса, так и дермы наряду с измерениями общей толщины уха (фиг. 7).

8.4.3. Эффект MAB#1 в отношении клеточной инфильтрации дермы.

Для дополнительного определения характеристик эффекта MAB#1 в отношении процессов заболевания в модели atopического дерматита с использованием MC903 авторы оценивали эффект в отношении клеточной инфильтрации. Более конкретно, авторы оценивали эффект на эозинофилы, Т-лимфоциты и тучные клетки с помощью иммуногистохимического анализа (ИНС) и дальнейшего количественного определения площади, которая окрашивается соответствующими антителами, выявляющими пероксидазу эозинофилов, Т-клеточный маркер CD3 и триптазы тучных клеток (подробно см. Marsais, 2016). Наряду с повышенным воспалением и толщиной уха инфильтрация эозинофилами, Т-клетками и в меньшей степени тучными клетками была все еще выраженной в день 16 в ушах мышей, у которых активная фаза заболевания была индуцирована MC903. Обработка MAB#1 уменьшала инфильтрацию дермы во всех трех типах исследуемых клеток (фиг. 8). Значительное снижение количества инфильтрировавших эозинофилов и Т-клеток наблюдали при всех тестируемых дозах MAB # 1 при самой высокой дозе 50 мг/кг, которая обладала более сильным эффектом, уменьшающим миграцию этих типов клеток до уровней, сравнимых с эффектом дексаметазона. Эффект в отношении инфильтрации тучными клетками в целом был слабее, но все еще значимый: миграция существенно снижалась с помощью MAB#1 при более высоких дозах, составляющих 50 и 10 мг/кг.

8.4.4. Эффект MAB#1 в отношении экспрессии генов.

Экспрессию анализировали в образцах кожи уха или плазмы крови, собранных в день 16, или с помощью qPCR для восьми генов, связанных с заболеванием, или с помощью ELISA для TSLP и IL-33, продуцирующихся в ухе, и TARC в плазме крови, как описано в 8.2.

В отношении большинства анализируемых генов не наблюдали значимой дифференциальной экспрессии между обработанными EtOH контрольными здоровыми мышами и мышами, у которых заболевание было вызвано нанесением MC903 в течение первых 5 дней. Только уровни белка IL-33 и уровни

экспрессии мРНК IL-4, S100A9 и IFN- γ были по-прежнему повышены. Повышенные уровни экспрессии для этих генов (за исключением IFN- γ) снижались с помощью MAB#1, что показано на фиг. 9, при всех уровнях доз.

8.5. Результаты.

MAB#1 предупреждал развитие воспаления кожи, подобного атопическому дерматиту, в модели с использованием MC903, при этом он оказывал существенное воздействие на толщину эпидермиса и дермы, воспаление и экспрессию генов, подобную экспрессии в Т-хелперных клетках (Th2) типа 2, при введении дозы с профилактической целью при 3×10 мг/кг интраперитонеально (i.p.). Значительные эффекты на общую толщину уха уже наблюдали в данной модели при дозах 3×2 мг/кг (i.p.). Также в терапевтической модели с использованием MC903 применение MAB#1 облегчало воспаление кожи. Значимые терапевтические эффекты в отношении общей толщины уха, толщины эпидермиса, воспаления и миграции эозинофилов и Т-клеток наблюдали при дозах $4 \times 0,4$ мг/кг (i.p.), вплоть до доз $4 \times 2-10$ мг/кг (i.p.).

Пример 9. Мышиная модель атопического дерматита с чешуйчатым хвостом.

Эффективность антитела MAB#1 оценивали в модели с чешуйчатым хвостом. Мыши с чешуйчатым хвостом характеризуются мутацией в генах Fl и Matt (Matt^{ma/ma}Flg^{fl/fl}), которая в результате приводит к нарушению барьерной функции кожи. У данных мышей спонтанно развивается атопический и прогрессирующий дерматит, характеризующийся смешанным воспалительным фенотипом Th2/Th17, и они воспроизводят ключевые признаки АД у человека.

9.1. Животные и экспериментальные процедуры.

Мышей (Matt^{ma/ma}Flg^{fl/fl}) с чешуйчатым хвостом на основе конгенного генотипа C57BL/6J использовали, как описано в Fallon et al. (2009), Nat. Genet. 41(5):602-608 and Saunders et al. (2013), J. Allergy Clin. Immunol. 132(5):1121-1129. Самок мышей с чешуйчатым хвостом 9-10-недельного возраста рандомизировали в четыре группы (8 мышей на группу) и обрабатывали в течение 6 недель следующим образом.

