(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202290425 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.04.26

(22) Дата подачи заявки
2020.07.31

(51) Int. Cl. ***A61K 38/00*** (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 1/14 (2006.01)

(54) МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ РАЗНОНАПРАВЛЕННОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ТРАНСПОРТА

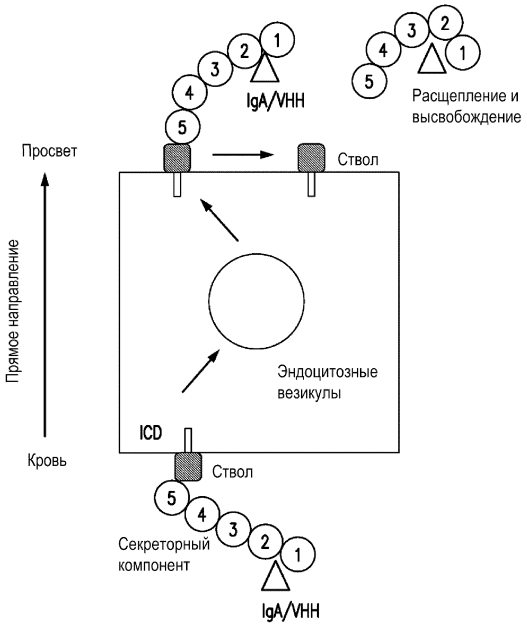
(31) **62/882,387; 62/882,291; 62/882,361; 62/882,346; 62/940,196; 62/940,206; 62/940,232; 62/940,220; 62/940,200; 62/940,228; 62/940,208**
(32) **2019.08.02; 2019.08.02; 2019.08.02; 2019.08.02; 2019.11.25; 2019.11.25; 2019.11.25; 2019.11.25; 2019.11.25; 2019.11.25**
(33) **US**
(86) **PCT/US2020/044497**
(87) **WO 2021/025997 2021.02.11**

(71) Заявитель:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Ганезан Раджкумар, Марутхачалам Бхаратхикумар Веллалоре, Зволак Адам, Гайст Брайан, Линь-Шмидт Сефань, Венкатарамани Сатядеви, Сингх Санджайа (US)

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

(57) Описан способ доставки однодоменного антитела или терапевтической молекулы от апикальной поверхности клетки, экспрессирующей рецептор полимерного иммуноглобулина (pIgR), к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки, включающий приведение pIgR-экспрессирующей клетки в контакт с однодоменным антителом или терапевтической молекулой, причем однодоменное антитело связывается с pIgR, а терапевтическая молекула содержит агент и однодоменное антитело. Описан также способ транспорта такой терапевтической молекулы в большой круг кровообращения, или собственную пластинку слизистой оболочки кишечника, или в желудочно-кишечный тракт субъекта, включающий введение терапевтической молекулы субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки.



202290425 A1

202290425 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-572798EA/011

МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ РАЗНОНАПРАВЛЕННОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ТРАНСПОРТА

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА СМЕЖНЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает преимущество по предварительной заявке на патент США № 62/940,232, поданной 25 ноября 2019 г., предварительной заявке на патент США № 62/940,228, поданной 25 ноября 2019 г., предварительной заявке на патент США № 62/940,220, поданной 25 ноября 2019 г., предварительной заявке на патент США № 62/940,208, поданной 25 ноября 2019 г., предварительной заявке на патент США № 62/940,206, поданной 25 ноября 2019 г., предварительной заявке на патент США № 62/940,200, поданной 25 ноября 2019 г., предварительной заявке на патент США № 62/940,196, поданной 25 ноября 2019 г., предварительной заявке на патент США № 62/882,387, поданной 2 августа 2019 г., предварительной заявке на патент США № 62/882,361, поданной 2 августа 2019 г., предварительной заявке на патент США № 62/882,346, поданной 2 августа 2019 г. и предварительной заявке на патент США № 62/882,291, поданной 2 августа 2019 г., причем каждая из них полностью включается в настоящий документ путем ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Настоящая заявка включает путем ссылки перечень последовательностей, поданный вместе с настоящей заявкой в файле текстового формата под названием «14620-204-228_SL.txt», созданном 28 июля 2020 года размером 169,502 байт.

1. ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0001] В настоящем документе обеспечены однодоменные антитела (например, с доменами VHH) и их применение для доставки агентов (например, терапевтических агентов), в том числе посредством транспорта агентов от апикальной поверхности клетки, экспрессирующей рецептор полимерного иммуноглобулина (pIgR), к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки.

2. ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Биологические препараты были движущим фактором развития производства фармацевтических препаратов за счет их растущего потенциала применения в лечении множества заболеваний, расстройств и состояний, включая хронические заболевания и обеспечение разных неудовлетворенных медицинских потребностей. В самом деле, продолжается экспоненциальный рост числа находящихся на стадии разработки биологических препаратов, в частности, в областях лечения рака или связанных с раком состояний, редких заболеваний, неврологических расстройств и иммунологических или воспалительных заболеваний, расстройств и состояний, включая аутоиммунные расстройства.

[0003] Вместе с тем доставка биологических препаратов осложнена, частично по причине их молекулярной массы и сложной структуры. В то время как молекулярная

масса синтетических низкомолекулярных лекарственных средств находится в диапазоне от нескольких сотен до, возможно, нескольких тысяч Дальтонов (Да), молекулярная масса биологических препаратов может достигать до 150 000 Да. Их относительно большой размер ограничивает их транспорт через эпителий, в том числе транспорт через мукозальный эпителиальный барьер, и существуют также проблемы с транспортом для доставки биологических препаратов в слизистую оболочку и прохождение через нее. Поэтому наиболее распространенным способом введения является инвазивное введение, для которого очень часто требуются услуги медицинского работника в дорогостоящих условиях медицинского учреждения. Таким образом, в данной области существует потребность в эффективных способах введения лекарственного средства, в частности для биологических препаратов, посредством менее инвазивных или неинвазивных способов, таких как пероральная доставка, буккальная доставка, назальная доставка или ингаляционная доставка.

3. ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] В одном аспекте в настоящем документе обеспечен способ доставки от апикальной поверхности клетки, экспрессирующей рецептор полимерного иммуноглобулина (pIgR), к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки, включающий приведение pIgR-экспрессирующей клетки в контакт с (i) однодоменным антителом, которое связывается с pIgR, или (ii) терапевтической молекулой, содержащей агент и однодоменное антитело.

[0005] В другом аспекте в настоящем документе предложен способ транспорта терапевтической молекулы к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки субъекта, включающий введение субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело. В некоторых вариантах осуществления терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент транспортируют от апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки в организме субъекта.

[0006] В другом аспекте в настоящем документе предложен способ транспортировки терапевтической молекулы в большой круг кровообращения субъекта, включающий введение субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, причем терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент транспортируют от апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки в организме субъекта.

[0007] В еще одном аспекте в настоящем документе предложен способ транспортировки терапевтической молекулы в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника или желудочно-кишечный тракт субъекта, включающий введение

субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, причем терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В некоторых вариантах осуществления терапевтический агент транспортируют от апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки в организме субъекта.

[0008] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело или терапевтическая молекула, содержащая агент и однодоменное антитело, могут транспортироваться от базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки к апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки.

[0009] В некоторых вариантах осуществления pIgR-экспрессирующая клетка представляет собой эпителиальную клетку. В некоторых вариантах осуществления эпителиальная клетка представляет собой клетку просвета кишечника или эпителиальную клетку дыхательных путей.

[0010] В некоторых вариантах осуществления агентом является лекарственное средство для лечения диабета. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство для лечения диабета выбрано из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1, пептидов-миметиков инсулина и пептидов-миметиков глюкагоноподобного пептида-1.

[0011] В некоторых вариантах осуществления агентом является пептид, или антитело, или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент выбраны из группы, состоящей из антитела к TNF-альфа или его фрагмента, антитела к IL23 или его фрагмента, и антитела, которое связывается с рецептором IL23, или его фрагмента.

[0012] В некоторых вариантах осуществления агентом является вакцина. В некоторых вариантах осуществления вакцина предназначена для профилактики инфекции, выбранной из группы, состоящей из вибриона, холеры, тифа, ротавируса, туберкулеза, ВИЧ, гриппа, Эболы и Сендай.

[0013] В другом аспекте в настоящем документе предложен процесс предоставления молекулы субъекту, включающий введение субъекту молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, которое связывается с рецептором полимерного иммуноглобулина (pIgR), причем молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки.

[0014] В некоторых вариантах осуществления молекула может быть обеспечена на базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки с апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки в организме субъекта.

[0015] В некоторых вариантах осуществления молекула может быть обеспечена на апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки с базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки в организме субъекта.

[0016] В некоторых вариантах осуществления pIgR-экспрессирующая клетка представляет собой эпителиальную клетку. В некоторых вариантах осуществления эпителиальная клетка представляет собой клетку просвета кишечника или эпителиальную клетку дыхательных путей.

[0017] В некоторых вариантах осуществления агентом является лекарственное средство для лечения диабета. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство для лечения диабета выбрано из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1, пептидов-миметиков инсулина и пептидов-миметиков глюкагоноподобного пептида-1.

[0018] В некоторых вариантах осуществления агентом является пептид, или антитело, или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент выбраны из группы, состоящей из антитела к TNF-альфа или его фрагмента, антитела к IL23 или его фрагмента, и антитела, которое связывается с рецептором IL23, или его фрагмента.

[0019] В некоторых вариантах осуществления агентом является вакцина. В некоторых вариантах осуществления вакцина предназначена для профилактики инфекции, выбранной из группы, состоящей из вибриона, холеры, тифа, ротавируса, туберкулеза, ВИЧ, гриппа, Эболы и Сендай.

[0020] В другом аспекте в настоящем документе предложен процесс, включающий стадии предоставления молекулы субъекту.

[0021] В некоторых вариантах осуществления молекула содержит агент и однодоменное антитело, которое связывается с pIgR.

[0022] В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой антитело или его фрагмент, пептид, вакцину, малую молекулу, полинуклеотид, радиоизотоп, токсин, фермент, антикоагулянт, гормон, цитокин, противовоспалительную молекулу, РНКи, антибиотик или конъюгат антитело-антибиотик.

[0023] В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой антитело или его фрагмент, пептид или вакцину.

[0024] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело генетически слито или химически конъюгировано с агентом.

[0025] В одном аспекте в настоящем документе обеспечена система для введения молекулы в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника или желудочно-кишечный тракт субъекта, содержащая молекулу, приемлемую для введения субъекту, причем молекула содержит агент и однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, при этом молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки, или их комбинации.

[0026] В некоторых вариантах осуществления агентом является лекарственное средство для лечения диабета. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство для лечения диабета выбрано из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1, пептидов-миметиков инсулина и пептидов-миметиков

глюкагоноподобного пептида-1.

[0027] В некоторых вариантах осуществления агентом является пептид, или антитело, или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления антитело или его фрагмент выбраны из группы, состоящей из антитела к TNF-альфа или его фрагмента, антитела к IL23 или его фрагмента, и антитела, которое связывается с рецептором IL23, или его фрагмента.

[0028] В некоторых вариантах осуществления агентом является вакцина. В некоторых вариантах осуществления вакцина предназначена для профилактики инфекции, выбранной из группы, состоящей из вибриона, холеры, тифа, ротавируса, туберкулеза, ВИЧ, гриппа, Эболы и Сендай.

[0029] В другом аспекте в настоящем документе обеспечена система, содержащая средство введения молекулы в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника или желудочно-кишечный тракт субъекта.

[0030] В некоторых вариантах осуществления молекула содержит агент и однодоменное антитело, которое связывается с pIgR.

[0031] В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой антитело или его фрагмент, пептид, вакцину, малую молекулу, полинуклеотид, радиоизотоп, токсин, фермент, антикоагулянт, гормон, цитокин, противовоспалительную молекулу, РНКи, антибиотик или конъюгат антитело-антибиотик.

[0032] В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой антитело или его фрагмент, пептид или вакцину.

[0033] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело генетически слито или химически конъюгировано с агентом.

[0034] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1, внеклеточным доменом 2, внеклеточным доменом 1-2, внеклеточным доменом 3, внеклеточным доменом 2-3, внеклеточным доменом 4-5 или внеклеточным доменом 5 pIgR.

[0035] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1 pIgR. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 2 pIgR. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1-2 pIgR. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 3 pIgR. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 2-3 pIgR. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 4-5 pIgR. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 5 pIgR.

[0036] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело конкурирует со связыванием IgA с pIgR. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело стимулирует связывание IgA с pIgR.

[0037] В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет от около 4 до около 525 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет менее около 50 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет от около 4 до около 34 нМ.

[0038] В некоторых вариантах осуществления T_m однодоменного антитела составляет от около 53 до около 77 °С. В других вариантах осуществления T_m однодоменного антитела составляет от 53,9 до 76,4 °С.

[0039] В некоторых вариантах осуществления pIgR представляет собой человеческий pIgR. В некоторых вариантах осуществления pIgR представляет собой мышиный pIgR.

[0040] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело не связывается со стволовой последовательностью человеческого pIgR (например, SEQ ID NO:143) и/или последовательностью ствола мышиного pIgR (например, SEQ ID NO:144 или SEQ ID NO:145).

[0041] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62), PLTAR (SEQ ID NO: 63), DPFNQGY (SEQ ID NO: 64), PLTSR (SEQ ID NO: 65), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66), DQRGY (SEQ ID NO: 67), QRGY (SEQ ID NO: 271), DPFNQGY (SEQ ID NO: 68), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71), SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72), TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73), VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274), PLTAR (SEQ ID NO: 74), LTA (SEQ ID NO: 275), DPFNQGY (SEQ ID NO: 75), PFNQG (SEQ ID NO: 276), PLTSR (SEQ ID NO: 76), LTS (SEQ ID NO: 277), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77), VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278), DQRGY (SEQ ID NO: 78), RG (SEQ ID NO: 279), DPFNQGY (SEQ ID NO: 79), PFNQG (SEQ ID NO: 280), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80), LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81), RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282), CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82), AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283), CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83), AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284), KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84), NHPLTAR (SEQ ID NO: 85), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86), NHPLTSR (SEQ ID NO: 87), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88), NDQRGY (SEQ ID NO: 89), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91), AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216), PLTAR (SEQ ID NO: 217), DPFNQGY (SEQ ID NO: 218), PLTSR (SEQ ID NO: 219), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220), QRGY (SEQ ID NO: 221), DPFNQGY (SEQ ID NO: 222), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

(SEQ ID NO: 223), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224), AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225), AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226), KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227), NHPLTA (SEQ ID NO: 228), AADPFNQG (SEQ ID NO: 229), NHPLTS (SEQ ID NO: 230), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231), NDQRG (SEQ ID NO: 232), AADPFNQG (SEQ ID NO: 233), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234), AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238), PLTAR (SEQ ID NO: 239), DPFNQGY (SEQ ID NO: 240), PLTSR (SEQ ID NO: 241), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242), QRGY (SEQ ID NO: 243), DPFNQGY (SEQ ID NO: 244), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245) или ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

[0042] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39), DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40), WNGRGTY (SEQ ID NO: 260), NGGGI (SEQ ID NO: 41), GGG (SEQ ID NO: 261), DRIAT (SEQ ID NO: 42), RIA (SEQ ID NO: 262), TWNGGT (SEQ ID NO: 43), WNGG (SEQ ID NO: 263), SGGGT (SEQ ID NO: 44), GGG (SEQ ID NO: 264), TGGGS (SEQ ID NO: 45), GGG (SEQ ID NO: 265), SWSGGS (SEQ ID NO: 46), WSGG (SEQ ID NO: 266), SWSGSS (SEQ ID NO: 47), WSGS (SEQ ID NO: 267), RWSGGR (SEQ ID NO: 48), WSGG (SEQ ID NO: 268), TWNGGS (SEQ ID NO: 49), WNGG (SEQ ID NO: 269), IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50), IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270), INGGGIT (SEQ ID NO: 51), IDRIATT (SEQ ID NO: 52), ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53), ISGGGTT (SEQ ID NO: 54), ITGGGST (SEQ ID NO: 55), ISWSGGST (SEQ ID NO: 56), ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57), IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58), ITWNGGST (SEQ ID NO: 59), AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193), FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194), LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195), WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196), FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197), WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198), LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199), FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200), FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201), FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202), FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203), AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204), RINGGGITH (SEQ ID NO: 205), FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206), AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207), FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208), RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209), AISWSGGSTT

(SEQ ID NO: 210), AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211), AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) или SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213).

[0043] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), INVMG (SEQ ID NO: 2), SNAMG (SEQ ID NO: 3), SYAMG (SEQ ID NO: 4), SDAMG (SEQ ID NO: 5), INVMG (SEQ ID NO: 6), TYRMG (SEQ ID NO: 7), RYAMG (SEQ ID NO: 8), FTTYRMG (SEQ ID NO: 258), TYRMG (SEQ ID NO: 259), FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), SSYRMG (SEQ ID NO: 164), SINVMG (SEQ ID NO: 165), SSNAMG (SEQ ID NO: 166), SSYAMG (SEQ ID NO: 167), SSDAMG (SEQ ID NO: 168), SINVMG (SEQ ID NO: 169), STYRMG (SEQ ID NO: 170), TRYAMG (SEQ ID NO: 171), TTYRMG (SEQ ID NO: 172), SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182) или GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183).

[0044] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из:

a) VHH1:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71) или SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82) или

AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR 2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236);

b) VHH2:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72) или TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83) или AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237);

c) VHH3:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 2), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62);

ii) последовательность CDR1 GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), последовательность CDR2 NGGGI (SEQ ID NO: 41) или GGG (SEQ ID NO: 261) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73) или VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274);

iii) последовательность CDR1 GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), последовательность CDR2 INGGGIT (SEQ ID NO: 51) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVETY (SEQ

ID NO: 84);

iv) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 165), последовательность CDR2 LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227); или

vi) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), последовательность CDR2 RINGGGITH (SEQ ID NO: 205) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238);

d) VHH4:

i) последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63);

ii) последовательность CDR1 GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), последовательность CDR2 DRIAT (SEQ ID NO: 42) или RIA (SEQ ID NO: 262) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 74) или LTA (SEQ ID NO: 275);

iii) последовательность CDR1 GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), последовательность CDR2 IDRIATT (SEQ ID NO: 52) и последовательность CDR3 NHPLTAR (SEQ ID NO: 85);

iv) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 217);

v) последовательность CDR1 SSNAMG (SEQ ID NO: 166), последовательность CDR2 WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196) и последовательность CDR3 NHPLTA (SEQ ID NO: 228); или

vi) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), последовательность CDR2 FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 239);

e) VHH5:

i) последовательность CDR1 SYAMG (SEQ ID NO: 4), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 64);

ii) последовательность CDR1 GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), последовательность CDR2 TWNGGT (SEQ ID NO: 43) или WNGG (SEQ ID NO: 263) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 75) или PFNQG (SEQ ID NO: 276);

iii) последовательность CDR1 GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), последовательность CDR2 ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86);

iv) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157),

последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 218);

v) последовательность CDR1 SSYAMG (SEQ ID NO: 167), последовательность CDR2 FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 229); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), последовательность CDR2 AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 240);

f) VHH6:

i) последовательность CDR1 SDAMG (SEQ ID NO: 5), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 65);

ii) последовательность CDR1 GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), последовательность CDR2 SGGGT (SEQ ID NO: 44) или GGG (SEQ ID NO: 264) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 76) или LTS (SEQ ID NO: 277);

iii) последовательность CDR1 GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), последовательность CDR2 ISGGGTT (SEQ ID NO: 54) и последовательность CDR3 NHPLTSR (SEQ ID NO: 87);

iv) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 219);

v) последовательность CDR1 SSDAMG (SEQ ID NO: 168), последовательность CDR2 WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198) и последовательность CDR3 NHPLTS (SEQ ID NO: 230); или

vi) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), последовательность CDR2 FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 241);

g) VHH7:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 6), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66);

ii) последовательность CDR1 RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), последовательность CDR2 TGGGS (SEQ ID NO: 45) или GGG (SEQ ID NO: 265) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77) или VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278);

iii) последовательность CDR1 RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), последовательность CDR2 ITGGGST (SEQ ID NO: 55) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88);

iv) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189) и

последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 169), последовательность CDR2 LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231); или

vi) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), последовательность CDR2 RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242);

h) VHH9:

i) последовательность CDR1 TYRMG (SEQ ID NO: 7), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 67) или QRGY (SEQ ID NO: 271);

ii) последовательность CDR1 GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), последовательность CDR2 SWSGGS (SEQ ID NO: 46) или WSGG (SEQ ID NO: 266) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 78) или RG (SEQ ID NO: 279);

iii) последовательность CDR1 GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), последовательность CDR2 ISWSGGST (SEQ ID NO: 56) и последовательность CDR3 NDQRGY (SEQ ID NO: 89);

iv) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 221);

v) последовательность CDR1 STYRMG (SEQ ID NO: 170), последовательность CDR2 FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200) и последовательность CDR3 NDQRG (SEQ ID NO: 232); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), последовательность CDR2 AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 243);

i) VHH10:

i) последовательность CDR1 RYAMG (SEQ ID NO: 8), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 68);

ii) последовательность CDR1 GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), последовательность CDR2 SWSGSS (SEQ ID NO: 47) или WSGS (SEQ ID NO: 267) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 79) или PFNQG (SEQ ID NO: 280);

iii) последовательность CDR1 GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), последовательность CDR2 ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90);

iv) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 222);

v) последовательность CDR1 TRYAMG (SEQ ID NO: 171), последовательность

CDR2 FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 233); или

vi) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), последовательность CDR2 AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 244);

j) VHH11:

i) последовательность CDR1 FTTYRMG (SEQ ID NO: 258) или TYRMG (SEQ ID NO: 259), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69);

ii) последовательность CDR1 GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), последовательность CDR2 RWSGGR (SEQ ID NO: 48) или WSGG (SEQ ID NO: 268) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80) или LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281);

iii) последовательность CDR1 GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), последовательность CDR2 IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91);

iv) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223);

v) последовательность CDR1 TTYRMG (SEQ ID NO: 172), последовательность CDR2 FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234); или

vi) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182), последовательность CDR2 AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245); и

k) VHH12:

i) последовательность CDR1 FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70);

ii) последовательность CDR1 GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), последовательность CDR2 TWNGGS (SEQ ID NO: 49) или WNGG (SEQ ID NO: 269) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81) или RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282);

iii) последовательность CDR1 GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), последовательность CDR2 ITWNGGST (SEQ ID NO: 59) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92);

iv) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224);

v) последовательность CDR1 SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), последовательность CDR2 FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203) и последовательность CDR3

AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235); или

vi) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183), последовательность CDR2 SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

[0045] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит каркас, полученный из каркаса любого однодоменного антитела, содержащий последовательности QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93), EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94), QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV TVSS (SEQ ID NO: 95), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 96), QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 97), EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 98), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99), QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 100), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 101), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

[0046] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит каркас, содержащий последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93), EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94), QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV TVSS (SEQ ID NO: 95), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 96), QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 97), EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 98), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99), QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 100), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 101), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

[0047] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело состоит из последовательности, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG

TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD
YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),
EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA
TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY
AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 96),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT
YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 97),
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT
TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 98),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH
YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY
DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST
TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 100),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA
GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 101),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT
LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG
YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или
QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG
GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY
WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

[0048] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело генетически слито или химически конъюгировано с агентом.

[0049] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело дополнительно содержит линкер между однодоменным антителом и агентом. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой полипептид. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой гибкий линкер, содержащий последовательность, выбранную из группы, состоящей из EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK (SEQ ID NO: 130),

(EAAAK)n (SEQ ID NO: 147), (GGGGS)n (SEQ ID NO: 148) и (GGGS)n (SEQ ID NO: 149), где n представляет собой целое число от 1 до 20.

[0050] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело химически конъюгировано с агентом. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело нековалентно связано с агентом.

[0051] В некоторых вариантах осуществления приведенный в настоящем документе способ не ингибирует pIgR-опосредованный трансцитоз IgA.

[0052] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), INVMG (SEQ ID NO: 6), TYRMG (SEQ ID NO: 7), RYAMG (SEQ ID NO: 8), FTTYRMG (SEQ ID NO: 258), TYRMG (SEQ ID NO: 259), FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), SSNAMG (SEQ ID NO: 166), SINVMG (SEQ ID NO: 169), STYRMG (SEQ ID NO: 170), TRYAMG (SEQ ID NO: 171), TTYRMG (SEQ ID NO: 172), SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182) или GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183).

[0053] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39), DRIAT (SEQ ID NO: 42), RIA (SEQ ID NO: 262), TGGGS (SEQ ID NO: 45), GGG (SEQ ID NO: 265), SWSGGS (SEQ ID NO: 46), WSGG (SEQ ID NO: 266), SWSGSS (SEQ ID NO: 47), WSGS (SEQ ID NO: 267), RWSGGR (SEQ ID NO: 48), WSGG (SEQ ID NO: 268), TWNGGS (SEQ ID NO: 49), WNGG (SEQ ID NO: 269), IDRIATT (SEQ ID NO: 52), ITGGGST (SEQ ID NO: 55), ISWSGGST (SEQ ID NO: 56), ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57), IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58), ITWNGGST (SEQ ID NO: 59), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193), WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196), LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199), FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200), FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201), FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202), FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203), FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206), RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209), AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210), AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211), AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) или SITWNGGSTS

(SEQ ID NO: 213).

[0054] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66), DQRGY (SEQ ID NO: 67), QRGY (SEQ ID NO: 271), DPFNQGY (SEQ ID NO: 68), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70), PLTAR (SEQ ID NO: 74), LTA (SEQ ID NO: 275), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77), VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278), DQRGY (SEQ ID NO: 78), RG (SEQ ID NO: 279), DPFNQGY (SEQ ID NO: 79), PFNQG (SEQ ID NO: 280), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80), LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81), RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282), NHPLTAR (SEQ ID NO: 85), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88), NDQRGY (SEQ ID NO: 89), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91), AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92), PLTAR (SEQ ID NO: 217), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220), QRGY (SEQ ID NO: 221), DPFNQGY (SEQ ID NO: 222), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224), NHPLTA (SEQ ID NO: 228), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231), NDQRG (SEQ ID NO: 232), AADPFNQG (SEQ ID NO: 233), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234), AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235), PLTAR (SEQ ID NO: 239), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242), QRGY (SEQ ID NO: 243), DPFNQGY (SEQ ID NO: 244), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245) или ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

4. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0055] Патент или файл заявки содержит по меньшей мере один цветной графический материал. Копии данного патента или публикации заявки на патент с цветным (-и) графическим (-и) материалом (-ами) можно получить после подачи соответствующей заявки и внесения оплаты.

[0056] На Фиг. 1A и 1B приведены схемы, демонстрирующие путь pIgR-опосредованного двунаправленного трансцитоза. На Фиг. 1A показано, что молекулы, связывающиеся с секреторным компонентом (домены 1-5) внеклеточного домена pIgR, такие как димерный IgA (природный лиганд) или VHH (синтетический лиганд pIgR), могут подвергаться трансцитозу в эпителиальной клетке от базолатерального до апикального направления и попадать в мукозальный просвет из крови. Этот прямой транспорт, опосредованный секреторным компонентом, можно применять для доставки молекул в мукозальный просвет из большого круга кровообращения. В настоящем документе описаны молекулы VHH, которые связываются с секреторным компонентом и подвергаются трансцитозу от базолатеральной на апикальную сторону эпителия. На Фиг. 1B показано, что молекулы, связывающиеся со стволовой областью внеклеточного домена pIgR (любой синтетический лиганд) могут подвергаться трансцитозу в эпителиальной

клетке от апикального до базолатерального направления и попадать в кровь из мукозального просвета. Этот обратный транспорт, опосредованный стволовым компонентом, можно применять для доставки молекул в большой круг кровообращения после перорального введения.

[0057] На Фиг. 2 приведены данные о картировании эпитопа для связующего вещества pIgR. Девять HIS-меченных конструктов pIgR (D1, D2, D3, D4, D5, D1-D2, D2-D3, D3-D4 и D4-D5) экспрессировали и очищали из клеток HEK293 с применением аффинной хроматографии на иммобилизованных ионах металла. Поскольку для двух конструктов (D4 и D3-D4) выходы экспрессии и очистки были очень низкими, их не использовали для исследования связывания. Тепловая карта на Фиг. 2 отображает связывание молекул VHH-моно-Fc с иммобилизованными конструктами pIgR в единицах электролюминесценции. Значения K_D для всех положительных взаимодействий измеряли с помощью интерферометрии биослоя. На тепловой карте на Фиг. 2 показано, что эпитопы VHH2 и VHH3 в основном находятся в домене-1 hpIgR, эпитопы VHH4 и VHH6 в основном находятся в домене-2 hpIgR и эпитопы других шести VHH главным образом находятся в доменах 4-5 hpIgR.

[0058] На Фиг. 3A-3B представлены данные о влиянии VHH на связывание IgA с hpIgR-ECD. На Фиг. 3A приводятся значения K_D для связывания полноразмерного hpIgR ECD с иммобилизованным VHH-моно-Fc в отсутствие (синий) и в присутствии (красный) dIgA2. На Фиг. 3B приводятся значения K_D для связывания иммобилизованного dIgA2 с внеклеточным доменом hpIgR в присутствии и в отсутствие молекул VHH-моно-Fc. dIgA2 иммобилизовали с применением реагирующих с амином биосенсоров, а связывание pIgR и комплексов pIgR-VHH оценивали с помощью интерферометрии биослоя. Три молекулы (VHH2, VHH3 и VHH5) оказывали негативное воздействие на связывание IgA с pIgR. Другие молекулы VHH демонстрировали незначительное положительное воздействие на связывание IgA с pIgR.

[0059] На Фиг. 4 показаны результаты анализа активности трансцитоза для молекул VHH-моно-Fc. На верхней панели представлена схема модели первичной ткани легких человека EpiAirway, используемой для анализа трансцитоза VHH. Была разработана методика анализа Meso-Scale Discovery (MSD) для определения количества VHH, присутствующего в базолатеральной и апикальной областях до и после трансцитоза. Биотинилированное антитело к VHH использовали для захвата молекул VHH-моно-Fc на стрептавидиновых планшетах, а рутенилированное антитело к человеческому антигену Fc использовали в качестве детекторного антитела. На нижней панели приводится график, отображающий количество VHH, присутствующего в апикальном мукоре через 24 часа после обработки VHH. Для пяти молекул VHH (VHH2, VHH6, VHH9, VHH11 и VHH12) наблюдалось более чем 20-кратное увеличение их количества в слизистой оболочке по отношению к контрольным молекулам VHH (VHH1, VHH13 и VHH14).

[0060] На Фиг. 5 приводятся данные, демонстрирующие отслеживание транспорта pIgR и VHH через модель первичной ткани легких человека. На левой панели Фиг. 5

приводится тепловая карта, отображающая количество pIgR, остающееся после трансцитоза в модели первичной ткани легких человека EpiAirway. На правой панели Фиг. 5 приводится тепловая карта, отображающая количество VHH, остающееся после трансцитоза в модели первичной ткани легких человека EpiAirway. Через 48 часов после обработки образцы ткани фиксировали, увеличивали проницаемость мембраны и окрашивали для выявления hpIgR и VHH. Количество pIgR и VHH, остающееся в рамках модели ткани, определяли методом непрямой иммунофлуоресценции с применением конфокальной лазерной микроскопии Opera Phenix. На Фиг. 5 показано, что VHH демонстрировали характерные профили распределения pIgR и VHH по глубине ткани. На Фиг. 5 также показано, что из пяти VHH, которые демонстрировали активный трансцитоз, в моделях ткани с обработкой VHH2, VHH9 и VHH12 отмечалось более интенсивное окрашивание для VHH вблизи апикальной поверхности, чем в случае других VHH. В моделях с обработкой VHH6 отмечалась наименьшая интенсивность окрашивания для VHH и pIgR по толщине ткани. Исследования с помощью методов визуализации подтвердили результаты трансцитоза и указывали на колокализацию hpIgR и VHH, в особенности вблизи апикального эпителия.

[0061] На Фиг. 6A приводится схема со структурой pIgR.

[0062] На Фиг. 6B приводится схема, демонстрирующая механизм pIgR-опосредованного транспорта. Фигура адаптирована согласно работе Kaetzel, Curr. Biol., 2001, 11(1):R35-38.

[0063] На Фиг. 7 представлена экспрессия pIgR в различных органах.

[0064] На Фиг. 8 приводятся критерии отбора, использованные для оценки молекул VHH, которые были получены из антигена mpIgR.

[0065] На Фиг. 9 приводятся критерии отбора, применяемые для оценки молекул VHH, которые были получены из антигена hpIgR.

[0066] На Фиг. 10 приводятся результаты анализа способности молекул VHH связываться с клетками MDCK, экспрессирующими pIgR.

[0067] На Фиг. 11 представлена экспрессия hpIgR на клетках MDCK. Окрашивание демонстрирует hpIgR, локализованный на поверхности и внутренней части монослоя клеток MDCK. Распределение окрашивания hpIgR в пределах монослоя не является однородным. Первичные эксперименты показывают, что плотность рецептора hpIgR на поверхности составляла около 6000 на одну клетку. Синий цвет обозначает окрашивание ядер красителем Hoechst, зеленый цвет обозначает окрашивание антитела, а красный цвет обозначает окрашивание антитела Rab5.

[0068] На Фиг. 12A-12B приводятся результаты анализа трансцитоза VHH с применением клеток MDCK-hpIgR, как описано в примере 3. На левой панели Фиг. 12B приводятся количества апикального VHH через 0, 24 и 48 часов. На правой панели Фиг. 12B показано кратное увеличение количества апикальных VHH через 24 часа по отношению к контрольному VHH.

[0069] На Фиг. 12C отображается активность трансцитоза молекул VHH-моно-Fc

через монослои MDCK-hpIgR от базолатеральной до апикальной области. Показано кратное увеличение количества апикальных VHH через 24 часа по отношению к контрольному VHH.

[0070] На Фиг. 13 приводятся параметры последовательности набора молекул VHH с областями подобия высококонсервативных последовательностей (SEQ ID NO: 93-95, 97-103 и 247-249).

[0071] На Фиг. 14 приводится схема, обобщающая процесс очистки молекул VHH.

[0072] На Фиг. 15 приводятся результаты очистки молекул VHH с помощью А-ГПХ.

[0073] На Фиг. 16 приводятся результаты анализа молекул VHH с помощью SEC-MALS.

[0074] На Фиг. 17 приводятся результаты анализа термостабильности молекул VHH методом дифференциальной сканирующей флуориметрии (DSF).

[0075] На Фиг. 18 показано описание модели ткани человека EpiAirway.

[0076] На Фиг. 19 приводятся результаты анализа трансцитоза VHH с применением модели EpiAirway. На левой панели представлена тепловая карта количества каждого проанализированного VHH в апикальном мукоре через 0, 24 и 48 часов. Единицы электрохемилюминесценции (ECLU), полученные по результатам анализа MSD, отложены на графике в виде тепловой карты. На верхней правой панели приводится количество VHH в апикальном мукоре через 24 часа, а на нижней правой панели приводится кратное увеличение VHH в апикальном мукоре по сравнению с контролем. На верхней правой панели показано, что пять VHH (VHH2, VHH6, VHH9, VHH11 и VHH12) демонстрировали > 20-кратное увеличение своего количества в слизистой оболочке относительно контрольных молекул VHH, а также что VHH12 демонстрировал 38-кратное увеличение в мукоре по отношению к контролю VHH и проявляли наиболее высокую активность трансцитоза.

[0077] На Фиг. 20 приводятся результаты анализа трансцитоза IgA с применением модели EpiAirway. На Фиг. 20 показано, что обработанные VHH2 и VHH12 образцы ткани демонстрировали интенсивное окрашивание для VHH и колокализацию с pIgR по отношению к VHH3 и VHH14 (отрицательный контроль).

[0078] На Фиг. 21 представлена колокализация hpIgR и VHH.

[0079] На Фиг. 22 приводится 3D-реконструкция, демонстрирующая локализацию hpIgR и VHH на апикальной поверхности в модели EpiAirway.

[0080] Фиг. 23 показывает, что модель ткани EpiAirway расположена на скошенной мембране.

[0081] На Фиг. 24 приводится пример стратегии для визуализации Opera Phenix и анализа, чтобы исключить артефакты из-за наклонной ткани в модели ткани EpiAirway.

[0082] На Фиг. 25 приводится кристаллическая структура hpIgR без лиганда в неактивной конформации. Фигура адаптирована согласно работе Stadtmueller et al., Elife, March 4, 2016, e10640.

[0083] На Фиг. 26 приводится структура комплекса pIgR:IgA по результатам рассеяния с применением ограниченных моделей. Фигура адаптирована согласно работе Bonner et al., J. Biol. Chem., 2009, 284(8):5077-87.

[0084] На Фиг. 27A представлена структурная модель трансцитоза IgA. Фигура адаптирована согласно работе Stadtmueller et al., Elife, March 4, 2016, e10640.

[0085] На Фиг. 27B приводится схема pIgR-опосредованного транспорта димерного IgA через мукозальный эпителиальный барьер. (1) Продукция IgA плазмоцитом и димеризация IgA; (2) связывание димерного IgA (dIgA) с pIgR ECD на базолатеральной стороне эпителия (взаимодействия pIgR-dIgA опосредованы доменами 1 и 5 pIgR и цепями Fc и J dIgA); (3) опосредованный pIgR трансцитоз димерного IgA (опосредованный клатрином эндоцитоз) приводит в действие базолатеральный-апикальный транспорт, и по достижении апикальной стороны pIgR ECD протеолитически расщепляется и высвобождается в мукор вместе с IgA. Мукозальный IgA в комплексе с секретированным pIgR ECD (секреторный компонент) называется секреторным IgA (sIgA)); и (4) нейтрализация мукозальных антигенов под действием sIgA.

[0086] На Фиг. 28A-28D приводится воздействие IgA на связывание VHH с hpIgR.

[0087] На Фиг. 29 приводятся результаты картирования эпитопа на уровне доменов для связывающих pIgR молекул VHH1, VHH2, VHH3, VHH4, VHH5, VHH6, VHH7, VHH9, VHH10, VHH11 и VHH12. Рисунок на верхней панели адаптирован согласно работе Stadtmueller et al., Elife, March 4, 2016, e10640.

[0088] На Фиг. 30A представлена кинетика связывания для молекул, связывающих hpIgR D2.

[0089] На Фиг. 30B представлена кинетика связывания для молекул, связывающих hpIgR D4-D5.

[0090] На Фиг. 31 приводятся свойства VHH2 и VHH3 (SEQ ID NO: 93-95).

[0091] На Фиг. 32A приводится пример структуры доменов и последовательностей hpIgR и показано, что D1 необходим для связывания IgA с hpIgR. Фигура адаптирована согласно работе Stadtmueller et al., Elife, March 4, 2016, e10640 (SEQ ID NO: 250-252).

[0092] На Фиг. 32B приводится структура секреторного IgA1 (sIgA1), комплекса димерного IgA и секреторного компонента, полученного с применением ограниченных моделей рассеяния в растворе и данных AUC (построено на основе PDB ID 3CHN). Тяжелая цепь показана оранжевым цветом, легкая цепь показана зеленым цветом, J-цепь показана розовым, а секреторный компонент показан сине-зеленым цветом. Фигура адаптирована согласно работе Bonner et al., Mucosal Immunol., 2:74-84 (2009).

[0093] На Фиг. 33A-33D представлены результаты анализа конкуренции VHH/IgA из примера 6. Кристаллические структуры на Фиг. 33A адаптированы согласно работе Stadtmueller et al., Elife, March 4, 2016, e10640 (SEQ ID NO: 250 и 253-257). На Фиг. 33B приводится иллюстративное графическое представление домена-1 hpIgR, созданное на основе PDB ID 5D4K. CDR1, CDR2 и CDR3 домена-1 hpIgR показаны оранжевым, розовым и светло-красным цветом соответственно, причем CDR домена-1 hpIgR

заменялись на соответствующие CDR костистой рыбы для проверки влияния CDR домена-1 hpIgR на связывание VHH. На Фиг. 33C рассматривается связывание IgA с иммобилизованными конструктами pIgR, в том числе значения KD (KD, Kon или Koff). На Фиг. 33D приводятся кинетические параметры связывания VHH2 и VHH3 с иммобилизованными на сенсоре конструктами HIS-меченного белка pIgR. Значения KD, Kon или Koff приводятся в нижней левой, верхней левой и верхней правой панелях соответственно. Фиг. 33D показывает, что конструкт hD1_tCDR2 не демонстрирует связывания с VHH2 и VHH3. Параметры кинетики связывания были получены интерферометрией биослоя, и на нижней правой панели приводится кратное изменение значений KD для связывания VHH2 и VHH3 с конструктом домена pIgR по сравнению с полноразмерным hpIgR ECD.