Группа I: отрицательный контроль, представляющий собой изотипическое антитело (MOR03207) (30 мг/кг, i.p. два раза в неделю $\times$ 6 недель).

Группа II: MAB#1 (3 мг/кг, i.p. дважды в неделю $\times$ 6 недель).

Группа III: MAB#1 (30 мг/кг, i.p. дважды в неделю $\times$ 6 недель).

Группа IV: дексаметазон 2 мг/кг (i.p. дважды в неделю $\times$ 6 недель) в качестве активного препарата сравнения.

Тяжесть АД-подобного воспаления кожи оценивали в баллах, используя макроскопические диагностические критерии, адаптированные на основе оценки воспаления кожи в мышиной модели NC/Nga, как описано в Saunders et al. (2013), J. Allergy Clin. Immunol. 132(5):1121-1129. Вкратце, систему оценки в баллах (0: отсутствует; 1: слабое; 2: умеренное; 3: явно выраженное) применяли в отношении признаков эритемы, эксфолиации и отслаивания. Общую оценку в баллах для каждой мыши (с максимумом 9) рассчитывали по сумме отдельных баллов для каждого из трех параметров.

Возникновение экзематозных поражений кожи век глаз контролировали в конце исследования и отдельно оценивали блефарит в баллах по его тяжести (0: нормальное состояние, 1: эритема век глаз и/или отек, 2: эритема век глаз, отек и образование чешуек, 3: эритема век глаз, отек, образование чешуек, изъязвление). Максимальный балл блефарита (среднее значение для обоих глаз) для каждой мыши составляет 3.

9.2. Эффективность MAB#1 в модели спонтанного и хронического АД мыши, характеризующейся чешуйчатым хвостом.

Клиническая оценка в баллах воспаления кожи показывает, что мыши, характеризующиеся чешуйчатым хвостом, уже имели признаки спонтанно возникшего экзематозноподобного дерматита при начале обработки, который в дальнейшем прогрессировал в ходе последующего 6-недельного периода в клинически выраженный дерматит у необработанных животных. Обработка с помощью MAB#1 снижает прогрессирование со значительным эффектом, сравнимым с эффектом дексаметазона, который наблюдался при самой высокой тестируемой дозе 30 мг/кг (фиг. 10). Аналогичный эффект антитела MAB#1 наблюдают в степени блефарита в конце лечения (фиг. 11).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Антитело или фрагмент антитела, специфичные в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент содержат участок HCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 7, участок HCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 8, участок HCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 9, участок LCDR1, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 13, участок LCDR2, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 14, и участок LCDR3, который содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID No.: 15.

2. Антитело или фрагмент антитела, специфичные в отношении IL-17C, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат участок HCDR1, который содержит аминокислотную последовательность

под SEQ ID No.: 20, участок HCDR2, который содержит аминокислотную последовательность
 под SEQ ID No.: 21, участок HCDR3, который содержит аминокислотную последовательность
 под SEQ ID No.: 22, участок LCDR1, который содержит аминокислотную последовательность
 под SEQ ID No.: 26, участок LCDR2, который содержит аминокислотную последовательность
 под SEQ ID No.: 27, и участок LCDR3, который содержит аминокислотную последовательность
 под SEQ ID No.: 28.

3. Антитело или фрагмент антитела по любому из пп.1 или 2, где указанные антитело или фрагмент антитела являются специфичными в отношении IL-17C человека.

4. Антитело или фрагмент антитела по п.3, где указанные антитело или фрагмент антитела являются специфичными в отношении IL-17C человека, IL-17C макака-крабоеда и IL-17C мыши.

5. Антитело или фрагмент антитела по любому из пп.1-4, где указанные антитело или фрагмент антитела представляют собой антитело человека, гуманизированное или химерное антитело или фрагмент антитела человека, гуманизированного или химерного антитела.

6. Антитело или фрагмент антитела по любому из пп.1 и 3-5, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат переменный участок тяжелой цепи под SEQ ID No.: 17 и переменный участок легкой цепи под SEQ ID No.: 16.

7. Антитело или фрагмент антитела по любому из пп.2-5, где указанные антитело или фрагмент антитела содержат переменный участок тяжелой цепи под SEQ ID No.: 30 и переменный участок легкой цепи под SEQ ID No.: 29.