[0094] На Фиг. 34 приводятся данные, описывающие, каким образом VHH2 и VHH3 конкурируют друг с другом за связывание с pIgR.

[0095] На Фиг. 35 показано, что четыре молекулы (VHH3, VHH4, VHH5 и VHH6) распознают скрытые эпитопы на pIgR.

[0096] На Фиг. 36A-36B показано, что VHH3 распознает комплексный эпитоп на интерфейсе домена-1 hpIgR.

[0097] На Фиг. 37A-37B приводятся результаты анализа прямого и обратного трансцитоза молекул VHH-моно-Fc с применением монослоев MDCK-hpIgR, как описано в примере 7. Приведенные результаты подтверждают двунаправленный транспорт. На Фиг. 37A приводятся результаты прямого трансцитоза (в направлении от базолатерального до апикального направления), при этом 20 мкг исследуемых или контрольных молекул VHH-моно-Fc добавляли в базолатеральную область, и приводится кратное увеличение апикальной [VHH] по сравнению с контролем через 24 часа (светло-серый) и через 48 часов (темно-серый) после обработки. В случае прямого трансцитоза пять молекул VHH-моно-Fc с доменом VHH2, VHH6, VHH9, VHH11 или VHH12 демонстрировали > 20-кратное увеличение апикальной концентрации по сравнению с контрольными молекулами VHH-моно-Fc через 48 часов, причем молекулы VHH-моно-Fc с доменом VHH4 демонстрировали 15-кратное увеличение апикальной концентрации. На Фиг. 37B приводятся результаты обратного трансцитоза (в направлении от апикальной до базолатеральной стороны), при этом 20 мкг исследуемых или контрольных молекул VHH-моно-Fc добавляли в апикальную область, и приводится кратное увеличение базолатеральной [VHH] по сравнению с контролем через 24 часа (светло-серый) и через 48 часов (темно-серый) после обработки. Молекулы VHH-моно-Fc с доменом VHH6, VHH11 или VHH12 демонстрировали > 10-кратное увеличение базолатеральной концентрации по сравнению с контрольными молекулами VHH-моно-Fc через 48 часов. В случае обратного трансцитоза молекулы VHH-моно-Fc с доменом VHH2, VHH4 или VHH9 демонстрировали > 5-кратное увеличение своей базолатеральной концентрации по сравнению с контрольными молекулами VHH-моно-Fc через 48 часов. Результаты, приведенные на Фиг. 37A и 37B, получали после трех независимых экспериментов, в

каждом случае включающих два технических повтора.

[0098] На Фиг. 38A-38B приводятся результаты анализа прямого и обратного трансцитоза молекул VHH-моно-Fc с применением монослоев MDCK-hpIgR, как описано в примере 7. Эти результаты подтверждают двунаправленный транспорт. Для исследования активности прямого трансцитоза 20 мкг исследуемых или контрольных молекул VHH-моно-Fc добавляли в базолатеральную область и определяли количество апикального VHH-моно-Fc через 24 и 48 часов после обработки (анализ B к A). Для исследования активности обратного трансцитоза 20 мкг исследуемых или контрольных молекул VHH-моно-Fc добавляли в апикальную область и определяли количество базолатерального VHH через 24 и 48 часов после обработки (анализ A к B). Апикальный VHH (мкг) в анализе B к A показан светло-серым, а базолатеральный VHH (мкг) в анализе A к B показан темно-серым. На Фиг. 38A приводится сравнение прямого и обратного транспорта молекул VHH-моно-Fc через 24 часа после обработки VHH. На Фиг. 38B приводится сравнение прямого и обратного транспорта молекул VHH-моно-Fc через 48 часов после обработки VHH.

[0099] На Фиг. 39A-39B приводятся результаты для кинетики прямого и обратного трансцитоза молекул VHH-моно-Fc через монослои MDCK-hpIgR, как описано в примере 7. На Фиг. 39A приводятся результаты для кинетики прямого трансцитоза (в направлении от базолатерального до апикального направления), причем 20 мкг исследуемых или контрольных молекул VHH-моно-Fc добавляли в базолатеральную область. Определяли количество VHH, присутствующее в апикальной области (мкг), и отображали его в различные моменты времени (0, 4, 8, 12, 24, 36 и 48 часов) после обработки VHH. Концентрация молекул VHH-моно-Fc в апикальной области со временем возрастала. Для восьми молекул VHH-моно-Fc > 10% базолатерального ввода VHH (2 мкг) транспортировалось в апикальную область (кроме молекул VHH-моно-Fc, содержащих домен VHH3 или VHH7). На Фиг. 39B приводятся результаты для кинетики обратного трансцитоза (в направлении от апикальной к базолатеральной стороне), причем 20 мкг исследуемых или контрольных молекул VHH-моно-Fc добавляли в апикальную область. Определяли количество VHH, присутствующее в базолатеральной области (мкг), и отображали его в различные моменты времени (0, 4, 8, 12, 24, 36 и 48 часов) после обработки VHH. Концентрация молекул VHH-моно-Fc в базолатеральной области со временем возрастала. Для шести молекул VHH-моно-Fc > 10% введенных апикальных VHH (2 мкг) транспортировалось в базолатеральную область (молекулы VHH-моно-Fc, содержащие домен VHH2, VHH4, VHH6, VHH9, VHH11 или VHH12).

5. ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[00100] Настоящее описание частично основано на неожиданном результате, демонстрирующем, что однодоменные антитела (например, домены VHH), которые связываются с pIgR, как показано в настоящем документе, способны транспортировать (или способствовать транспорту) агенты от апикальной поверхности клетки, экспрессирующей рецептор полимерного иммуноглобулина (pIgR), к базолатеральной

поверхности pIgR-экспрессирующей клетки, и тем самым обеспечивают эффективный способ введения терапевтических молекул (в том числе диагностических молекул), например, в большой круг кровообращения, или в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника, или в желудочно-кишечный тракт субъекта посредством, например, пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки.

5.1. Определения

[00101] Методики и процедуры, описанные или указанные в настоящем документе, включают те, которые в общем хорошо известны и часто применяются в рамках традиционной методологии специалистами в данной области, такие как, например, широко используемые методологии, описанные в книге Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3d ed. 2001); Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 2003); Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic (An ed. 2009); Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols (Albitar ed. 2010); и Antibody Engineering Vols 1 and 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010).

[00102] Если в настоящем документе не определено иное, технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют значения, обычно понятные специалистам в данной области. Для целей интерпретации настоящего описания будут применяться приведенные ниже определения терминов, и в соответствующих случаях термины, используемые в единственном числе, будут также включать множественное число, и наоборот. В случае если любое представленное определение термина вступает в противоречие с любым документом, который путем ссылки включается в настоящий документ, представленное ниже определение термина будет иметь приоритет.

[00103] Термин «антитело», «иммуноглобулин» или «Ig» используется в настоящем документе взаимозаменяемым образом и применяется в наиболее широком смысле, и в частности охватывает, например, моноклональные антитела (включая агонист, антагонист, нейтрализующие антитела, полноразмерные или интактные моноклональные антитела), композиции антител с полиэпитопной или моноэпитопной специфичностью, поликлональные или моновалентные антитела, поливалентные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела, при условии что они проявляют желательную биологическую активность), образованные по меньшей мере из двух интактных антител, одноцепочечные антитела и их фрагменты, как описано ниже. Антитело может быть человеческим, гуманизированным, химерным и/или с созревшей аффинностью, а также может быть антителом других видов, например, мыши и кролика и т. д. Термин «антитело» призван включать полипептидный продукт B-клеток, относящийся к иммуноглобулиновому классу полипептидов, который в состоянии связываться со специфическим молекулярным антигеном и состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, причем каждая пара включает одну тяжелую цепь (около 50-70 кДа) и одну легкую цепь (около 25 кДа), каждая аминоконцевая часть каждой цепи включает вариабельную область из от около 100 до около 130 аминокислот, и каждая

карбоксиконцевая часть включает константную область. См., например, Antibody Engineering (Borrebaeck ed., 2d ed. 1995); и Kuby, Immunology (3d ed. 1997). В конкретных вариантах осуществления специфический молекулярный антиген может связываться с антителом, обеспеченным в настоящем документе, включая полипептид или эпитоп. К антителам также, без ограничений, относятся синтетические антитела, получаемые рекомбинантным способом антитела, однодоменные антитела, в том числе от верблюдовых (например, ламы или альпаки), или их гуманизированные варианты, внутриклеточные антитела, антиидиотипические (анти-Id) антитела и функциональные фрагменты (например, антигенсвязывающие фрагменты) любых из перечисленных выше, которые относятся к части полипептида тяжелой или легкой цепи антитела, которая сохраняет частичную или полную активность связывания антитела, из которого был взят фрагмент. К не имеющим ограничительного характера примерам функциональных фрагментов (например, антигенсвязывающих фрагментов) относятся одноцепочечные Fvs (scFv) (например, в том числе моноспецифические, биспецифические и т. д.), фрагменты Fab, фрагменты F(ab'), фрагменты $F(ab)_2$, фрагменты $F(ab')_2$, связанные дисульфидными мостиками Fvs (dsFv), фрагменты Fd, фрагменты Fv, диатело, триатело, тетратело и минитело. В частности, к антителам, обеспеченным в настоящем документе, относятся молекулы иммуноглобулина и проявляющие иммунологическую активность участки молекул иммуноглобулина, например, антигенсвязывающие домены или молекулы, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который связывается с антигеном (например, одна или более CDR антитела). Такие фрагменты антитела можно найти, например, в Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (1989); Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers ed., 1995); Huston et al., 1993, Cell Biophysics 22:189-224; Plückthun and Skerra, 1989, Meth. Enzymol. 178:497-515; и Day, Advanced Immunochemistry (2d ed. 1990). Приведенные в настоящем документе антитела могут относиться к любому классу (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA) или к любому подклассу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) молекулы иммуноглобулина. Антитела могут представлять собой агонистические антитела или антагонистические антитела. Антитела могут быть ни агонистическими, ни антагонистическими.

[00104] «Антиген» представляет собой структуру, с которой может избирательно связываться антитело. Целевым антигеном может быть полипептид, углевод, нуклеиновая кислота, липид, гаптен или другое природное или синтетическое соединение. В некоторых вариантах осуществления целевым антигеном является полипептид. В определенных вариантах осуществления антиген ассоциирован с клеткой, например находится на поверхности или внутри клетки.

[00105] «Интактное» антитело представляет собой антитело, содержащее антигенсвязывающий сайт, а также CL и по меньшей мере константные области тяжелой цепи, CH1, CH2 и CH3. Константные области могут включать человеческие константные области или варианты их аминокислотных последовательностей. В определенных вариантах осуществления интактное антитело обладает одной или более эффекторными

функциями.

[00106] Термины «антигенсвязывающий фрагмент», «антигенсвязывающий домен», «антигенсвязывающая область» и аналогичные термины относятся к той часть связывающей молекулы, которая включает аминокислотные остатки, взаимодействующие с антигеном, и обеспечивает специфичность связывающего агента и его аффинность к антигену (например, CDR). Используемый в настоящем документе термин «антигенсвязывающий фрагмент» включает «фрагмент антитела», который содержит часть интактного антитела, такой как антигенсвязывающая или вариабельная область интактного антитела. К примерам фрагментов антитела, без ограничений, относятся фрагменты Fab, Fab', $F(ab')_2$ и Fv; диатела и дидиатела (см., например., Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:6444-48; Lu et al., 2005, J. Biol. Chem. 280:19665-72; Hudson et al., 2003, Nat. Med. 9:129-34; WO 93/11161; и патенты США № 5,837,242 и 6,492,123); молекулы одноцепочечных антител (см., например, патенты США № 4,946,778; 5,260,203; 5,482,858; и 5,476,786); антитела с двойным вариабельным доменом (см., например, патент США № 7,612,181); антитела с одним вариабельным доменом (sdAbs) (см., например, Woolven et al., 1999, Immunogenetics 50: 98-101; и Streltsov et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA. 101:12444-49); и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

[00107] Используемый в настоящем документе термин «однодоменное антитело» или «sdAb» относится к единичному мономерному вариабельному домену антитела, который способен связывать антиген (например, однодоменное антитело, которое связывается с pIgR). К однодоменным антителам относятся домены VHH, как описано в настоящем документе. К примерам однодоменных антител, без ограничений, относятся антитела, по своей природе не содержащие легких цепей, такие как получаемые от верблюдовых (например, ламы), однодоменные антитела, полученные из традиционных 4-цепочечных антител, сконструированные антитела и однодоменные каркасы, кроме тех, которые получены из антител. Однодоменные антитела могут быть получены из любых видов, включая, без ограничений, мышь, человека, верблюда, ламу, козу, кролика и корову. Например, однодоменное антитело может быть получено из антител, культивированных у верблюдовых, например у верблюда, ламы, дромадера, альпаки и гуанако, как описано в настоящем документе. Другие виды, кроме верблюдовых, могут продуцировать тяжелоцепочечные антитела, по своей природе не содержащие легкой цепи; VHH, полученные из таких других видов, входят в объем описания. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело (например, VHH), обеспеченное в настоящем документе, имеет структуру FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Однодоменные антитела могут быть генетически слиты или химически конъюгированы с другой молекулой (например, агентом), как описано в настоящем документе.

[00108] Термины «связывается» или «связывание» относится к взаимодействию между молекулами, например, с образованием комплекса. К взаимодействиям могут относиться, например, нековалентные взаимодействия, в том числе водородные связи,

ионные связи, гидрофобные взаимодействия и/или ван-дер-Ваальсовские взаимодействия. Комплекс может также включать связывание двух или более молекул, удерживаемых вместе ковалентными или нековалентными связями, взаимодействиями или силами. Прочность всех нековалентных взаимодействий между единичным антигенсвязывающим сайтом в антителе и единичным эпитопом целевой молекулы, такой как антиген, представляет собой аффинность антитела или функционального фрагмента к этому эпитопу. Отношение скорости диссоциации (k_{off}) к скорости ассоциации (k_{on}) молекулы (например, антитела), связывающей моновалентный антиген (k_{off}/k_{on}), представляет собой константу диссоциации K_D, которая обратно пропорциональна аффинности. Чем меньше значение K_D, тем выше аффинность антитела. Значение K_D меняется для различных комплексов антитела и антигена и зависит от обеих констант k_{on} и k_{off}. Константу диссоциации K_D для антитела, обеспеченного в настоящем документе, можно определять с помощью любого способа, приведенного в настоящем документе, или любого другого способа, хорошо известного специалистам в данной области. Аффинность в одном сайте связывания не всегда отражает истинную прочность взаимодействия между антителом и антигеном. Когда сложные антигены, содержащие множество повторяющихся антигенных детерминант, например поливалентный антиген, входят в контакт с антителами, содержащими множество сайтов связывания, взаимодействие антитела с антигеном в одном сайте будет увеличивать вероятность взаимодействия на втором сайте. Прочность таких множественных взаимодействий между поливалентным антителом и антигеном называется авидностью.

[00109] Применяемые в отношении связывающих молекул, описанных в настоящем документе, такие термины, как «связываются с», «которые специфически связываются с», и аналогичные им термины также используются взаимозаменяемо в настоящем документе и относятся к связывающим молекулам антигенсвязывающих доменов, которые специфически связываются с антигеном, например полипептидом. Связывающая молекула или антигенсвязывающий домен, которые связываются или специфически связываются с антигеном, могут перекрестно-реагировать с родственными антигенами. В определенных вариантах осуществления связывающая молекула или антигенсвязывающий домен, которые связываются или специфически связываются с антигеном не вступают в перекрестную реакцию с другими антигенами. Связывающая молекула или антигенсвязывающий домен, которые связываются или специфически связываются с антигеном, могут быть идентифицированы, например, методами иммуноанализа, Octet®, Biacore® или другими методиками, известными специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления в тех случаях, когда связывающая молекула или антигенсвязывающий домен связываются или специфически связываются с антигеном, связываются с антигеном с более высокой аффинностью, чем с любым перекрестно-реагирующим антигеном, это может определяться с применением таких экспериментальных методик, как радиоиммунный анализ (РИА) и твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА). Как правило, специфическая или избирательная

реакция будет по меньшей мере в два раза превышать фоновый сигнал или шум, и может быть более чем в 10 раз. См., например, Fundamental Immunology 332-36 (Paul ed., 2d ed. 1989), где приводится обсуждение специфичности связывания. В определенных вариантах осуществления степень связывания связывающей молекулы или антигенсвязывающего домена с «нецелевым» белком менее около 10% связывания связывающей молекулы или антигенсвязывающего домена с их определенным целевым антигеном, например, как это определяется с помощью анализа с применением сортировки клеток с активацией флуоресценции (FACS) или РИА. Что касается таких терминов, как «специфическое связывание», «специфически связывается с» или «является специфичным для», они означают связывание, которое измеримым образом отличается от неспецифического взаимодействия. Специфическое связывание может измеряться, например, посредством определения связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы, которая обычно представляет собой молекулу аналогичной структуры, которая не проявляет активность связывания. Например, специфическое связывание может определяться по конкуренции с контрольной молекулой, которая подобна мишени, например, при избытке немеченной мишени. В данном случае специфическое связывание регистрируется, если связывание меченной мишени с зондом конкурентно ингибируется избытком немеченной мишени. К связывающей молекуле или антигенсвязывающему домену, которые связываются с антигеном, относятся те, которые способны связываться с антигеном с достаточной аффинностью, так что связывающую молекулу можно использовать, например, в качестве диагностического агента при направленном воздействии на антиген. В определенных вариантах осуществления константа диссоциации (K_D) связывающей молекулы или антигенсвязывающего домена, которые связываются с антигеном, составляет 800 нМ, 600 нМ, 550 нМ, 500 нМ, 300 нМ, 250 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ, 1 нМ, 0,9 нМ, 0,8 нМ, 0,7 нМ, 0,6 нМ, 0,5 нМ, 0,4 нМ, 0,3 нМ, 0,2 нМ или 0,1 нМ или менее. В определенных вариантах осуществления связывающая молекула или антигенсвязывающий домен связывается с эпитопом антигена, который является консервативным среди антигенов внутри различных видов (например, между человеком и яванским макаком).

[00110] «Аффинность связывания» обычно относится к прочности полной суммы нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, связывающего белка, такого как антитело) и его партнером связывания (например, антигеном). Если не указано иное, используемый в настоящем документе термин «аффинность связывания» относится к внутренней аффинности связывания, которая отражает взаимодействие 1 : 1 между участниками пары связывания (например, антителом и антигеном). Аффинность связывающей молекулы X к ее связывающему партнеру Y может обычно определяться константой диссоциации (K_D). Аффинность можно измерять с помощью известных в данной области способов, включая описанные в настоящем документе. Антитела с низкой аффинностью по существу связываются с антигеном медленно и легко диссоциируются, а высокоаффинные антитела по существу связываются

с антигеном быстрее и дольше сохраняют связь. В данной области известны различные способы измерения аффинности связывания, каждый из которых можно использовать для целей настоящего описания. К специфическим примерам вариантов осуществления относятся следующие. В одном варианте осуществления «K_D» или «значение K_D» может измеряться с помощью методов анализа, известных специалистам в области, например анализом связывания. K_D можно измерять с помощью РИА, например, выполняемого для варианта Fab представляющего интерес антитела и его антигена (Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293:865-81). K_D или значение K_D можно также измерять с применением анализов интерферометрии биослоя (BLI) или поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с помощью Octet®, с применением, например, системы Octet®Red96, или с помощью Biacore®, с применением, например, Biacore®TM-2000 или Biacore®TM-3000. «Скорость связывания», «скорость ассоциации», «константу ассоциации» или «kon» можно также определять с помощью тех же методик интерферометрии биослоя (BLI) или поверхностного плазмонного резонанса (SPR), описанных выше, с применением, например, Octet®Red96, Biacore®TM-2000 или системы Biacore®TM-3000.

[00111] В определенных вариантах осуществления связывающие молекулы или антигенсвязывающие домены могут содержать «химерные» последовательности, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентичен или гомологичен соответствующим последовательностям в антителах, полученных из конкретного вида или принадлежащих конкретному классу или подклассу антител, а оставшаяся часть цепи (-ей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, полученных из другого вида или принадлежащих другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител, если они обладают нужной биологической активностью (см. патент США № 4,816,567; и Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-55). Химерные последовательности могут включать гуманизированные последовательности.

[00112] В определенных вариантах осуществления связывающие молекулы или антигенсвязывающие домены могут содержать части «гуманизированных» форм нечеловеческих (например, верблюжьих, мышиных, нечеловеческого примата) антител, которые включают последовательности из человеческих иммуноглобулинов (например, антитела реципиента), где остатки нативной CDR заменены остатками соответствующей CDR видов, не относящихся к человеку (например, антитела донора), таких как верблюд, мышь, крыса, кролик или нечеловеческий примат, с желаемой специфичностью, аффинностью и способностью. В некоторых примерах один или более остатков FR области последовательностей человеческого иммуноглобулина заменяется соответствующими нечеловеческими остатками. Более того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которые отсутствуют в антителе реципиента или антителе донора. Эти модификации вносятся для еще большего улучшения показателей антитела. Тяжелая или легкая цепь гуманизированного антитела может включать по существу все из по меньшей мере одного или более вариабельных доменов, в которых все или по существу все CDR соответствуют таковым в иммуноглобулине от не относящегося к человеку

животного, а все или по существу все FR соответствуют таковым последовательности человеческого иммуноглобулина. В определенных вариантах осуществления гуманизированное антитело будет содержать по меньшей мере часть константной области (Fc) иммуноглобулина, как правило, человеческого иммуноглобулина. Более подробно см. Jones et al., 1986, Nature 321:522-25; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-29; Presta, 1992, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-96; Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89; патенты США №: 6,800,738; 6,719,971; 6,639,055; 6,407,213; и 6,054,297.

[00113] В определенных вариантах осуществления связывающие молекулы или антигенсвязывающие домены могут включать участки «полностью человеческого антитела» или «человеческого антитела», причем термины в настоящем документе используются взаимозаменяемо и относятся к антителу, которое содержит человеческую вариабельную область и, например, человеческую константную область. Связывающие молекулы могут содержать последовательность однодоменного антитела. В конкретных вариантах осуществления термины относятся к антителу, которое содержит вариабельную область и константную область человеческого происхождения. Термин «полностью человеческие» антитела в определенных вариантах осуществления может также включать антитела, которые связывают полипептиды и кодируются нуклеотидными последовательностями, которые представляют собой соматические варианты нуклеотидных последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека природного происхождения. Термин «полностью человеческое антитело» включает антитела с вариабельной и константной областями, соответствующим последовательностям иммуноглобулина зародышевой линии человека, как это описано Kabat et al. (См. Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). «Человеческое антитело» представляет собой антитело, аминокислотная последовательность которого соответствует последовательности антитела, продуцированного человеком и/или полученного с помощью любой из методик приготовления человеческих антител. Из данного определения человеческого антитела, в частности, исключено гуманизированное антитело, содержащее нечеловеческие антигенсвязывающие остатки. Человеческие антитела могут быть получены с помощью различных методик, известных в данной области, включая библиотеки фагового дисплея (Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol. 227:381; Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581) и библиотеки дрожжевого дисплея (Chao et al., 2006, Nature Protocols 1: 755-68). Кроме того, для получения человеческих моноклональных антител можно использовать способы, описанные в публикации Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77 (1985); Boerner et al., 1991, J. Immunol. 147(1):86-95; и van Dijk и van de Winkel, 2001, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74. Человеческие антитела можно получать путем введения антигена трансгенному животному, которое было модифицировано таким образом, чтобы продуцировать такие антитела в ответ на антигенную стимуляцию, но эндогенные локусы которого были деактивированы, например, у мышей (см., например, Jakobovits, 1995, Curr.

Opin. Biotechnol. 6(5):561-66; Brüggemann and Taussing, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8(4):455-58; и патентах США № 6,075,181 и 6,150,584 в отношении технологии XENOMOUSE™). См. также, например, Li et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:3557-62, где приведена информация о человеческих антителах, полученных посредством технологии человеческой В-клеточной гибридомы.

[00114] В определенных вариантах осуществления связывающие молекулы или антигенсвязывающие домены могут содержать участки «рекомбинантного человеческого антитела», причем формулировка относится к человеческим антителам, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными методами, такие как антитела, экспрессированные с применением рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяин, антитела, выделенные из рекомбинантной комбинаторной библиотеки человеческого антитела, антитела, выделенные из организма животного (например, мыши или коровы), которое является трансгенным и/или трансхромосомным для генов человеческого иммуноглобулина (см., например, Taylor, L. D. et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими средствами, которые включают сплайсинг последовательностей гена человеческого иммуноглобулина с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела могут включать вариабельную и константную области, полученные из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека (см. Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). Вместе с тем в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные антитела человека подвергаются мутагенезу in vitro (либо при использовании животных, трансгенных по иммуноглобулину человека, соматическому мутагенезу in vivo), и таким образом аминокислотные последовательности областей VH и VL рекомбинантных антител оказываются последовательностями, которые, хотя и получены из последовательностей VH и VL областей зародышевых линий человека и связаны с ними, могут отсутствовать в in vivo наборе последовательностей зародышевых линий человека природного происхождения.

[00115] В определенных вариантах осуществления связывающие молекулы или антигенсвязывающие домены могут содержать участок «моноклонального антитела», причем термин, используемый в настоящем документе, относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, например индивидуальные антитела, образующие популяцию, идентичны за исключением возможных мутаций природного происхождения, которые могут присутствовать в небольших количествах, или хорошо известных посттрансляционных модификаций, таких как изомеризация или деамидирование аминокислот, окисление метионина, или деамидирование аспарагина или глутамина, при этом каждое моноклональное антитело будет обычно распознавать один эпитоп на антигене. В конкретных вариантах осуществления используемый в настоящем документе термин «моноклональное антитело» относится к антителу, продуцируемому

одной гибридомой или другой клеткой. Термин «моноклональное» не носит ограничительного характера в отношении любого конкретного способа получения антитела. Например, моноклональные антитела, используемые в настоящем описании, могут быть получены с помощью гибридомной методологии, впервые описанной в работе Kohler et al., 1975, Nature 256:495, или могут быть приготовлены способами рекомбинантной ДНК в бактериальных или эукариотических животных или растительных клетках (см., например, патент США № 4,816,567). «Моноклональные антитела» могут также быть выделены из фаговых библиотек антител с применением методик, описанных в работах Clackson et al., 1991, Nature 352:624-28 и Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581-97 например. Специалистам в данной области хорошо известны другие способы получения клональных клеточных линий и экспрессируемых ими моноклональных антител. См., например, Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al. eds., 5th ed. 2002).

[00116] Обычная единица 4-цепочечного антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. В случае IgG масса 4-цепочечной единицы по существу составляет около 150 000 дальтон. Каждая L-цепь соединена с H-цепью посредством одной ковалентной дисульфидной связи, а две H-цепи соединены друг с другом посредством одной или более дисульфидных связей в зависимости от изотипа H-цепи. H- и L-цепи также имеют расположенные на одинаковом расстоянии межцепочечные дисульфидные мостики. Каждая H-цепь имеет N-конец, вариабельный домен (VH) с последующими тремя константными доменами (CH) в каждой из α- и γ-цепей и четырьмя доменами CH в изотипах μ и ε. Каждая L-цепь имеет N-конец, вариабельный домен (VL) с последующим константным доменом (CL) на другом конце. VL совмещен с VH, а CL совмещен с первым константным доменом тяжелой цепи (CH1). Считается, что конкретные аминокислотные остатки образуют границу раздела между вариабельными доменами легкой цепи и тяжелой цепи. Объединение в пару VH и VL образует один антигенсвязывающий сайт. О структуре и свойствах различных классов антител см., например, Basic and Clinical Immunology 71 (Stites et al. eds., 8th ed. 1994); и Immunobiology (Janeway et al. eds., 5th ed. 2001).

[00117] Термин «Fab» или «область Fab» относится к области антитела, которая связывается с антигенами. Традиционный IgG, как правило, содержит две области Fab, причем каждая из них находится в одном из двух плечей Y-образной структуры IgG. Каждая область Fab обычно образована одной вариабельной областью и одной константной областью каждой из тяжелой и легкой цепей. Более конкретно, вариабельная область и константная область тяжелой цепи в области Fab представляют собой области VH и CH1, а вариабельная область и константная область легкой цепи области Fab представляют собой области VL и CL. VH, CH1, VL и CL в области Fab могут быть организованы различным образом, чтобы обеспечивать способность связывать антиген в соответствии с настоящим описанием. Например, области VH и CH1 могут располагаться

в одном полипептиде, а области VL и CL могут находиться в другом полипептиде, подобно области Fab в традиционном IgG. В альтернативном варианте осуществления области VH, CH1, VL и CL могут находиться в одном и том же полипептиде и ориентированы в различном порядке, как это более подробно описано в разделах ниже.

[00118] Термин «вариабельная область», «вариабельный домен», «область V», или «домен V» относится к части легкой или тяжелой цепей антитела, которая обычно находится в аминоконцевом участке легкой или тяжелой цепи с длиной от около 120 до 130 аминокислот в тяжелой цепи и от около 100 до 110 аминокислот в легкой цепи, и используется для обеспечения связывания и специфичности каждого конкретного антитела по отношению к его конкретному антигену. Вариабельная область тяжелой цепи может обозначаться как «VH». Вариабельная область легкой цепи может обозначаться как «VL». Термин «вариабельный» фактически означает, что последовательности определенных сегментов вариабельных областей значительно различаются между антителами. Область V опосредует связывание с антигеном и определяет специфичность конкретного антитела к конкретному антигену. Вместе с тем вариабельность распределяется неравномерно по всему 110-аминокислотному участку вариабельной области. Напротив, области V содержат менее вариабельные (например, сравнительно инвариантные) участки, называемые каркасными областями (FR) из около 15-30 аминокислот, разделенные более короткими областями с более высокой вариабельностью (например, чрезвычайно высокой вариабельностью), называемые «гипервариабельными областями» в каждом случае длиной около 9-12 аминокислот. Вариабельные области тяжелых и легких цепей в каждом случае содержат четыре FR, по большей части принимающих конфигурацию β-листа, соединенных тремя гипервариабельными областями, которые образуют петли, соединяющие и в некоторых случаях образуют часть структуры β-листа. Гипервариабельные области каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости при помощи FR и, вместе с гипервариабельными области другой цепи, способствуют образованию антигенсвязывающего сайта антител (см., например, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (5th ed. 1991)). Константные области не участвуют напрямую в связывании антитела с антигеном, но проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и комплемент-зависимой цитотоксичности (CDC). Вариабельные области различных антител существенно отличаются друг от друга. В конкретных вариантах осуществления вариабельная область представляет собой человеческую вариабельную область.

[00119] Термин «нумерация остатков вариабельной области по Кабату» или «нумерация положений аминокислот по Кабату» и его варианты относятся к системе нумерации, используемой для вариабельных областей тяжелой цепи или вариабельных областей легкой цепи компиляции антител, описанных в Kabat et al, выше. При использовании данной системы нумерации фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньше или больше дополнительных аминокислот,

что соответствует укорочению или вставке в FR или CDR вариабельного домена. Например, вариабельная область тяжелой цепи может включать одну аминокислотную вставку (остаток 52a по Кабату) после остатка 52 и три вставленных остатка (например, остатки 82a, 82b и 82c и т. д. по Кабату) после остатка 82. Нумерация остатков по системе Кабата может быть определена для данного антитела путем совмещения в гомологичных областях последовательности антитела с последовательностью, имеющей «стандартный» номер по системе Кабата. Система нумерации по Кабату обычно используется при указании остатка в вариабельном домене (приблизительно остатки 1-107 легкой цепи и остатки 1-113 тяжелой цепи) (например, Kabat et al, выше). «Система нумерации по ЕС» или «индекс ЕС» по существу используется при указании остатка в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (например, индекс ЕС, упомянутый в работе Kabat et al, выше). «Индекс ЕС по Кабату» означает нумерацию остатков человеческого антитела IgG 1 ЕС. Описаны и другие системы нумерации, например AbM, по Чотиа, Contact, IMGT и AHon.

[00120] Термин «тяжелая цепь» при использовании в отношении антитела означает полипептидную цепь около 50-70 кДа, в которой аминоконцевая часть включает вариабельную область около от 120 до 130 или более аминокислот, а карбоксиконцевая часть включает константную область. Константная область может быть отнесена к одному из пяти четко различающихся типов (например, изотипов), обозначаемых как альфа (α), дельта (δ), эпсилон (ε), гамма (γ) и мю (μ), исходя из аминокислотной последовательности константной области тяжелой цепи. Различные тяжелые цепи отличаются размерами: α, δ и γ содержат приблизительно 450 аминокислот, тогда как μ и ε содержат приблизительно 550 аминокислот. При объединении с легкой цепью эти различные типы тяжелых цепей приводят к формированию пяти хорошо известных классов (например, изотипов) антител, IgA, IgD, IgE, IgG и IgM соответственно, в том числе четырех подклассов IgG, а именно, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[00121] Термин «легкая цепь» при использовании в отношении антитела означает полипептидную цепь около 25 кДа, в которой аминоконцевая часть включает вариабельную область около от 100 до около 110 или более аминокислот, а карбоксиконцевая часть включает константную область. Приблизительная длина легкой цепи составляет от 211 до 217 аминокислот. Выделяют два различных типа, называемых каппа (κ) или лямбда (λ) в зависимости от аминокислотной последовательности константных доменов.

[00122] Используемые в настоящем документе термины «гипервариабельная область», «HVR», «определяющая комплементарность область» и «CDR» используются взаимозаменяемо. Термин «CDR» относится к одной из трех гипервариабельных областей (H1, H2 или H3) в пределах некаркасной области β-складчатого каркаса VH иммуноглобулина (Ig или антитела) или одной из трех гипервариабельных областей (L1, L2 или L3) в пределах некаркасной области β-складчатого каркаса VL антитела. Соответственно, CDR представляют собой последовательности вариабельной области,

перемежающиеся с последовательностями каркасной области.

[00123] Области CDR хорошо известны специалистам в данной области, и их определяли с помощью хорошо известных систем нумерации. Например, определяющие комплементарность области (CDR) по Кабату выделяются на основании вариабельности последовательности и наиболее широко используются (см., например, Kabat et al, выше). Chothia между тем относится к расположению структурных петель (см., например, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17). Конец петли CDR-H1 по Чотиа при нумерации с применением системы нумерации по Кабату варьируется между H32 и H34 в зависимости от длины петли (это связано с тем, что в схеме нумерации по Кабату в позициях H35A и H35B размещены вставки; если ни одна из позиций 35A или 35B не присутствует, петля заканчивается на позиции 32; если присутствует только 35A, петля заканчивается на позиции 33; если присутствуют как 35A, так и 35B, петля заканчивается на позиции 34). Гипервариабельные области по AbM представляют собой компромисс между CDR по Кабату и структурными петлями по Чотиа и используются в программном обеспечении Oxford Molecular для моделирования антител по AbM (см., например, Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)). «Контактные» гипервариабельные области основаны на анализе доступных комплексных кристаллических структур. Другой разработанной и широко применяемой универсальной системой нумерации является ImMunoGeneTics (IMGT) Information System® (Lafranc et al., 2003, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77). IMGT представляет собой интегрированную информационную систему, специализирующуюся на иммуноглобулинах (IG), Т-клеточных рецепторах (TCR) и главном комплексе гистосовместимости (MHC) человека и других позвоночных. В данном документе CDR обозначают как по аминокислотной последовательности, так и по местоположению в легкой или тяжелой цепи. Поскольку «местоположение» CDR в структуре вариабельного домена иммуноглобулина сохраняется среди видов и присутствует в структурах, называемых петлями, используя системы нумерации, в которых последовательности вариабельного домена совмещаются в соответствии со структурными особенностями, можно легко идентифицировать остатки CDR и каркасной области. Эту информацию можно использовать для прививания и замены остатков CDR из иммуноглобулинов одного вида в акцепторную каркасную область, как правило, из человеческого антитела. Дополнительная система нумерации (AHon) была разработана Honegger and Plückthun, 2001, J. Mol. Biol. 309: 657-70. Соответствие между системами нумерации, включая, например, нумерацию по Кабату и уникальную систему нумерации IMGT, хорошо известно специалисту в данной области (см., например, Kabat, выше; Chothia and Lesk, выше; Martin, выше; Lefranc et al., выше). Остатки для каждой из этих гипервариабельных областей или CDR приводятся ниже.

Петля	Кабат	AbM	Чотиа	Contact	IMGT
CDR L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36	L27--L38
CDR L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55	L56--L65
CDR L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96	L105-L117

Петля	Кабат	AbM	Чотиа	Contact	IMGT
CDR H1	H31--H35B (Нумерация по Кабат)	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B	H27--H38
CDR H1	H31--H35 (Нумерация по Чотиа)	H26--H35	H26--H32	H30--H35	
CDR H2	H50--H65	H50--H58	H52--H56	H47--H58	H56--H65
CDR H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101	H105-H117

[00124] Границы конкретной CDR могут меняться в зависимости от схемы, используемой для идентификации. Поэтому, если не указано иное, термины «CDR» и «определяющая комплементарность область» конкретного антитела или его области, такой как вариабельная область, а также отдельные CDR (например, CDR-H1, CDR-H2) антитела или его области, следует понимать как включающие определяющую комплементарность область в соответствии с определением по любой из известных схем, описанных выше в настоящем документе. В некоторых случаях указывается схема идентификации конкретной CDR или нескольких CDR, например CDR в соответствии с определением по способу Кабата, Чотиа или Contact. В других случаях приводится конкретная аминокислотная последовательность CDR.

[00125] Гипервариабельные области могут содержать следующие «расширенные гипервариабельные области»: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2) и 89-97 или 89-96 (L3) в VL и 26-35 или 26-35A (H1), 50-65 или 49-65 (H2) и 93-102, 94-102 или 95-102 (H3) в VH.

[00126] Термин «константная область» или «константный домен» относится к карбокси-концевой части легкой и тяжелой цепи, которая непосредственно не участвует в связывании антитела с антигеном, но демонстрирует различные эффекторные функции, такие как взаимодействие с Fc-рецептором. Термин относится к части молекулы иммуноглобулина, имеющей более консервативную аминокислотную последовательность по сравнению с другой частью иммуноглобулина, то есть вариабельной областью, которая содержит антигенсвязывающий сайт. Константная область может содержать области CH1, CH2 и CH3 тяжелой цепи и область CL легкой цепи.

[00127] Термин «каркасная область» или «FR» относится к тем остаткам вариабельной области, фланкирующим CDR. Остатки FR присутствуют, например, в химерных, гуманизированных, человеческих, доменных антителах (например, однодоменных антителах), диателах, линейных антителах и биспецифических антителах. Остатки FR представляют собой остатки вариабельного домена, отличные от остатков гипервариабельной области или остатков CDR.

[00128] Термин «область Fc» в настоящем документе используется для определения участка C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая, например, Fc-области с нативной последовательностью, рекомбинантные Fc-области и вариантные Fc-области. Хотя границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулина могут

варьироваться, часто считается, что человеческая Fc-область тяжелой цепи IgG простирается от аминокислотного остатка в положении Cys226 или от Pro230 до С-конца. С-концевой лизин (остаток 447 согласно системе нумерации ЕС) Fc-области может быть удален, например, во время продукции или очистки антитела или посредством рекомбинантного создания нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител с удаленными у всех антител остатками K447, популяции антител с сохраненными остатками K447 и популяции антител, содержащие антитела как с удаленным, так и с сохраненным остатком K447. «Функциональная Fc-область» обладает «эффекторной функцией» Fc-области с нативной последовательностью. К примерам «эффекторной функции» относится связывание C1q; CDC; связывание с Fc-рецептором; ADCC; фагоцитоз; снижение экспрессии рецепторов клеточной поверхности (например, рецепторов B-клетки) и т. д. Для таких эффекторных функций обычно требуется комбинация Fc-области со связывающей областью или связывающим доменом (например, вариабельной областью или доменом антитела), и их можно оценивать с применением различных методов анализа, известных специалистам в данной области. «Вариантная Fc-область» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от Fc-области с нативной последовательностью по меньшей мере на одну модификацию аминокислоты (например, замена, добавление или делеция). В определенных вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с Fc-областью с нативной последовательностью или с Fc-областью нативного полипептида, например, от около одной до около десяти аминокислотных замен, или от около одной до около пяти аминокислотных замен в Fc-области с нативной последовательностью или в Fc-области нативного полипептида. Упомянутая в настоящем документе вариантная Fc-область может обладать по меньшей мере около 80% гомологией с Fc-областью с нативной последовательностью и/или с Fc-областью нативного полипептида, или по меньшей мере около 90% гомологией с ними, например по меньшей мере около 95% гомологией с ними.