8. Антитело или фрагмент антитела по любому из пп.1-7, где указанные антитело или фрагмент антитела являются рекомбинантным антителом или фрагментом рекомбинантного антитела.

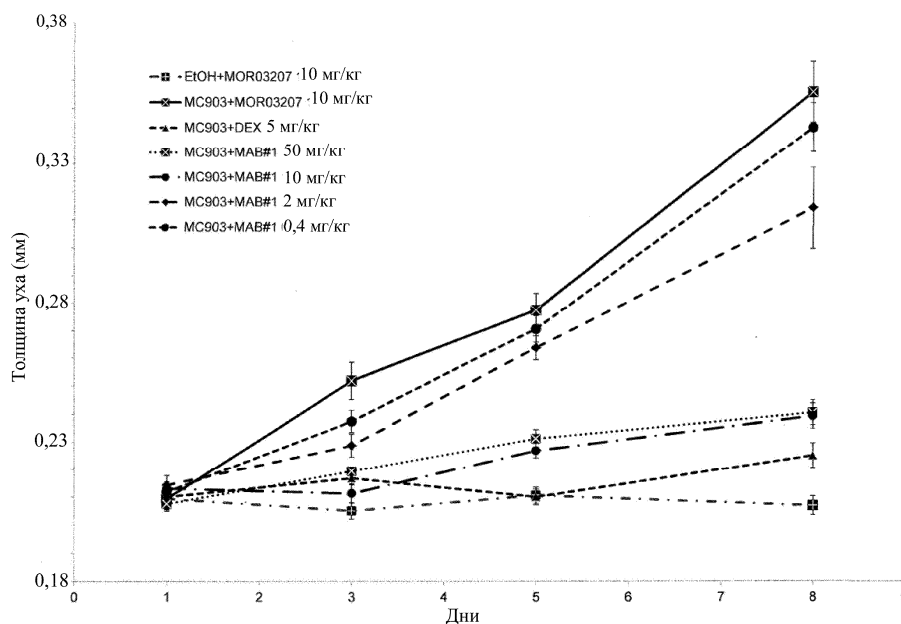
9. Применение антитела или фрагмента антитела по любому из пп.1-8 в лечении субъекта, нуждающегося в этом.

10. Нуклеиновая кислота, кодирующая антитело или фрагмент антитела по любому из пп.1-8.

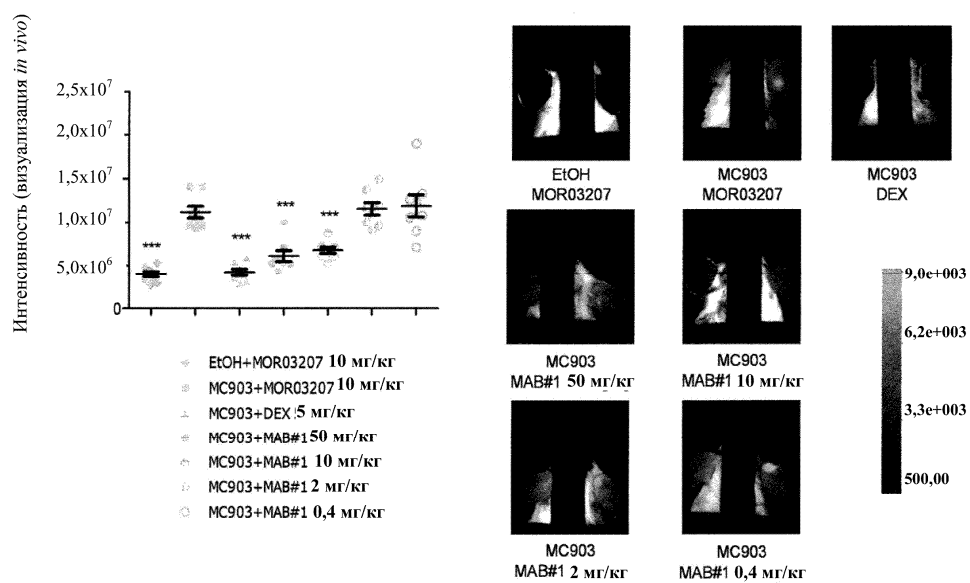
11. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п.10.

12. Клетка, способная экспрессировать антитело или фрагмент антитела по любому из пп.1-8, содержащая вектор по п.11.