[00129] Используемый в настоящем документе термин «эпитоп» является принятым в данной области определением и относится к локализованной области антигена, с которой может специфически связываться связывающаяся молекула (например, антитело, содержащее последовательность однодоменного антитела). Эпитоп может представлять собой линейный эпитоп или конформационный, нелинейный или прерывистый эпитоп. В случае полипептидного антигена эпитоп, например, может представлять собой смежные аминокислоты полипептида («линейный эпитоп»), или же эпитоп может включать аминокислоты из двух или более несвязных областей полипептида («конформационный», «нелинейный» или «прерывистый» эпитоп). Следует понимать, что, специалистам в области будет очевидно, что в общем случае линейный эпитоп может быть зависимым или независимым от вторичной, третичной или четвертичной структуры. Например, в некоторых вариантах осуществления связывающая

молекула связывается с группой аминокислот независимо от того, уложены ли они в природную трехмерную белковую структуру. В других вариантах осуществления для связывающей молекулы необходимо, чтобы аминокислотные остатки, образующие эпитоп, демонстрировали определенную конформацию (например, изгиб, скручивание, поворот или складку), чтобы обеспечить распознавание и связывание эпитопа.

[00130] Под терминами «усиливать» или «стимулировать», или «увеличивать», или «расширять», или «улучшать» в общем случае понимается способность рассматриваемой в настоящем документе композиции производить, оказывать или вызывать больший физиологический ответ (например, последующие эффекты) по сравнению с ответом, вызываемым либо несущей средой, либо контрольной молекулой/композицией. Измеряемый физиологический ответ может, без ограничений, включать увеличение прямого или обратного трансцитоза, кроме прочего очевидный на основе представлений в данной области и описания в настоящем документе. В определенных вариантах осуществления «увеличенное» или «повышенное» количество может быть «статистически значимым» количеством и может включать увеличение, которое в 1,1, 1,2, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30 или более раз (например, 500, 1000 раз) (включая все целые числа и десятичные доли между и выше 1, например 1,5, 1,6, 1,7, 1,8 и т. д.) превышает ответ, индуцируемый несущей средой или контрольной композицией.

[00131] Термины «полипептид», «пептид» и «белок» в настоящем документе используются взаимозаменяемо и относятся к полимерам из аминокислот любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты и может прерываться кислотами, не относящимися к аминокислотам. Термины также охватывают аминокислотный полимер, который был модифицирован естественным образом или посредством вмешательства; например, образование дисульфидной связи, гликозилирование, липидизация, ацетилирование, фосфорилирование или любая другая манипуляция или модификация. Определение также включает, например, полипептиды, содержащие один или более аналогов аминокислот, включая, без ограничений, не встречающиеся в природе аминокислоты, а также другие модификации, известные в данной области. Следует понимать, что поскольку полипептиды настоящего описания могут формироваться на основе антител или других представителей суперсемейства иммуноглобулинов, в определенных вариантах осуществления в качестве «полипептида» может выступать единичная цепь или две или более ассоциированных цепи.

[00132] Термин «вектор» относится к веществу, которое применяется для переноса или включает нуклеотидную последовательность, включая, например, нуклеотидную последовательность, кодирующую связывающую молекулу (например, антитело), как описано в настоящем документе, чтобы вводить нуклеотидную последовательность в клетку-хозяин. К векторам, которые могут быть применены, относятся, например, векторы экспрессии, плазмиды, фаговые векторы, вирусные векторы, эписомы и искусственные хромосомы, которые могут включать селективные последовательности или маркеры,

выполненные с возможностью стабильной интеграции в хромосому клетки-хозяина. Кроме того, векторы могут включать один или более селективных маркерных генов и подходящие последовательности управления экспрессией. Например, селективных маркерных генов, которые могут быть использованы в данном случае, например, обеспечивают устойчивость к антибиотикам или токсинам, дополняют ауксотропный дефицит или обеспечивают критически важные питательные вещества, отсутствующие в культуральной среде. Последовательности управления экспрессией могут включать конститутивные и индуцируемые промоторы, энхансеры транскрипции, терминаторы транскрипции и т. п., которые хорошо известны специалистам в области. В случае коэкспрессии двух или более нуклеиновых кислот (например, тяжелой и легкой цепи антитела или VH и VL антитела) обе молекулы нуклеиновых кислот могут быть вставлены, например, в один вектор экспрессии или в отдельные векторы экспрессии. В случае одного вектора экспрессии кодирующие нуклеиновые кислоты могут быть функционально связаны с одной общей последовательностью управления экспрессией или связаны с различными последовательностями управления экспрессией, например, одним индуцируемым промотором и одним конститутивным промотором. Введение молекул нуклеиновой кислоты в клетку-хозяин может быть подтверждено с применением способов, хорошо известных в данной области. К таким способам, например, относятся анализ нуклеиновой кислоты, такой как Норзерн-блоттинг или амплификация мРНК в полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноблоттинг для экспрессии генетических продуктов или другие приемлемые аналитические способы тестирования экспрессии введенной нуклеотидной последовательности или ее соответствующего генетического продукта. Специалистам в области будет очевидно, что молекулы нуклеиновых кислот экспрессируются в достаточных количествах для получения искомого продукта, и специалистам в области также будет очевидно, что уровни экспрессии могут быть оптимизированы для достижения достаточной экспрессии с применением способов, хорошо известных в данной области.

[00133] Используемый в настоящем документе термин «клетка-хозяин» относится к животному, такому как млекопитающее (например, человек).

[00134] Используемый в настоящем документе термин «клетка-хозяин» относится к определенной клетке субъекта, которая может быть трансфицирована молекулой нуклеиновой кислоты, и к потомкам или к потенциальным потомкам такой клетки. Потомки такой клетки могут не быть идентичными родительской клетке, трансфицированной молекулой нуклеиновой кислоты, по причине мутаций или воздействия окружающей среды, которые могут проявляться в последующих поколениях, или интеграции молекулы нуклеиновой кислоты в геном клетки-хозяина.

[00135] «Выделенной нуклеиновой кислотой» называется нуклеиновая кислота, например РНК, ДНК или смешанные нуклеиновые кислоты, которая по существу отделена от других геномных последовательностей ДНК, а также белков или комплексов, таких как рибосомы и полимеразы, которые в природе сопутствуют нативной

последовательности. «Выделенная» молекула нуклеиновой кислоты представляет собой отделенную от других молекул нуклеиновых кислот, присутствующих в природном источнике молекулы нуклеиновой кислоты. Кроме того, «выделенная» молекула нуклеиновой кислоты, в частности молекула кДНК, может в значительной мере быть свободна от другого клеточного материала или культуральной среды, когда она получена при использовании рекомбинантной методики, либо по существу не содержать химических предшественников или других химических веществ, когда она синтезирована химическим путем. В конкретном варианте осуществления выделяется или очищается одна или более молекул нуклеиновой кислоты, кодирующая однодоменное антитело или антитело в соответствии с описанием в настоящем документе. Термин охватывает последовательности нуклеиновых кислот, которые были извлечены из своей природной среды, а также включает изоляты рекомбинантной или клонированной ДНК и химически синтезированные аналоги или аналоги, биологически синтезированные гетерологическими системами. По существу чистая молекула может включать изолированные формы молекулы.

[00136] Термины «полинуклеотид» или «нуклеиновая кислота», которые применяют в настоящем документе как взаимозаменяемые, относятся к полимерам нуклеотидов любой длины и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут представлять собой дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды или основания и/или их аналоги, или любой субстрат, который может быть введен в полимер посредством ДНК- или РНК-полимеразы или путем реакции синтеза. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и их аналоги. Используемый в настоящем документе термин «олигонуклеотид» относится к коротким, по существу одноцепочечным синтетическим полинуклеотидам, которые по существу, но необязательно, имеют длину менее около 200 нуклеотидов. Термины «олигонуклеотид» и «полинуклеотид» не являются взаимоисключающими. Приведенное выше описание для полинуклеотидов в равной и полной степени применимо к олигонуклеотидам. Клетка, которая продуцирует связывающую молекулу настоящего описания, может представлять собой родительскую гибридомную клетку, а также бактериальные или эукариотические клетки-хозяева, в которые ввели нуклеиновые кислоты, кодирующие антитела. Если не указано иное, левый конец любой одноцепочечной полинуклеотидной последовательности, описанной в настоящем документе, является 5’-концом; левое направление двухцепочечных полинуклеотидных последовательностей называется 5’-направлением. Направление добавления от 5’ к 3’ формирующихся транскриптов РНК называется направлением транскрипции; области последовательности на цепочке ДНК с той же последовательностью, что и транскрипт РНК, которые представляют собой транскрипт РНК от 5’ к 5’ концу, называются «последовательностями против хода транскрипции»; области последовательности на цепочке ДНК с той же последовательностью, что и транскрипт РНК, которые представляют собой транскрипт РНК от 3’ к 3’ концу, называются «последовательностями

по ходу транскрипции».

[00137] Используемый в настоящем документе термин «функционально связанный» и аналогичные фразы (например, генетически слитый) при использовании в отношении нуклеиновых кислот или аминокислот означает функциональную связь нуклеотидных последовательностей или аминокислотных последовательностей соответственно, находящихся в функциональной связи друг с другом. Например, функционально связанные промотор, элементы энхансера, открытая рамка считывания, 5' и 3' UTR и последовательности терминатора обеспечивают безошибочную продукцию молекулы нуклеиновой кислоты (например, РНК). В некоторых вариантах осуществления функционально связанные элементы нуклеиновых кислот приводят к транскрипции открытой рамки считывания и, в конечном счете, к продукции полипептида (т. е. к экспрессии открытой рамки считывания). В другом примере функционально связанным полипептидом является тот, в котором функциональные домены разнесены на надлежащее расстояние друг от друга, чтобы обеспечить реализацию искомой функции для каждого домена.

[00138] Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемый» означает одобренный регулирующим органом федерального правительства или правительства штата или приведенный в Фармакопее США, Европейской фармакопее или других общепризнанных фармакопеях для применения на животных, и в частности на человеке.

[00139] «Эксципиент» означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или несущую среду, такие как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, растворитель или инкапсулирующий материал. К эксципиентам, например, относятся инкапсулирующие материалы или добавки, такие как ускорители всасывания, антиоксиданты, связующие вещества, буферы, носители, покрывающие агенты, красители, разбавители, вещества для улучшения распадаемости таблеток, эмульгаторы, вещества для повышения объема, наполнители, ароматизаторы, увлажнители, смазывающие вещества, отдушки, консерванты, пропелленты, антиадгезивы, стерилизующие агенты, подсластители, солюбилизаторы, смачивающие агенты и их смеси. Термин «эксципиент» может также относиться к разбавителю, адъюванту (например, адъювант Фрейнда (полный или неполный)) или к несущей среде.

[00140] В некоторых вариантах осуществления эксципиенты являются фармацевтически приемлемыми эксципиентами. Примеры фармацевтически приемлемых эксципиентов включают буферные растворы, такие как фосфат, цитрат и другие органические кислоты; антиоксиданты, в том числе аскорбиновая кислота; низкомолекулярные полипептиды (например, менее около 10 аминокислотных остатков); белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахарные

спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и PLURONICS™. Другие примеры фармацевтически приемлемых эксципиентов описаны в Remington and Gennaro, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990).

[00141] В одном варианте осуществления каждый компонент является «фармацевтически приемлемым» в смысле совместимости с другими ингредиентами фармацевтического состава и приемлемости для применения в контакте с тканью или органом людей или животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции, иммуногенности или других проблем или осложнений, в соответствии с приемлемым соотношением польза/риск. См., например, Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.; Rowe et al., Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009; Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd ed.; Ash and Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007; Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 2nd ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2009. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые эксципиенты не токсичны для клетки или млекопитающего, на которые они оказывают воздействие, в используемых дозах и концентрациях. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой водный раствор с забуференным pH.

[00142] В некоторых вариантах осуществления эксципиенты представляют собой стерильные жидкости, такие как вода или масла, включая получаемые из нефти, растительного, животного или синтетического происхождения, например арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т. п. Вода является примером эксципиента, когда композицию (например, фармацевтическая композиция) вводят внутривенно. Физиологические растворы, водный раствор декстрозы и растворы глицерина также можно использовать в качестве жидких эксципиентов, в частности в растворах для инъекций. Эксципиентом может также быть крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, глицеринмоностеарат, тальк, хлорид натрия, сухое снятое молоко, глицерин, пропилен, гликоль, вода, этанол и т. п. Если требуется, состав может также содержать небольшие количества смачивающих веществ, или эмульгаторов, или буферных веществ для поддержания pH. Композиции могут иметь форму растворов, суспензий, эмульсий, таблеток, пилюль, капсул, порошков, лекарственных составов с пролонгированным действием и т. п. Пероральные композиции, в том числе составы, могут включать стандартные эксципиенты, такие как относящиеся к фармацевтической категории маннит, лактоза, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, целлюлоза, карбонат магния и т. д.

[00143] Композиции, включающие фармацевтические соединения, могут содержать связывающую молекулу (например, антитело), например, в изолированной или очищенной форме, вместе с приемлемым количеством эксципиентов.

[00144] Используемый в настоящем документе термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» относится к количеству однодоменного антитела или терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, или фармацевтической композиции, обеспеченной в настоящем документе, которой достаточно для достижения желаемого результата.

[00145] Термины «субъект» и «пациент» могут использоваться взаимозаменяемо. При использовании в настоящем документе в определенных вариантах осуществления субъектом является млекопитающее, такое как не являющееся приматом (например, корова, свинья, лошадь, кошка, собака, крыса и т. д.) или являющееся приматом (например, обезьяна и человек). В конкретных вариантах осуществления субъектом является человек. В одном варианте осуществления субъект представляет собой млекопитающее, например человека, у которого диагностировано состояние или расстройство. В другом варианте осуществления субъектом является млекопитающее, например человек, подверженный риску развития состояния или расстройства.

[00146] «Вводить» или «введение» относится к процедуре инъекции или физической доставки иным образом вещества в том виде, в котором оно находится вне организма, в организм пациента, например посредством мукозальной, внутрикожной, внутривенной, внутримышечной доставки, и/или любым другим способом физической доставки, описанным в настоящем документе или известным в данной области.

[00147] Используемые в настоящем документе термины «лечить», «лечение» и «проведение лечения» означают снижение или облегчение прогрессирования, тяжести и/или продолжительности заболевания или состояния в результате введения одного или более лекарственного средства. Результат проведения лечения можно определять посредством оценки того, было ли достигнуто снижение, ослабление и/или смягчение одного или более симптомов, связанных с основным заболеванием, так что у пациента отмечается улучшение, несмотря на то что пациент может по-прежнему страдать от основного заболевания. Термин «проведение лечения» включает сдерживание и облегчение заболевания. Термин «сдерживать», «сдерживание» и «обеспечение сдерживания» относится к положительным эффектам, которые субъект получает по результатам терапии, которая необязательно приводит к излечению заболевания.

[00148] Термины «предотвращать», «предотвращающий» и «профилактика» относятся к снижению вероятности возникновения (или рецидива) заболевания, расстройства, состояния или связанного (-ых) симптома (-ов) (например, диабет или рак).

[00149] Термины «около» и «приблизительно» означают в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10%, в пределах 9%, в пределах 8%, в пределах 7%, в пределах 6%, в пределах 5%, в пределах 4%, в пределах 3%, в пределах 2%, в пределах 1% или менее от заданного значения или диапазона.

[00150] Используемые в настоящем описании и пунктах формулы изобретения формы единственного числа включают обозначения множественного числа, если иное четко не следует из контекста.

[00151] Следует понимать, что везде, где варианты осуществления в настоящем документе описаны с применением термина «содержащий», также предусмотрены иные аналогичные варианты осуществления, описанные с применением терминов «состоящий из» и/или «состоящий по существу из». Следует также понимать, что везде, где варианты осуществления в настоящем документе описаны с применением фразы «состоящий по существу из», также предусмотрены иные аналогичные варианты осуществления, описанные с применением терминов «состоящий из».

[00152] Термин «в пределах» при его использовании в фразе, как «в пределах от A до B» или «в пределах A-B» относится к диапазону, включающему A и B.

[00153] Термин «и/или» при использовании в фразе как «A и/или B» в настоящем документе предполагает включение и A, и B; A или B; A (отдельно); и B (отдельно). Аналогичным образом термин «и/или» при использовании в фразе как «A, B и/или C» предназначен для включения каждого из следующих вариантов осуществления: A, B и C; A, B или C; A или C; A или B; B или C; A и C; A и B; B и C; A (отдельно); B (отдельно); и C (отдельно).

5.2. Однодоменные антитела

5.2.1 Однодоменные антитела, нацеленные на pIgR

[00154] В настоящем документе обеспечены однодоменные антитела (например, домены VHH), способные связываться с рецептором полимерного иммуноглобулина (pIgR), который может выступать в качестве домена доставки для терапевтических агентов.

[00155] В различных вариантах осуществления однодоменные антитела (например, домены VHH), предлагаемые в настоящем документе, связываются с человеческим pIgR (Genbank ID: CR749533) (см. Turula, H. & Wobus, C.E. The Role of the Polymeric Immunoglobulin Receptor and Secretory Immunoglobulins during Mucosal Infection and Immunity. Viruses **10** (2018)). В других вариантах осуществления однодоменные антитела (например, домены VHH), предлагаемые в настоящем документе, связываются с мышиным pIgR.

[00156] Человеческий pIgR (hpIgR) представляет собой 82 кДа, однопроходной трансмембранный рецептор, содержащий внеклеточный домен (ECD) из 620 остатков, трансмембранный домен из 23 остатков и внутриклеточный домен из 103 остатков.

[00157] pIgR транспортирует растворимые полимерные формы IgA и IgM в апикальные мукозальные ткани из базальной стороны эпителия. Процесс транспорта полимерных иммуноглобулинов из базолатеральной на апикальную сторону называется трансцитозом. После трансцитоза pIgR ECD, который содержит пять доменов (секреторный компонент), протеолитически расщепляется и высвобождается в мукор вместе с IgA или без него. В дополнение к трансцитозу pIgR выполняет несколько различных функций, к которым, без ограничений, относятся обеспечение стабильности IgA, иммунная эксклюзия, противовоспалительные свойства и гомеостаз симбионтов в мукозальной иммунной системе.

[00158] Приблизительно 75% суммарной суточной продукции антитела относится к молекулам IgA. В организме человека существует два гена Cα, кодирующих подкласс IgA: IgA1 и IgA2 (аллотипы IgA2m(1) и (2)). В IgA1 присутствует удлиненная шарнирная область, отсутствующая в IgA2, который содержит несколько сайтов O-гликана и подвержен протеолитическому расщеплению. Эндогенный IgA присутствует в различных формах компартнмент-зависимым образом. Мономерный IgA (mIgA) является преобладающей формой в сыворотке (в концентрации 1-3 мг/мл), главным образом в виде IgA1 (примерно 90%), который продуцируется костным мозгом. Димерный IgA (dIgA) образуется посредством образования мостика S-S C-концевой части Fc-конца с J-цепью. Продукция dIgA локализована в участке-мишени воздействия, и его транспортируют вдоль мукозальной поверхности в секреты дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального трактов. Секреторный IgA (S-IgA) образуется посредством комплексообразования dIgA с внеклеточным доменом рецептора полимерного Ig (pIgR). Расщепление секреторного компонента (SC) на мукозальной поверхности эпителиальных клеток приводит к высвобождению S-IgA.

[00159] Рецептор полимерного иммуноглобулина (pIgR) связывается с растворимым димерным IgA посредством опосредованных Fc J-цепью взаимодействий. pIgR не связывается с молекулами IgG и не обеспечивает их транспорт через мукозный эпителий. Несмотря на то что у молекул IgG отсутствует механизм активного транспорта, нацеленного на просвет, формирование способности связываться с pIgR для IgG может опосредовать избирательный транспорт антител IgG в мукозальный просвет.

[00160] Структура pIgR приводится на Фиг. 6A. Схема механизма опосредованного pIgR транспорта приводится на Фиг. 6B. Экспрессия pIgR в различных органах показана на Фиг. 7.

[00161] Неожиданный результат настоящего описания заключается в том, что однодоменные антитела, предлагаемые в настоящем документе, транспортируются от апикальной поверхности к базолатеральной поверхности (обратный трансцитоз), а также от базолатеральной поверхности к апикальной поверхности (трансцитоз).

[00162] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело (например, домен VHH), предлагаемое в настоящем документе, конкурирует со связыванием IgA с pIgR. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело (например, домен VHH), обеспеченное в настоящем документе, стимулирует связывание IgA с pIgR. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет от 4 до 525 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет менее 525 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет менее 400 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет менее 350 нМ. В

некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет менее 300 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет менее 250 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет менее 200 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет менее 150 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет менее 100 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет менее 50 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет от 4 до 525 нМ. В некоторых вариантах осуществления K_D связывания однодоменного антитела (например, домена VHH), обеспеченного в настоящем документе, с pIgR составляет от 4 до 34 нМ. Эксперименты по интерферометрии биослоя, описанные в настоящем документе, указывают на 8 связывающих VHH доменов со значениями $K_D < 50$ нМ для связывания с внеклеточным доменом человеческого pIgR (см. таблицу 1).