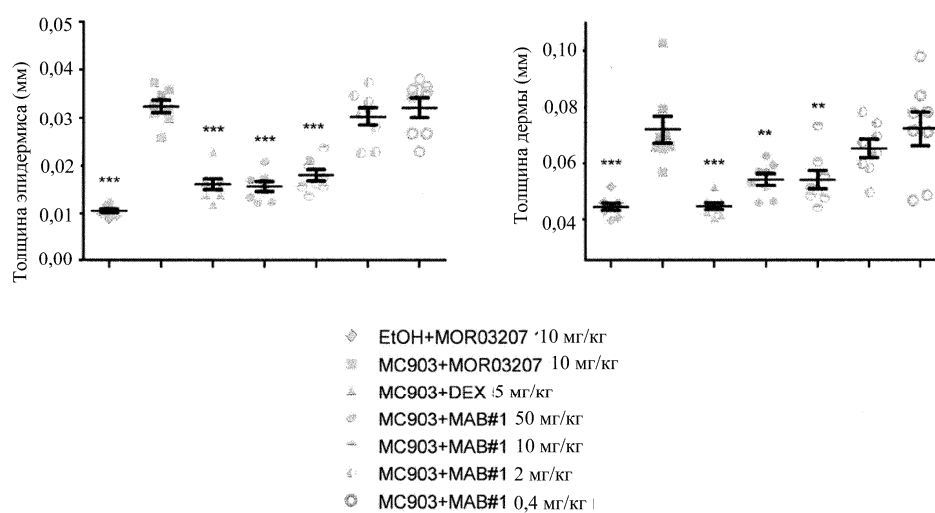
13. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело или фрагмент антитела по любому из пп.1-8 и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество.