[00163] В некоторых вариантах осуществления T_m однодоменного антитела (например, домена VHH) составляет от 53 до 77 °C. В некоторых вариантах осуществления T_m однодоменного антитела (например, домена VHH) составляет от 53,9 до 76,4 °C. В некоторых вариантах осуществления T_m однодоменного антитела (например, домена VHH) составляет от 61 до 77 °C. В некоторых вариантах осуществления T_m однодоменного антитела (например, домена VHH) составляет от 61 до 71 °C.

[00164] В некоторых вариантах осуществления значение EC50 для связывания однодоменного антитела (например, домена VHH) с клеткой MDCK-hpIgR составляет менее 10 нМ. Шесть таких связывающих молекул, содержащих домен VHH, описаны в таблице 1.

[00165] В одном аспекте в настоящем документе обеспечен домен VHH, который связывается с доменом 1 pIgR, причем домен VHH содержит последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 VHH2 или VHH3, описанную в настоящем документе. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления VHH домен, который связывается с доменом 1 pIgR, включает последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 из:

VHH2:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и

последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72) или TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83) или AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237); или

VHH3:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 2), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62);

ii) последовательность CDR1 GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), последовательность CDR2 NGGGI (SEQ ID NO: 41) или GGG (SEQ ID NO: 261) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73) или VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274);

iii) последовательность CDR1 GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), последовательность CDR2 INGGGIT (SEQ ID NO: 51) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84);

iv) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 165), последовательность CDR2 LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227); или

vi) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), последовательность CDR2 RINGGGITH (SEQ ID NO: 205) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238).

[00166] В одном аспекте в настоящем документе обеспечен домен VHH, который связывается с доменом 2 pIgR, причем домен VHH содержит последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 VHH4 или VHH6, описанную в настоящем документе. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления VHH домен, который связывается с доменом 2 pIgR, включает последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 из:

VHH4:

i) последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63);

ii) последовательность CDR1 GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), последовательность CDR2 DRIAT (SEQ ID NO: 42) или RIA (SEQ ID NO: 262) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 74) или LTA (SEQ ID NO: 275);

iii) последовательность CDR1 GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), последовательность CDR2 IDRIATT (SEQ ID NO: 52) и последовательность CDR3 NHPLTAR (SEQ ID NO: 85);

iv) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 217);

v) последовательность CDR1 SSNAMG (SEQ ID NO: 166), последовательность CDR2 WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196) и последовательность CDR3 NHPLTA (SEQ ID NO: 228); или

vi) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), последовательность CDR2 FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 239); или

VHH6:

i) последовательность CDR1 SDAMG (SEQ ID NO: 5), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 65);

ii) последовательность CDR1 GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), последовательность CDR2 SGGGT (SEQ ID NO: 44) или GGG (SEQ ID NO: 264) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 76) или LTS (SEQ ID NO: 277); или

iii) последовательность CDR1 GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), последовательность CDR2 ISGGGTT (SEQ ID NO: 54) и последовательность CDR3 NHPLTSR (SEQ ID NO: 87);

iv) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 219);

v) последовательность CDR1 SSDAMG (SEQ ID NO: 168), последовательность CDR2 WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198) и последовательность CDR3 NHPLTS (SEQ ID NO: 230); или

vi) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), последовательность CDR2 FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 241).

[00167] В одном аспекте в настоящем документе обеспечен домен VHH, который связывается с доменом 4-5 pIgR, причем домен VHH содержит последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 VHH5, VHH7, VHH9, VHH10 или VHH11, описанную в настоящем

документе. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления VHH домен, который связывается с доменом 4-5 pIgR, включает последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 из:

VHH5:

i) последовательность CDR1 SYAMG (SEQ ID NO: 4), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 64);

ii) последовательность CDR1 GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), последовательность CDR2 TWNGGT (SEQ ID NO: 43) или WNGG (SEQ ID NO: 263) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 75) или PFNQG (SEQ ID NO: 276);

iii) последовательность CDR1 GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), последовательность CDR2 ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86);

iv) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 218);

v) последовательность CDR1 SSYAMG (SEQ ID NO: 167), последовательность CDR2 FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 229); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), последовательность CDR2 AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 240);

VHH7:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 6), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66);

ii) последовательность CDR1 RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), последовательность CDR2 TGGGS (SEQ ID NO: 45) или GGG (SEQ ID NO: 265) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77) или VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278);

iii) последовательность CDR1 RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), последовательность CDR2 ITGGGST (SEQ ID NO: 55) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88);

iv) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 169), последовательность CDR2 LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231); или

vi) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), последовательность CDR2 RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209) и последовательность CDR3

MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242);

VHH9:

i) последовательность CDR1 TYRMG (SEQ ID NO: 7), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 67) или QRGY (SEQ ID NO: 271);

ii) последовательность CDR1 GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), последовательность CDR2 SWSGGS (SEQ ID NO: 46) или WSGG (SEQ ID NO: 266) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 78) или RG (SEQ ID NO: 279);

iii) последовательность CDR1 GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), последовательность CDR2 ISWSGGST (SEQ ID NO: 56) и последовательность CDR3 NDQRGY (SEQ ID NO: 89);

iv) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 221);

v) последовательность CDR1 STYRMG (SEQ ID NO: 170), последовательность CDR2 FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200) и последовательность CDR3 NDQRG (SEQ ID NO: 232); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), последовательность CDR2 AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 243);

VHH10:

i) последовательность CDR1 RYAMG (SEQ ID NO: 8), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 68);

ii) последовательность CDR1 GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), последовательность CDR2 SWSGSS (SEQ ID NO: 47) или WSGS (SEQ ID NO: 267) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 79) или PFNQG (SEQ ID NO: 280);

iii) последовательность CDR1 GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), последовательность CDR2 ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90);

iv) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 222);

v) последовательность CDR1 TRYAMG (SEQ ID NO: 171), последовательность CDR2 FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 233); или

vi) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), последовательность CDR2 AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 244); или

VHH11:

i) последовательность CDR1 FTTYRMG (SEQ ID NO: 258) или TYRMG (SEQ ID NO: 259), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69);

ii) последовательность CDR1 GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), последовательность CDR2 RWSGGR (SEQ ID NO: 48) или WSGG (SEQ ID NO: 268) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80) или LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281);

iii) последовательность CDR1 GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), последовательность CDR2 IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91);

iv) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223);

v) последовательность CDR1 TTYRMG (SEQ ID NO: 172), последовательность CDR2 FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234); или

vi) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182), последовательность CDR2 AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245).

[00168] В одном аспекте в настоящем документе обеспечен домен VHH, который связывается с доменом 5 pIgR, причем домен VHH содержит последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 VHH12, описанную в настоящем документе. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления VHH домен, который связывается с доменом 5 pIgR, включает последовательность CDR1, CDR2 и CDR3 из:

VHH12:

i) последовательность CDR1 FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70);

ii) последовательность CDR1 GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), последовательность CDR2 TWNGGS (SEQ ID NO: 49) или WNGG (SEQ ID NO: 269) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81) или RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282);

iii) последовательность CDR1 GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), последовательность CDR2 ITWNGGST (SEQ ID NO: 59) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92);

iv) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224);

v) последовательность CDR1 SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), последовательность CDR2 FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235); или

vi) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183), последовательность CDR2 SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

[00169] В некоторых вариантах осуществления однодоменные антитела, обеспеченные в настоящем документе, представляют собой домены VHH. Примеры доменов VHH получают, как описано ниже, и эти домены VHH (обозначаемые как mpIgR_011, hpIgR_021, hpIgR_073, hpIgR_175, hpIgR_181, hpIgR_198, hpIgR_201, hpIgR_221, hpIgR_225, hpIgR_250, hpIgR_266, mpIgR_338 и hpIgR_349) обладают некоторыми общими характеристиками последовательностей, как показано на Фиг. 13. Области подобия высококонсервативных последовательностей показаны желтым цветом. Как показано на Фиг. 14, mpIgR_011 представляет собой VHH1, hpIgR_021 представляет собой VHH3, hpIgR_073 представляет собой VHH4, hpIgR_175 представляет собой VHH5, hpIgR_181 представляет собой VHH6, hpIgR_198 представляет собой VHH7, hpIgR_201 представляет собой VHH8, hpIgR_221 представляет собой VHH9, hpIgR_225 представляет собой VHH10, hpIgR_250 представляет собой VHH11, hpIgR_266 представляет собой VHH12 и mpIgR_338 представляет собой VHH2.

[00170] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более последовательностей CDR любого из VHH1, VHH2, VHH3, VHH4, VHH5, VHH6, VHH7, VHH9, VHH10, VHH11 и VHH12.

[00171] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе обеспечено однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, имеющее следующую структуру: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, причем последовательности CDR выбраны из содержащихся в VHH1, VHH2, VHH3, VHH4, VHH5, VHH6, VHH7, VHH9, VHH10, VHH11 и VHH12.

[00172] Более конкретно, в настоящем документе обеспечено однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, имеющее следующую структуру: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, причем

(i) CDR1 имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SYRMG (SEQ ID NO: 1), INVMG (SEQ ID NO: 2), SNAMG (SEQ ID NO: 3), SYAMG (SEQ ID NO: 4), SDAMG (SEQ ID NO: 5), INVMG (SEQ ID NO: 6), TYRMG (SEQ ID NO: 7), RYAMG (SEQ ID NO: 8), FTTYRMG (SEQ ID NO: 258), TYRMG (SEQ ID NO: 259), FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), GTSVSSNAMG

(SEQ ID NO: 156), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), SSYRMG (SEQ ID NO: 164), SINVMG (SEQ ID NO: 165), SSNAMG (SEQ ID NO: 166), SSYAMG (SEQ ID NO: 167), SSDAMG (SEQ ID NO: 168), SINVMG (SEQ ID NO: 169), STYRMG (SEQ ID NO: 170), TRYAMG (SEQ ID NO: 171), TTYRMG (SEQ ID NO: 172), SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182), и GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183);

(ii) CDR2 имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39), DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40), WNGRGTY (SEQ ID NO: 260), NGGGI (SEQ ID NO: 41), GGG (SEQ ID NO: 261), DRIAT (SEQ ID NO: 42), TWNGGT (SEQ ID NO: 43), WNGG (SEQ ID NO: 263), SGGGT (SEQ ID NO: 44), GGG (SEQ ID NO: 264), TGGGS (SEQ ID NO: 45), GGG (SEQ ID NO: 265), SWSGGS (SEQ ID NO: 46), WSGG (SEQ ID NO: 266), SWSGSS (SEQ ID NO: 47), WSGS (SEQ ID NO: 267), RWSGGR (SEQ ID NO: 48), WSGG (SEQ ID NO: 268), TWNGGS (SEQ ID NO: 49), WNGG (SEQ ID NO: 269), IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50), IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270), INGGGIT (SEQ ID NO: 51), IDRIATT (SEQ ID NO: 52), ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53), ISGGGTT (SEQ ID NO: 54), ITGGGST (SEQ ID NO: 55), ISWSGGST (SEQ ID NO: 56), ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57), IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58), ITWNGGST (SEQ ID NO: 59), AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193), FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194), LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195), WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196), FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197), WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198), LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199), FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200), FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201), FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202), FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203), AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204), RINGGGITH (SEQ ID NO: 205), FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206), AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207), FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208), RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209), AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210), AISWSGSSAG (SEQ ID

NO: 211), AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) и SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213); и

(iii) CDR3 имеет аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62), PLTAR (SEQ ID NO: 63), DPFNQGY (SEQ ID NO: 64), PLTSR (SEQ ID NO: 65), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66), DQRGY (SEQ ID NO: 67), QRGY (SEQ ID NO: 271), DPFNQGY (SEQ ID NO: 68), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71), SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72), TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73), VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274), PLTAR (SEQ ID NO: 74), LTA (SEQ ID NO: 275), DPFNQGY (SEQ ID NO: 75), PFNQG (SEQ ID NO: 276), PLTSR (SEQ ID NO: 76), LTS (SEQ ID NO: 277), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77), VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278), DQRGY (SEQ ID NO: 78), RG (SEQ ID NO: 279), DPFNQGY (SEQ ID NO: 79), PFNQG (SEQ ID NO: 280), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80), LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81), RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282), CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82), AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283), CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83), AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284), KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84), NHPLTAR (SEQ ID NO: 85), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86), NHPLTSR (SEQ ID NO: 87), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88), NDQRGY (SEQ ID NO: 89), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91), AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216), PLTAR (SEQ ID NO: 217), DPFNQGY (SEQ ID NO: 218), PLTSR (SEQ ID NO: 219), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220), QRGY (SEQ ID NO: 221), DPFNQGY (SEQ ID NO: 222), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224), AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225), AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226), KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227), NHPLTA (SEQ ID NO: 228), AADPFNQG (SEQ ID NO: 229), NHPLTS (SEQ ID NO: 230), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231), NDQRG (SEQ ID NO: 232), AADPFNQG (SEQ ID NO: 233), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234), AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238), PLTAR (SEQ ID NO: 239), DPFNQGY (SEQ ID NO: 240), PLTSR (SEQ ID NO: 241), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242), QRGY (SEQ ID NO: 243), DPFNQGY (SEQ ID NO: 244), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245) и ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

[00173] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе обеспечено однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, содержащее вариабельную область (например, VH), содержащую CDR1, CDR2 и CDR3 любого из антител, как показано в

таблице 1.

[00174] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 2). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR1 SYAMG (SEQ ID NO: 4). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR1 SDAMG (SEQ ID NO: 5). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 6). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR1 TYRMG (SEQ ID NO: 7). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR1 RYAMG (SEQ ID NO: 8). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR1 TYRMG (SEQ ID NO: 259). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR1 FNTYAMG (SEQ ID NO: 9).

[00175] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10). В различных вариантах

осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR1 GSIFSIN (SEQ ID NO: 11). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR1 GTSVSSN (SEQ ID NO: 12). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR1 GRTFSSY (SEQ ID NO: 13). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR1 GSSVSSD (SEQ ID NO: 14). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR1 RSIGSIN (SEQ ID NO: 15). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR1 GRTFSTY (SEQ ID NO: 16). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR1 GFTFTRY (SEQ ID NO: 17). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR1 GRTFTTY (SEQ ID NO: 18). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR1 GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19).

[00176] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR1 GSIFSINV (SEQ ID NO: 21). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR1 GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело

содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR1 GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR1 GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR1 RSIGSINV (SEQ ID NO: 25). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR1 GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR1 GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR1 GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR1 GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29).

[00177] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH7, например

последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR1 RYAMG GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163).

[00178] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR1 GLTFSSY SSYRMG (SEQ ID NO: 164). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 165). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR1 SSNAMG (SEQ ID NO: 166). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR1 SSYAMG (SEQ ID NO: 167). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR1 SSDAMG (SEQ ID NO: 168). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 169). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR1 STYRMG (SEQ ID NO: 170). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR1 TRYAMG (SEQ ID NO: 171). В различных вариантах

осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR1 TTYRMG (SEQ ID NO: 172). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR1 SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173).

[00179] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183).

[00180] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе

аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39).

[00181] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело

содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR2 NGGGI (SEQ ID NO: 41) или GGG (SEQ ID NO: 261). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR2 DRIAT (SEQ ID NO: 42) или RIA (SEQ ID NO: 262). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR2 TWNGGT (SEQ ID NO: 43) или WNGG (SEQ ID NO: 263). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR2 SGGGT (SEQ ID NO: 44) или GGG (SEQ ID NO: 264). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR2 TGGGS (SEQ ID NO: 45) или GGG (SEQ ID NO: 265). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR2 SWSGGS (SEQ ID NO: 46) или WSGG (SEQ ID NO: 266). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR2 SWSGGS (SEQ ID NO: 47) или WSGS (SEQ ID NO: 267). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR2 RWSGGR (SEQ ID NO: 48) или WSGG (SEQ ID NO: 268). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR2 TWNGGS (SEQ ID NO: 49) или WNGG (SEQ ID NO: 269).

[00182] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR2 INGGGIT (SEQ ID NO: 51). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR2 IDRIATT (SEQ ID NO: 52). В различных вариантах

осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR2 ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR2 ISGGGTT (SEQ ID NO: 54). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR2 ITGGGST (SEQ ID NO: 55). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR2 ISWSGGST (SEQ ID NO: 56). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR2 ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR2 IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR2 ITWNGGST (SEQ ID NO: 59).

[00183] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов

однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193).

[00184] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR2 LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR2 WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR2 FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR2 WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR2 LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR2 FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH10, например

последовательность CDR2 FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR2 FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR2 FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203).

[00185] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR2 RINGGGITH (SEQ ID NO: 205). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR2 FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR2 AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR2 FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR2 RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR2 AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR2 AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR2 AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR2, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR2 SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213).

[00186] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 64). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 65). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 67) или QRGY (SEQ ID NO: 271). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 68). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70).

[00187] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71) или SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72) или TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273). В

различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73) или VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 74) или LTA (SEQ ID NO: 275). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 75) или PFNQG (SEQ ID NO: 276). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 76) или LTS (SEQ ID NO: 277). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77) или VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 78) или RG (SEQ ID NO: 279). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 79) или PFNQG (SEQ ID NO: 280). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80) или LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81) или RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282).

[00188] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR3 CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82) или AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR3 CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83) или AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR3 KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84). В

различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR3 NHPLTAR (SEQ ID NO: 85). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR3 NHPLTSR (SEQ ID NO: 87). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR3 NDQRGY (SEQ ID NO: 89). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92).

[00189] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 217). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 218). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело

содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 219). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 221). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 222). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224).

[00190] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR3 AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR3 AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR3 KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR3 NHPLTA (SEQ ID NO: 228). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 229). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR3 NHPLTS (SEQ ID NO: 230). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH9,

например последовательность CDR3 NDQRG (SEQ ID NO: 232). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 233). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235).

[00191] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH1, например последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH2, например последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH3, например последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH4, например последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 239). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH5, например последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 240). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH6, например последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 241). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH7, например последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH9, например последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 243). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH10, например последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 244). В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH11, например последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245). В

различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит последовательность CDR3, присутствующую в VHH12, например последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

[00192] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из:

a) VHH2:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72) или TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83) или AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237);

b) VHH3:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 2), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62);

ii) последовательность CDR1 GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), последовательность CDR2 NGGGI (SEQ ID NO: 41) или GGG (SEQ ID NO: 261) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73) или VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274);

iii) последовательность CDR1 GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), последовательность CDR2 INGGGIT (SEQ ID NO: 51) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84);

iv) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185) и последовательность CDR3

DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 165), последовательность CDR2 LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227); или

vi) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), последовательность CDR2 RINGGGITH (SEQ ID NO: 205) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238);

c) VHH4:

i) последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63);

ii) последовательность CDR1 GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), последовательность CDR2 DRIAT (SEQ ID NO: 42) или RIA (SEQ ID NO: 262) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 74) или LTA (SEQ ID NO: 275);

iii) последовательность CDR1 GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), последовательность CDR2 IDRIATT (SEQ ID NO: 52) и последовательность CDR3 NHPLTAR (SEQ ID NO: 85);

iv) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 217);

v) последовательность CDR1 SSNAMG (SEQ ID NO: 166), последовательность CDR2 WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196) и последовательность CDR3 NHPLTA (SEQ ID NO: 228); или

vi) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), последовательность CDR2 FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 239);

d) VHH5:

i) последовательность CDR1 SYAMG (SEQ ID NO: 4), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 64);

ii) последовательность CDR1 GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), последовательность CDR2 TWNGGT (SEQ ID NO: 43) или WNGG (SEQ ID NO: 263) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 75) или PFNQG (SEQ ID NO: 276);

iii) последовательность CDR1 GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), последовательность CDR2 ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86);

iv) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 218);

v) последовательность CDR1 SSYAMG (SEQ ID NO: 167), последовательность

CDR2 FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 229); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), последовательность CDR2 AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 240);

e) VHH6:

i) последовательность CDR1 SDAMG (SEQ ID NO: 5), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 65);

ii) последовательность CDR1 GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), последовательность CDR2 SGGGT (SEQ ID NO: 44) или GGG (SEQ ID NO: 264) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 76) или LTS (SEQ ID NO: 277);

iii) последовательность CDR1 GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), последовательность CDR2 ISGGGTT (SEQ ID NO: 54) и последовательность CDR3 NHPLTSR (SEQ ID NO: 87);

iv) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 219);

v) последовательность CDR1 SSDAMG (SEQ ID NO: 168), последовательность CDR2 WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198) и последовательность CDR3 NHPLTS (SEQ ID NO: 230); или

vi) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), последовательность CDR2 FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 241);

f) VHH7:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 6), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66);

ii) последовательность CDR1 RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), последовательность CDR2 TGGGS (SEQ ID NO: 45) или GGG (SEQ ID NO: 265) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77) или VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278);

iii) последовательность CDR1 RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), последовательность CDR2 ITGGGST (SEQ ID NO: 55) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88);

iv) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 169), последовательность CDR2 LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199) и последовательность CDR3

ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231); или

vi) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), последовательность CDR2 RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242);

g) VHH9:

i) последовательность CDR1 TYRMG (SEQ ID NO: 7), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 67) или QRGY (SEQ ID NO: 271);

ii) последовательность CDR1 GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), последовательность CDR2 SWSGGS (SEQ ID NO: 46) или WSGG (SEQ ID NO: 266) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 78) или RG (SEQ ID NO: 279);

iii) последовательность CDR1 GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), последовательность CDR2 ISWSGGST (SEQ ID NO: 56) и последовательность CDR3 NDQRGY (SEQ ID NO: 89);

iv) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 221);

v) последовательность CDR1 STYRMG (SEQ ID NO: 170), последовательность CDR2 FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200) и последовательность CDR3 NDQRG (SEQ ID NO: 232); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), последовательность CDR2 AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 243);

h) VHH10:

i) последовательность CDR1 RYAMG (SEQ ID NO: 8), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 68);

ii) последовательность CDR1 GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), последовательность CDR2 SWSGSS (SEQ ID NO: 47) или WSGS (SEQ ID NO: 267) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 79) или PFNQG (SEQ ID NO: 280);

iii) последовательность CDR1 GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), последовательность CDR2 ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90);

iv) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 222);

v) последовательность CDR1 TRYAMG (SEQ ID NO: 171), последовательность CDR2 FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 233); или

vi) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181),

последовательность CDR2 AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 244);

i) VHH11:

i) последовательность CDR1 FTTYRMG (SEQ ID NO: 258) или TYRMG (SEQ ID NO: 259), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69);

ii) последовательность CDR1 GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), последовательность CDR2 RWSGGR (SEQ ID NO: 48) или WSGG (SEQ ID NO: 268) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80) или LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281);

iii) последовательность CDR1 GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), последовательность CDR2 IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91);

iv) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223);

v) последовательность CDR1 TTYRMG (SEQ ID NO: 172), последовательность CDR2 FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234); или

vi) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182), последовательность CDR2 AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245); и

j) VHH12:

i) последовательность CDR1 FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70);

ii) последовательность CDR1 GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), последовательность CDR2 TWNGGS (SEQ ID NO: 49) или WNGG (SEQ ID NO: 269) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81) или RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282);

iii) последовательность CDR1 GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), последовательность CDR2 ITWNGGST (SEQ ID NO: 59) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92);

iv) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224);

v) последовательность CDR1 SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), последовательность CDR2 FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235); или

vi) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183), последовательность CDR2 SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213) и последовательность CDR3

ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

[00193] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60); ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71) или SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272); iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82) или AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283); iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR 2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214); v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225); и vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236).

[00194] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61); ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72) или TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273); iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83) или AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284); iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215); v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226); и vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2

AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237).

[00195] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 2), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62); ii) последовательность CDR1 GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), последовательность CDR2 NGGGI (SEQ ID NO: 41) или GGG (SEQ ID NO: 261) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73) или VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274); iii) последовательность CDR1 GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), последовательность CDR2 INGGGIT (SEQ ID NO: 51) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84); iv) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216); v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 165), последовательность CDR2 LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227); и vi) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), последовательность CDR2 RINGGGITH (SEQ ID NO: 205) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238).

[00196] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63); ii) последовательность CDR1 GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), последовательность CDR2 DRIAT (SEQ ID NO: 42) или RIA (SEQ ID NO: 262) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 74) или LTA (SEQ ID NO: 275); iii) последовательность CDR1 GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), последовательность CDR2 IDRIATT (SEQ ID NO: 52) и последовательность CDR3 NHPLTAR (SEQ ID NO: 85); iv) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 217); v) последовательность CDR1 SSNAMG (SEQ ID NO: 166), последовательность CDR2 WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196) и последовательность CDR3 NHPLTA (SEQ ID NO: 228); и vi) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), последовательность CDR2 FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 239).

[00197] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела,

выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 SYAMG (SEQ ID NO: 4), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 64); ii) последовательность CDR1 GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), последовательность CDR2 TWNGGT (SEQ ID NO: 43) или WNGG (SEQ ID NO: 263) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 75) или PFNQG (SEQ ID NO: 276); iii) последовательность CDR1 GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), последовательность CDR2 ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86); iv) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 218); v) последовательность CDR1 SSYAMG (SEQ ID NO: 167), последовательность CDR2 FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 229); и vi) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), последовательность CDR2 AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 240).

[00198] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 SDAMG (SEQ ID NO: 5), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 65); ii) последовательность CDR1 GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), последовательность CDR2 SGGGT (SEQ ID NO: 44) или GGG (SEQ ID NO: 264) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 76) или LTS (SEQ ID NO: 277); iii) последовательность CDR1 GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), последовательность CDR2 ISGGGTT (SEQ ID NO: 54) и последовательность CDR3 NHPLTSR (SEQ ID NO: 87); iv) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 219); v) последовательность CDR1 SSDAMG (SEQ ID NO: 168), последовательность CDR2 WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198) и последовательность CDR3 NHPLTS (SEQ ID NO: 230); и vi) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), последовательность CDR2 FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 241).

[00199] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 6), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66); ii) последовательность CDR1 RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), последовательность CDR2 TGGGS (SEQ ID NO: 45) или GGG (SEQ ID NO: 265) и последовательность CDR3

MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77) или VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278); iii) последовательность CDR1 RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), последовательность CDR2 ITGGGST (SEQ ID NO: 55) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88); iv) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220); v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 169), последовательность CDR2 LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231); и vi) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), последовательность CDR2 RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242).

[00200] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 TYRMG (SEQ ID NO: 7), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 67) или QRGY (SEQ ID NO: 271); ii) последовательность CDR1 GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), последовательность CDR2 SWSGGS (SEQ ID NO: 46) или WSGG (SEQ ID NO: 266) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 78) или RG (SEQ ID NO: 279); iii) последовательность CDR1 GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), последовательность CDR2 ISWSGGST (SEQ ID NO: 56) и последовательность CDR3 NDQRGY (SEQ ID NO: 89); iv) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 221); v) последовательность CDR1 STYRMG (SEQ ID NO: 170), последовательность CDR2 FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200) и последовательность CDR3 NDQRG (SEQ ID NO: 232); и vi) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), последовательность CDR2 AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 243).

[00201] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 RYAMG (SEQ ID NO: 8), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 68); ii) последовательность CDR1 GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), последовательность CDR2 SWSGSS (SEQ ID NO: 47) или WSGS (SEQ ID NO: 267) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 79) или PFNQG (SEQ ID NO: 280); iii) последовательность CDR1 GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), последовательность CDR2 ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90); iv) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID

NO: 161), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 222); v) последовательность CDR1 TRYAMG (SEQ ID NO: 171), последовательность CDR2 FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 233); и vi) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), последовательность CDR2 AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 244).

[00202] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 FTTYRMG (SEQ ID NO: 258) или TYRMG (SEQ ID NO: 259), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69); ii) последовательность CDR1 GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), последовательность CDR2 RWSGGR (SEQ ID NO: 48) или WSGG (SEQ ID NO: 268) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80) или LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281); iii) последовательность CDR1 GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), последовательность CDR2 IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91); iv) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223); v) последовательность CDR1 TTYRMG (SEQ ID NO: 172), последовательность CDR2 FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234); и vi) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182), последовательность CDR2 AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245).

[00203] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из: i) последовательности CDR1 FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70); ii) последовательность CDR1 GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), последовательность CDR2 TWNGGS (SEQ ID NO: 49) или WNGG (SEQ ID NO: 269) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81) или RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282); iii) последовательность CDR1 GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), последовательность CDR2 ITWNGGST (SEQ ID NO: 59) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92); iv) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193) и последовательность CDR3

ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224); v) последовательность CDR1 SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), последовательность CDR2 FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235); и vi) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183), последовательность CDR2 SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

[00204] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более областей CDR из VHH1.

[00205] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 93. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 93. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. Как описано выше, области CDR хорошо известны специалистам в данной области, и их определяли с помощью хорошо известных систем нумерации. Остатки для каждой из этих гипервариабельных областей или CDR приводятся выше в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00206] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более областей CDR из VHH2.

[00207] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 94. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными

последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 94. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00208] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более областей CDR из VHH3.

[00209] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 95. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 95. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00210] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более областей CDR из VHH4.

[00211] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет

CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 96. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 96. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00212] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более областей CDR из VHH5.

[00213] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 97. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 97. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах

осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00214] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более областей CDR из VHH6.

[00215] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 98. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 98. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00216] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более областей CDR из VHH7.

[00217] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 99. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в

SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 99. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00218] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более областей CDR из VHH9.

[00219] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 100. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 100. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00220] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит одну или более областей CDR из VHH10.

[00221] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 101. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 101. В некоторых

вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 101. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00222] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, содержит одну или более областей CDR из VHH11.

[00223] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 102. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 102. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00224] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем

документе однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, содержит одну или более областей CDR из VHH12.

[00225] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 с аминокислотной последовательностью CDR1, которая определена в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 с аминокислотной последовательностью CDR2, которая определена в SEQ ID NO: 103. В других вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR3 с аминокислотной последовательностью CDR3, которая определена в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR2 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR2, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело имеет CDR1, CDR2 и CDR3 с аминокислотными последовательностями CDR1, CDR2 и CDR3, которые определены в SEQ ID NO: 103. Последовательности CDR могут определяться в соответствии с хорошо известными системами нумерации. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Кабату. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по AbM. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Чотиа. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по Contact. В некоторых вариантах осуществления нумерация CDR приводится по IMGT.

[00226] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело дополнительно содержит одну или более каркасных областей VHH1, VHH2, VHH3, VHH4, VHH5, VHH6, VHH7, VHH9, VHH10, VHH11 и VHH12.

[00227] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93).

[00228] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94).

[00229] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH,

имеющего последовательность QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV TVSS (SEQ ID NO: 95).

[00230] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 96).

[00231] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 97).

[00232] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 98).

[00233] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99).

[00234] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 100).

[00235] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 101).

[00236] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102).

[00237] В различных вариантах осуществления описанных в настоящем документе аспектов однодоменное антитело содержит каркас, полученный из домена VHH, имеющего последовательность QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

[00238] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в

настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 93. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 93. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 93.

[00239] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с

аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 94. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 94. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 94.

[00240] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID

NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 95. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 95. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 95.

[00241] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе

однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 96. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 96. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 96.

[00242] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными

последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 97. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 97. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 97.

[00243] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 98. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 98. В

некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 98. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 98.

[00244] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 99. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное

антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 99. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 99.

[00245] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 100. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и

FR4, которые определены в SEQ ID NO: 100. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 100.

[00246] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 101. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 101. В конкретных вариантах осуществления

предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 101.

[00247] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 102. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 102. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и

FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 102.

[00248] В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 с аминокислотной последовательностью FR1, которая определена в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 с аминокислотной последовательностью FR2, которая определена в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 с аминокислотной последовательностью FR3, которая определена в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR4 с аминокислотной последовательностью FR4, которая определена в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR2 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR2, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR3 и FR24, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR3 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR3, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR2 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR1, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR2, FR3 и FR4 с аминокислотными последовательностями FR2, FR3 и FR4, которые определены в SEQ ID NO: 103. В конкретных вариантах осуществления предлагаемое в настоящем документе однодоменное антитело содержит FR1, FR2, FR3 и FR4, имеющее аминокислотные последовательности FR1, FR2, FR3 и FR4, которые

определены в SEQ ID NO: 103.

[00249] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело, обеспеченное в настоящем документе, представляет собой гуманизированное однодоменное антитело.

[00250] Каркасные области, описанные в настоящем документе, определяются на основании границ системы нумерации CDR. Иными словами, если CDR определяются, например, по Кабату, по IMGT или по Чотиа, границами каркасных областей являются аминокислотные остатки, окружающие CDR в вариабельной области в формате от N-конца к С-концу: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Например, FR1 определяется аминокислотными остатками от N-конца до аминокислотных остатков CDR1 в соответствии с определением, например, системы нумерации по Кабату, системы нумерации по IMGT или системы нумерации по Чотиа, FR2 определяется аминокислотными остатками между аминокислотными остатками CDR1 и CDR2 в соответствии с определением, например, системы нумерации по Кабату, системы нумерации по IMGT или системы нумерации по Чотиа, FR3 определяется аминокислотными остатками между аминокислотными остатками CDR2 и CDR3 в соответствии с определением, например, системы нумерации по Кабату, системы нумерации по IMGT или системы нумерации по Чотиа, и FR4 определяется аминокислотными остатками от С-конца до аминокислотных остатков CDR3 в соответствии с определением, например, системы нумерации по Кабату, системы нумерации по IMGT или системы нумерации по Чотиа.

[00251] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDW NGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYG GMDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93).

[00252] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDW NGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRV LNEYATWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94).

[00253] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGG GITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQ GTQVTVSS (SEQ ID NO: 95).

[00254] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDR IATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTV

SS (SEQ ID NO: 96).

[00255] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITW NGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGT QVTVSS (SEQ ID NO: 97).

[00256] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISG GGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTV SS (SEQ ID NO: 98).

[00257] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITG GGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVR EIPDYDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99).

[00258] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISW SGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 100).

[00259] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISW SGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGT QVTVSS (SEQ ID NO: 101).

[00260] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRW SGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPA DSPAGYDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102).

[00261] В некоторых конкретных вариантах осуществления однодоменное антитело содержит последовательность

QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASIT WNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFP ANYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

[00262] В определенных вариантах осуществления описанные в настоящем документе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит аминокислотные последовательности с определенным процентом идентичности по отношению к любому из антител VHH1, VHH2, VHH3, VHH4, VHH5, VHH6, VHH7, VHH9, VHH10, VHH11 и

VHH12.

[00263] Определение процента идентичности двух последовательностей (например, аминокислотных последовательностей или нуклеотидных последовательностей) можно осуществлять с помощью математического алгоритма. Предпочтительным не имеющим ограничительного характера примером математического алгоритма, используемого для сопоставления двух последовательностей, является алгоритм Karlin and Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264 2268, с модификациями как в Karlin and Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873 5877. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST из Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403. Поиск нуклеотидов в BLAST можно выполнять с применением набора параметров программы NBLAST для нуклеотидов, например «счет»=100, «длина слова»=12, чтобы получать нуклеотидные последовательности, гомологичные молекулам нуклеиновых кислот, описанных в настоящем документе. Поиск для белков в BLAST можно выполнять с применением набора параметров программы XBLAST, например, для «счет»=50, «длина слова»=3, чтобы получать аминокислотные последовательности, гомологичные молекуле белка, описанные в настоящем документе. Чтобы получить совмещенные гэпы для сравнения можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389 3402. В альтернативном варианте осуществления PSI BLAST можно использовать для выполнения итерационных поисков, посредством которых определяют отдаленные взаимосвязи между молекулами (Id.). При использовании программ BLAST, Gapped BLAST и PSI Blast можно применять параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST) (см., например, National Center for Biotechnology Information (NCBI) в сети Интернет, ncbi.nlm.nih.gov). Другим предпочтительным не имеющим ограничительного характера примером математического алгоритма, используемого для сопоставления последовательностей, является алгоритм Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11 17. Такой алгоритм включен в программу ALIGN (вер. 2.0), которая является частью пакета программ совмещения последовательностей GCG. При использовании программы ALIGN для сравнения последовательностей аминокислот можно использовать таблицу весов аминокислотных остатков PAM120, а также штраф за длину гэпа 12 и штраф за гэп 4.

[00264] Процент идентичности двух последовательностей можно определять, используя методики, подобные описанным выше, с допущением пропусков или без них. При вычислении процента идентичности, как правило, подсчитывают только точные совпадения.

[00265] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 93, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00266] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 94, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00267] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 95, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00268] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 96, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00269] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 97, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00270] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 98, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00271] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 99, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00272] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью

последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 100, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00273] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 101, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00274] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 102, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00275] В определенных вариантах осуществления описанное в настоящем документе однодоменное антитело содержит домен VHH с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 103, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00276] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 93, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00277] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 94, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00278] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 95, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00279] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей

мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 96, причем однодоменное антитело иммуноспецифически связывается с pIgR.

[00280] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 97, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00281] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 98, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00282] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 99, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00283] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 100, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00284] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 101, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00285] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 102, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

[00286] В определенных вариантах осуществления определенное в настоящем документе однодоменное антитело содержит каркас с по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% идентичностью последовательности с аминокислотной последовательностью с SEQ ID NO: 103, причем однодоменное антитело связывается с pIgR.

5.2.2. Гуманизированные однодоменные антитела

[00287] Описанные в настоящем документе однодоменные антитела включают гуманизированные однодоменные антитела. Описаны общие стратегии гуманизации однодоменных антител от верблюдовых (см., например, Vincke et al., J. Biol. Chem., 2009, 284(5):3273-3284), и их используют для продукции гуманизированных доменов VHH, как описано в настоящем документе. Конфигурация гуманизированных однодоменных антител от верблюдовых может включать идентифицирующие остатки в VHH, такие как остатки 11, 37, 44, 45 и 47 (нумерация остатков по Кабату) (Muyldermans, Reviews Mol Biotech 74:277-302 (2001).

[00288] Гуманизированные антитела, такие как гуманизированные однодоменные антитела, описанные в настоящем документе, могут быть также получены с применением различных методик, известных специалистам в области, включая, без ограничений, прививки CDR (Европейский патент № EP 239,400; публикация заявки на между народный патент № WO 91/09967; и патенты США № 5,225,539, 5,530,101 и 5,585,089), изменение поверхности антител или восстановление поверхностного доступа (Европейские патенты EP 592,106 и EP 519,596; Padlan, 1991, Molecular Immunology 28(4/5):489-498; Studnicka et al., 1994, Protein Engineering 7(6):805-814; и Roguska et al., 1994, PNAS 91:969-973), перестановки в цепи (патент США № 5,565,332) и методики, описанные, например, в патенте США № 6,407,213, патенте США № 5,766,886, WO 9317105, Tan et al., J. Immunol. 169:1119 25 (2002), Caldas et al., Protein Eng. 13(5):353-60 (2000), Morea et al., Methods 20(3):267 79 (2000), Baca et al., J. Biol. Chem. 272(16):10678-84 (1997), Roguska et al., Protein Eng. 9(10):895 904 (1996), Couto et al., Cancer Res. 55 (23 Supp):5973s- 5977s (1995), Couto et al., Cancer Res. 55(8):1717-22 (1995), Sandhu JS, Gene 150(2):409-10 (1994) и Pedersen et al., J. Mol. Biol. 235(3):959-73 (1994). См. также публикацию заявки на патент США № US 2005/0042664 A1 (24 февраля 2005 года), причем каждая из них полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

[00289] В некоторых вариантах осуществления обеспеченные в настоящем документе однодоменные антитела могут представлять собой гуманизированные однодоменные антитела, которые связываются с pIgR, в том числе с человеческим pIgR. Например, гуманизированные одноцепочечные антитела настоящего описания могут содержать одну или более CDR из VHH1, VHH2, VHH3, VHH4, VHH5, VHH6, VHH7, VHH9, VHH10, VHH11 и/или VHH12. Разные способы гуманизации нечеловеческих антител известны в данной области. Например, гуманизированное антитело может иметь один или более аминокислотных остатков, введенных в его последовательность из

источника, который не относится к человеку. Эти нечеловеческие аминокислотные остатки часто называют «импортными» остатками, которые, как правило, берут из «импортного» вариабельного домена. Гуманизацию можно выполнять, например, способом по Jones et al., 1986, Nature 321:522-25; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-27; и Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-36) посредством замены последовательностей гипервариабельных областей на соответствующие последовательности человеческого антитела.

[00290] В некоторых случаях гуманизированные антитела конструируют посредством прививания CDR, причем аминокислотные последовательности CDR родительского нечеловеческого антитела вставляются в каркас человеческого антитела. Например, Падлан и др. установили, что лишь около одна треть остатков в CDR в действительности контактирует с антигеном, и назвали их «определяющими специфичность остатками» или SDR (Padlan et al., 1995, FASEB J. 9:133-39). В рамках методики прививания SDR только остатки SDR вставляются в каркас человеческого антитела (см., например, Kashmiri et al., 2005, Methods 36:25-34).