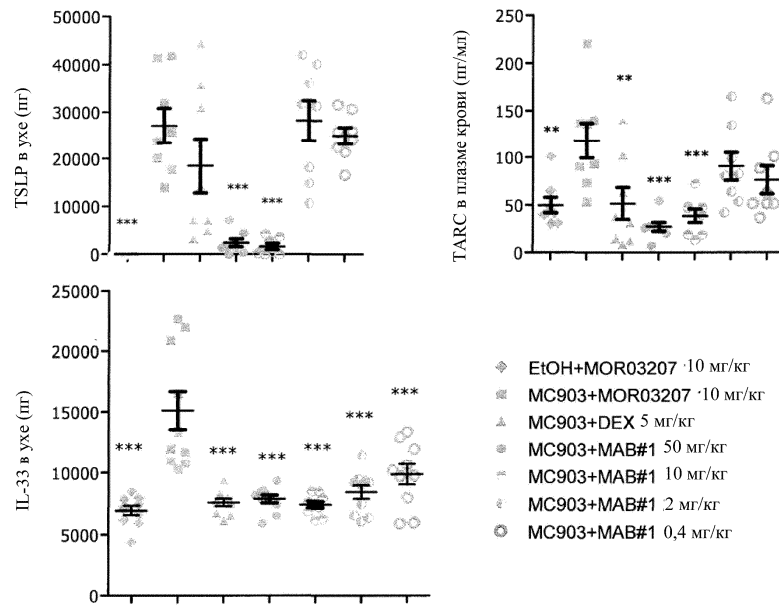
Фиг. 1



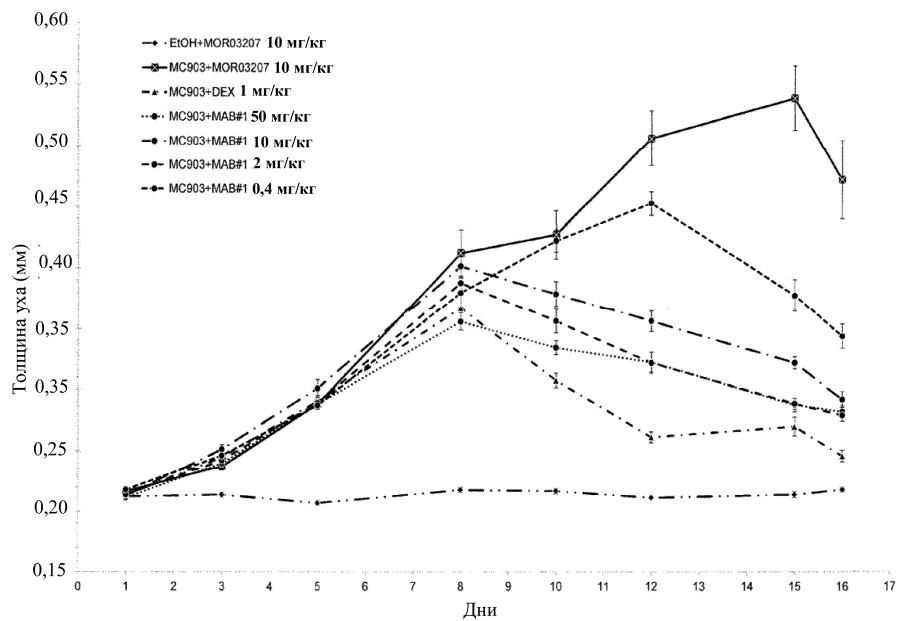
Фиг. 2



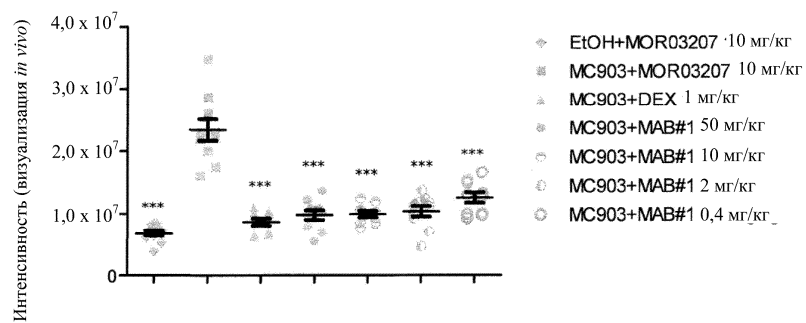
Фиг. 3



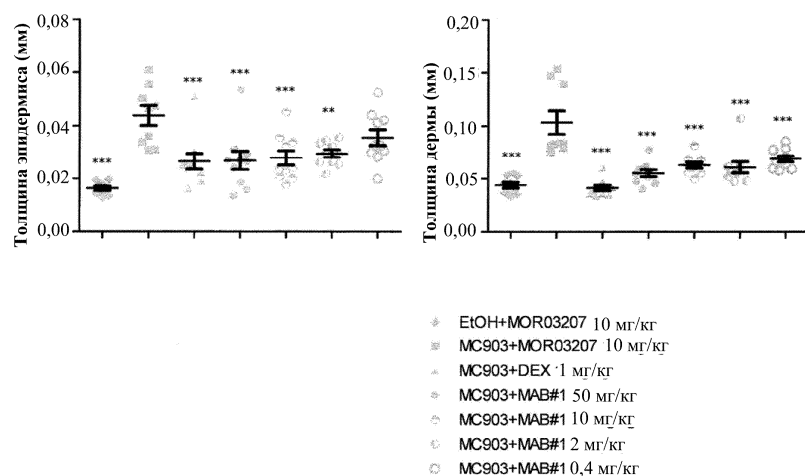
Фиг. 4



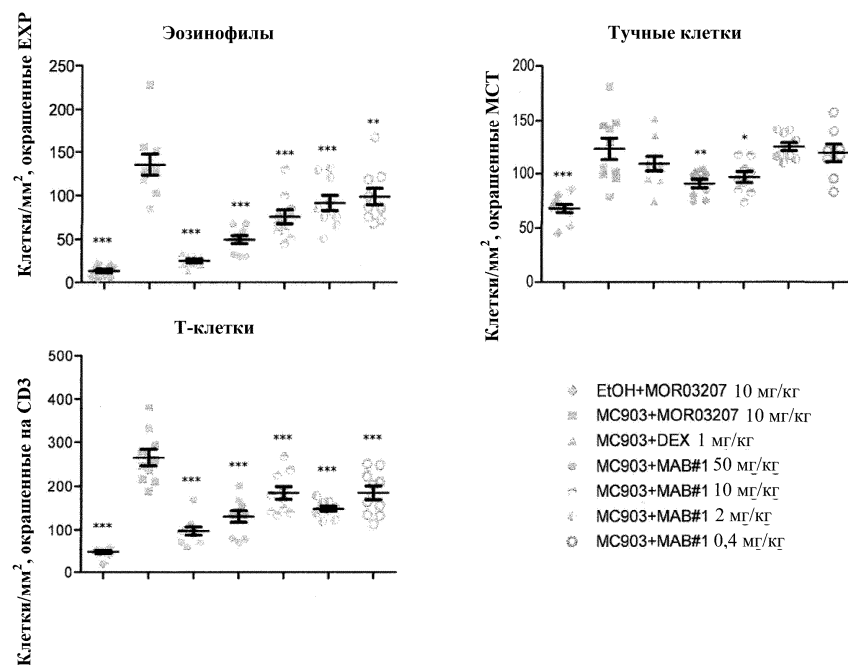
Фиг. 5



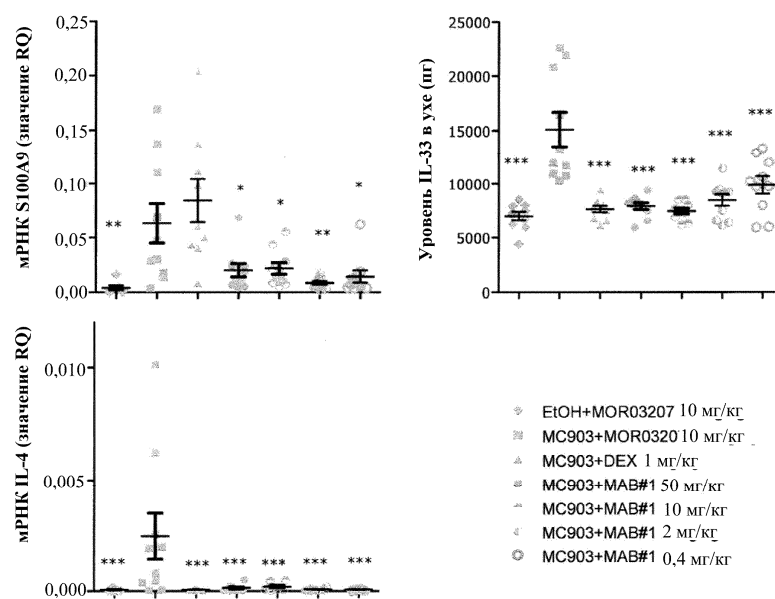
Фиг. 6



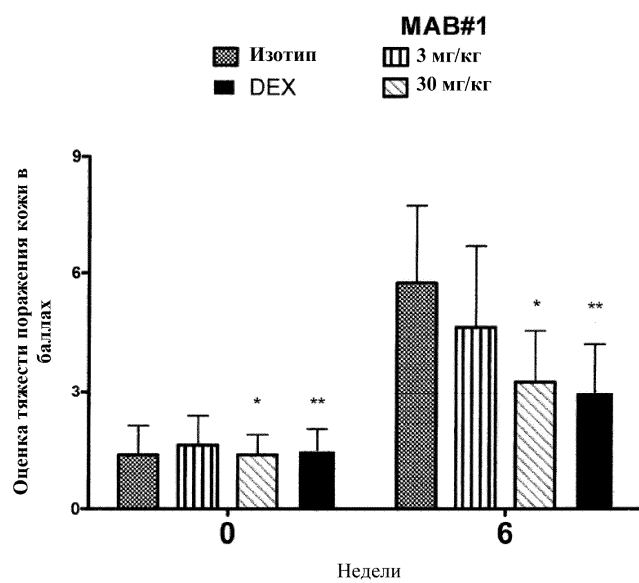
Фиг. 7



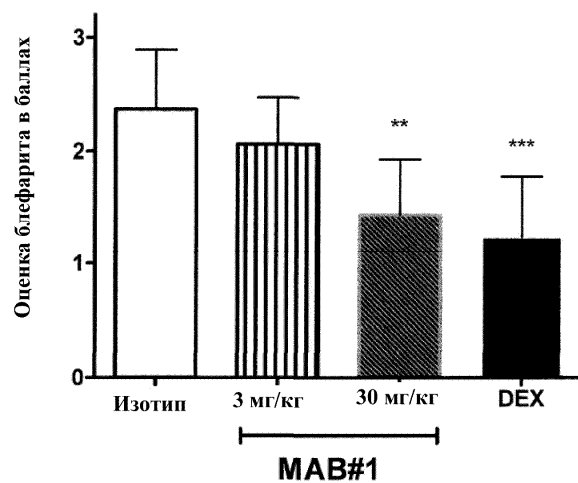
Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11