[00291] Выбор человеческих вариабельных доменов, которые будут использовать для получения гуманизированных антител, может быть важен для снижения антигенности. Например, в соответствии с так называемым способом «наиболее точного соответствия» проводят скрининг последовательности вариабельного домена нечеловеческого антитела для сравнения со всей библиотекой известных человеческих последовательностей вариабельного домена. Человеческая последовательность, которая оказывается наиболее близкой к этому нечеловеческому антителу, может быть выбрана в качестве человеческого каркаса для гуманизированного антитела (Sims et al., 1993, J. Immunol. 151:2296-308; и Chothia et al., 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17). В другом способе применяют конкретный каркас, полученный из консенсусной последовательности всех человеческих антител конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Один и тот же каркас может быть использован для нескольких различных гуманизированных антител (Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89; и Presta et al., 1993, J. Immunol. 151:2623-32). В некоторых случаях каркас получают из консенсусных последовательностей наиболее распространенных человеческих подклассов, V_L□ подгруппы I (V_L□I) и V_H подгруппы III (V_HIII). В другом способе в качестве источника каркасных областей применяют гены зародышевой линии человека.

[00292] В альтернативной парадигме, основанной на сопоставлении CDR, которая называется супергуманизацией, гомология FR не имеет значения. Способ заключается в сопоставлении нечеловеческой последовательности с набором функциональных генов зародышевой линии человека. Впоследствии выбирают те гены, которые кодируют идентичные или канонические структуры, близкие к мышиным последовательностям. После этого из генов с общими каноническими структурами с нечеловеческим антителом в качестве доноров FR выбирают те, что демонстрируют наибольшую гомологию внутри CDR. Наконец, нечеловеческие CDR прививают в эти FR (см., например, Tan et al., 2002, J.

Immunol. 169:1119-25).

[00293] Дополнительно по существу желательно, чтобы антитела были гуманизированы с сохранением своей аффинности к антигену и других предпочтительных биологических свойств. Для достижения этой цели в соответствии с одним процессом гуманизированные антитела получают с помощью анализа исходных последовательностей и разных концептуальных гуманизированных продуктов, используя трехмерные модели исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулина являются общедоступными и известными специалистам в данной области. Существуют компьютерные программы, демонстрирующие и отображающие вероятные трехмерные конформационные структуры выбранных потенциальных последовательностей иммуноглобулина. К ним, например, относятся WAM (Whitelegg and Rees, 2000, Protein Eng. 13:819-24), Modeller (Sali and Blundell, 1993, J. Mol. Biol. 234:779-815) и Swiss PDB Viewer (Guex and Peitsch, 1997, Electrophoresis 18:2714-23). Проверка этих изображений позволяет оценить вероятную роль остатков в функционировании потенциальной последовательности иммуноглобулина, например проанализировать остатки, которые влияют на способность потенциального иммуноглобулина связываться со своим антигеном. Таким способом остатки FR можно выбирать и комбинировать из реципиентных и импортных последовательностей так, чтобы получить желаемое свойство антитела, например увеличенную аффинность к целевому (-ым) антигену (-ам). В целом остатки гипервариабельной области напрямую и в наиболее существенной степени определяют влияние на связывание антигена.

[00294] Другой способ гуманизации антитела основан на параметре степени гуманизации, который называется содержанием человеческой последовательности (HSC). В данном способе мышиная последовательность сопоставляется с набором генов зародышевой линии человека, и различия оцениваются как HSC. Целевая последовательность впоследствии гуманизируется посредством максимального увеличения ее HSC вместо использования ее глобального показателя идентичности для получения множества различных гуманизированных вариантов (Lazar et al., 2007, Mol. Immunol. 44:1986-98).

[00295] В дополнение к описанным выше способам для получения и отбора гуманизированных антител можно применять эмпирические способы. К таким способам относятся основанные на построении больших библиотек гуманизированных вариантов и отборе наилучших клонов с применением технологий обогащения или методик высокопроизводительного скрининга. Варианты антитела могут быть выделены из библиотек фагового, рибосомального и дрожжевого дисплея, а также посредством скрининга колонии бактерий (см., например, Hoogenboom, 2005, Nat. Biotechnol. 23:1105-16; Dufner et al., 2006, Trends Biotechnol. 24:523-29; Feldhaus et al., 2003, Nat. Biotechnol. 21:163-70; и Schlapschy et al., 2004, Protein Eng. Des. Sel. 17:847-60).

[00296] В рамках подхода с применением библиотек FR набор вариантов остатков вводят в определенные положения в FR с последующим скринингом библиотеки для

выбора FR, которая наилучшим образом поддерживает привитую CDR. К остаткам для замены могут относиться некоторые или все из «верньерных» остатков, идентифицированных как потенциально определяющие структуру CDR (см., например, Foote and Winter, 1992, J. Mol. Biol. 224:487-99), или из более ограниченного набора целевых остатков, идентифицированных в Baca et al. (1997, J. Biol. Chem. 272:10678-84).

[00297] При перестановках FR все FR комбинируются с нечеловеческими CDR вместо построения комбинаторных библиотек выбранных вариантов остатков (см., например, Dall'Acqua et al., 2005, Methods 36:43-60). Можно применять процесс однократной перестановки FR. Была продемонстрирована эффективность такого процесса, поскольку полученные антитела демонстрировали улучшенные биохимические и физико-химические свойства, в том числе повышенную экспрессию, более высокую аффинность и термостабильность (см., например, Damschroder et al., 2007, Mol. Immunol. 44:3049-60).

[00298] Способ «гуманиринга» основан на экспериментальной идентификации наиболее существенных минимальных детерминант специфичности (MSD) и основан на последовательной подстановке нечеловеческих фрагментов в библиотеки человеческих FR и оценке связывания. Эта методология обычно приводит к сохранению эпитопа и идентификации антител из множества подклассов с определенным человеческим V-сегментом CDR.

[00299] Способ «генной инженерии» включает изменение нечеловеческого антитела или фрагмента антитела посредством внесения специфических изменений в аминокислотную последовательность антитела, с тем чтобы получить модифицированное антитело с пониженной иммуногенностью в организме человека, которое, тем не менее, сохраняет желательные свойства связывания исходных нечеловеческих антител. Методика по существу включает классификацию аминокислотных остатков нечеловеческого антитела как остатков «с низким риском», «с умеренным риском» или «с высоким риском». Классификацию выполняют с применением расчетов глобального риска/пользы, которыми оценивают прогнозируемую пользу проведения конкретной замены (например, с точки зрения иммуногенности в организме человека) по сравнению с риском влияния замены на фолдинг полученного антитела. Конкретный человеческий аминокислотный остаток, вводимый в данное положение (например, с низким или умеренным риском) последовательности нечеловеческого антитела, можно выбирать посредством совмещения аминокислотной последовательности вариабельных областей нечеловеческого антитела с соответствующей областью специфичной или консенсусной последовательностью человеческого антитела. Аминокислотные остатки в положениях с низким или умеренным риском в нечеловеческой последовательности можно заменять соответствующими остатками в последовательности человеческого антитела по результатам совмещения. Методики для получения сконструированных человеческих белков более подробно описаны в Studnicka et al., 1994, Protein Engineering 7:805-14; патентах США № 5,766,886; 5,770,196; 5,821,123; и 5,869,619; и публикации PCT № WO

93/11794.

[00300] Композитное человеческое антитело может быть получено с применением, например, технологии Composite Human Antibody™ (Antitope Ltd., Cambridge, United Kingdom). Чтобы получить композитные человеческие антитела, последовательности вариабельной области конструируют из фрагментов множества последовательностей вариабельной области человеческого антитела таким образом, чтобы избегать эпитопов Т-клеток, и тем самым сводится к минимуму иммуногенность получаемого антитела.

[00301] Деиммунизированное антитело представляет собой антитело, из которого были удалены эпитопы Т-клеток. Описаны способы получения деиммунизированных антител. См., например, Jones et al., Methods Mol Biol. 2009;525:405-23, xiv, и De Groot et al., Cell. Immunol. 244:148-153(2006)). Деиммунизированные антитела содержат вариабельные области без эпитопа Т-клеток и человеческие константные области. Коротко говоря, вариабельные области антитела клонируют, а затем идентифицируют эпитопы Т-клеток посредством тестирования перекрывающихся пептидов, полученных из вариабельных областей антитела, в процессе анализа пролиферации Т-клеток. Эпитопы Т-клеток идентифицируют способами in silico для выявления связывания пептидов с человеческим MHC II класса. В вариабельные области вводятся мутации, чтобы ослабить связывание с человеческим MHC II класса. Впоследствии мутированные вариабельные области используют для получения деиммунизированного антитела.

5.2.3. Варианты однодоменных антител

[00302] В некоторых вариантах осуществления рассматривают модификацию (-и) аминокислотных последовательностей однодоменных антител, которые связываются с pIgR, как описано в настоящем документе. Например, может быть желательно оптимизировать аффинность связывания и/или другие биологические свойства антитела, включая, без ограничений, специфичность, термостабильность, уровень экспрессии, эффекторные функции, гликозилирование, пониженную иммуногенность или растворимость. Таким образом, в дополнение к однодоменным антителам, которые связываются с pIgR, как описано в настоящем документе, рассматривается возможность получать варианты однодоменных антител, которые связываются с pIgR, как описано в настоящем документе. Например, варианты однодоменных антител могут быть получены при внесении соответствующих нуклеотидных изменений в кодирующую ДНК и/или путем синтеза искомого антитела или полипептида. Специалистам в данной области будет очевидно, что изменения в аминокислотах могут повлиять на посттрансляционные процессы однодоменного антитела.

[00303] В некоторых вариантах осуществления обеспеченные в настоящем документе антитела являются химически модифицированными, например, посредством ковалентного присоединения молекулы любого типа к однодоменному антителу. К производным антител могут относиться антитела, которые были химически модифицированы, например, посредством гликозилирования, ацетилирования, пегилирования, фосфорилирования, амидирования, дериватизации с применением

известных защитных/блокирующих групп, протеолитического расщепления, связывания с клеточным лигандом или другим белком, или конъюгации с одним или более доменами иммуноглобулина (например, Fc или часть Fc). Любые из множества химических модификаций могут проводиться с применением известных методик, включая, без ограничений, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез туникамицина и т. д. Кроме того, антитела могут содержать одну или более неклассических аминокислот.

[00304] Вариации могут представлять собой замену, делецию или вставку одного или более кодонов, кодирующих однодоменное антитело или полипептид, которые приводят к изменению аминокислотной последовательности по сравнению с исходным антителом или полипептидом. Замены аминокислот могут быть результатом замещения одной аминокислоты другой аминокислотой с близкими структурными и/или химическими свойствами, например замена лейцина серином, например консервативная замена аминокислот. Стандартные методики, известные специалистам в данной области, можно использовать для введения мутаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулы, обеспеченные в настоящем документе, в том числе, например, сайт-направленный мутагенез и ПЦР-опосредованный мутагенез, который приводит к заменам аминокислот. Вставки или делеции могут необязательно охватывать в диапазоне от около 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замена, делеция или вставка, включает менее 25 аминокислотных замен, менее 20 аминокислотных замен, менее 15 аминокислотных замен, менее 10 аминокислотных замен, менее 5 аминокислотных замен, менее 4 аминокислотных замен, менее 3 аминокислотных замен или менее 2 аминокислотных замен по сравнению с исходной молекулой. В конкретном варианте осуществления замена представляет собой аминокислотную замену, выполненную в одном или более предполагаемых несущественных аминокислотных остатков. Допустимая вариация может быть определена по систематическому выполнению вставок, делеций или замен аминокислот в последовательности и тестированию активности полученных вариантов по сравнению с исходными антителами.

[00305] Вставки аминокислотной последовательности включают амино- и/или карбоксильные концевые слияния, длина которых варьируется от одного остатка до полипептидов, содержащих множество остатков, а также вставки внутрь последовательности одного или множества аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым метиониловым остатком.

[00306] В настоящее описание включаются однодоменные антитела, полученные посредством консервативной замены аминокислот. В рамках консервативной замены аминокислот аминокислотный остаток заменяется аминокислотным остатком с боковой цепью с близким зарядом. Как отмечалось выше, в данной области известны семейства аминокислотных остатков, имеющие боковые цепи с близкими зарядами. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая

кислота), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). В альтернативном варианте мутации могут вводиться случайным образом во всей или части кодирующей последовательности, например, посредством мутагенеза насыщения, и можно проводить скрининг биологической активности полученных мутантов для идентификации мутантов, чья активность сохраняется. После мутагенеза можно экспрессировать кодированный белок и можно определять активность белка. могут вноситься консервативные замены (например, в пределах аминокислотной группы с аналогичными свойствами и/или боковой цепи) так, чтобы сохранить свойства или не изменить их существенно.

[00307] Аминокислоты могут быть сгруппированы в соответствии с подобием свойств их боковых цепей (см., например, Lehninger, Biochemistry 73-75 (2d ed. 1975)): (1) неполярные: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M); (2) нейтральные полярные: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q); (3) кислые: Asp (D), Glu (E); и (4) основные: Lys (K), Arg (R), His(H). В альтернативном варианте осуществления остатки природного происхождения могу подразделяться на группы на основании общих свойств боковой цепи: (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) кислые: Asp, Glu; (4) основные: His, Lys, Arg; (5) остатки, которые влияют на ориентацию цепи: Gly, Pro; и (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

[00308] Например, любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании надлежащей конформации однодоменного антитела, может также быть замещен, как правило, другой аминокислотой, такой как аланин или серин, для повышения устойчивости к окислению молекулы и предотвращения аберрантного поперечного сшивания.

[00309] Вариации могут вноситься с применением способов, известных специалистам в области, например опосредованный олигонуклеотидами (сайт-направленный) мутагенез, аланиновое сканирование и ПЦР-мутагенез. Сайт-направленный мутагенез (см., например, Carter, 1986, Biochem J. 237:1-7; и Zoller et al., 1982, Nucl. Acids Res. 10:6487-500), кассетный мутагенез (см., например, Wells et al., 1985, Gene 34:315-23) или другие известные методики можно выполнять для клонированной ДНК, чтобы получать ДНК варианта однодоменного антитела.

5.2.4. Созревание аффинности in vitro

[00310] В некоторых вариантах осуществления варианты антител, имеющих улучшенные свойства, такие как аффинность, стабильность или уровень экспрессии, по сравнению с родительским антителом могут быть получены посредством созревания аффинности in vitro. Подобно природным прототипам созревание аффинности in vitro

основано на принципах мутации и отбора. Отображают библиотеки антител на поверхности организма (например, фага, бактерии, дрожжей или клетки млекопитающих) или в ассоциации (например, ковалентно или нековалентно) с их кодирующей мРНК или ДНК. Селекция аффинности антител дисплея позволяет выделять организмы или комплексы с генетической информацией, кодирующей антитела. Два или три цикла мутации и отбора с применением способов дисплея, например фагового дисплея, обычно позволяют получать фрагменты антител с аффинностью в нижней части наномолярного диапазона. Антитела с созревшей аффинностью могут обладать наномолярной или даже пикомолярной аффинностью к целевому антигену.

[00311] Фаговый дисплей является широкораспространенным способом дисплея и отбора антител. Проводят дисплей антител на поверхности бактериофагов Fd или M13 в виде слияний с белком оболочки фага. Отбор включает воздействие антигена, чтобы антитела фагового дисплея связывались со своими мишенями - процесс, который называют «пэннингом». Связанный с фагом антиген извлекают и используют для инфицирования бактерий, чтобы продуцировать фаг для дальнейших циклов отбора. См., например, обзор в Hoogenboom, 2002, Methods. Mol. Biol. 178:1-37; и Bradbury and Marks, 2004, J. Immunol. Methods 290:29-49.

[00312] В системе дрожжевого дисплея (см., например, Boder et al., 1997, Nat. Biotech. 15:553-57; и Chao et al., 2006, Nat. Protocols 1:755-68) антитело может сливаться с субъединицей адгезии белка агглютинина дрожжей Aga2p, который связан со стенкой клетки дрожжей посредством дисульфидных связей с Aga1p. Дисплей белка посредством Aga2p отводит белок от клеточной поверхности, и таким образом сводятся к минимуму возможные взаимодействия с другими молекулами на стенке клетки дрожжей. Для скрининга библиотеки используют магнитное разделение и проточную цитометрию, чтобы отобрать антитела с повышенной аффинностью или стабильностью. Связывание с интересующим растворимым антигеном определяется за счет внесения в дрожжи метки в виде биотинилированного антигена и под действием вторичного реагента, такого как стрептавидин, конъюгированный с флуорофором. Вариации поверхностной экспрессии антитела могут оцениваться с помощью иммунофлуоресцентной метки либо гемагглютинина, либо тэга c-Myc эпитопа, фланкирующего одноцепочечное антитело (например, scFv). Было показано, что экспрессия коррелирует со стабильностью представленного на поверхности белка, и, таким образом, можно отбирать антитела с точки зрения более высокой стабильности, а также аффинности (см., например, Shusta et al., 1999, J. Mol. Biol. 292:949-56). Дополнительным преимуществом дрожжевого дисплея является то, что фолдинг представленных белков происходит в эндоплазматическом ретикулуме эукариотических клеток дрожжей с применением шаперонов с применением эндоплазматического ретикулума и механизмов контроля качества. После завершения созревания можно удобным образом «титровать» аффинность антитела при его представлении на поверхности дрожжей без необходимости экспрессирования и очистки каждого клона. Теоретическим ограничением поверхностного дрожжевого дисплея

является потенциально меньший размер функциональной библиотеки по сравнению с другими способами дисплея; вместе с тем в недавно предложенном подходе используют систему скрещивания клеток дрожжей, чтобы сформировать комбинаторное разнообразие, размеры которого по оценкам составляют 10^{14} (см., например, U.S. Pat. Publication 2003/0186374; и Blaise et al., 2004, Gene 342:211-18).

[00313] В рибосомном дисплее получают комплексы антитело-рибосома-мРНК (ARM) для отбора в бесклеточной системе. Библиотека ДНК, кодирующая конкретную библиотеку антител, генетически слита с последовательностью спейсера без стоп-кодона. Эта последовательность спейсера при трансляции по-прежнему связана с пептидильной тРНК и находится в просвете рибосомы, а потому позволяет интересующему белку проходить через рибосому и подвергаться фолдингу. Полученный комплекс мРНК, рибосомы и белка может связываться с фиксированным на поверхности лигандом, обеспечивая одновременное выделение антитела и его кодирующей мРНК за счет аффинного связывания с лигандом. Впоследствии проходит обратная транскрипция связанной с рибосомой мРНК в кДНК, которую можно использовать в следующем цикле отбора после проведения мутагенеза (см., например, Fukuda et al., 2006, Nucleic Acids Res. 34:e127). В дисплее мРНК образуется ковалентная связь между антителом и мРНК с применением пуромицина в качестве адаптерной молекулы (Wilson et al., 2001, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:3750-55).

[00314] Поскольку все перечисленные способы выполняют полностью in vitro, они обеспечивают два основных преимущества по сравнению с другими методиками отбора. Во-первых, разнообразие библиотеки не ограничивается эффективностью трансформации бактериальных клеток, а только числом рибосом и различных молекул мРНК, присутствующих в пробирке. Во-вторых, после каждого цикла отбора можно с легкостью вносить случайные мутации, например, некорректирующими полимеразами, поскольку нет необходимости в трансформации ни одной из библиотек после любой стадии диверсификации.

[00315] В некоторых вариантах осуществления можно использовать системы дисплея млекопитающих.

[00316] Разнообразие можно также вносить в CDR библиотек антител целевым образом или посредством случайного введения. Первый подход включает направленное воздействие на все CDR антитела посредством высокого или низкого уровня мутагенеза или направленное воздействие на выделенные «горячие точки» соматических гипермутаций (см., например, Ho et al., 2005, J. Biol. Chem. 280:607-17) или на остатки, которые на основании экспериментальных данных или по структурным соображениям предположительно влияют на аффинность. Разнообразие можно также вносить путем замены областей с присущим им природным разнообразием посредством перестановок ДНК или аналогичных методик (см., например, Lu et al., 2003, J. Biol. Chem. 278:43496-507; патенты США № 5,565,332 и 6,989,250). В альтернативных методиках с направленным воздействием на гипервариабельные петли, распространяющиеся на

остатки каркасной области (см, e.g., Bond et al., 2005, J. Mol. Biol. 348:699-709) применяют делеции в петлях и вставки в CDR или используют диверсификацию на основе гибридизации (см., например, публикация заявки на патент США № 2004/0005709). Дополнительные способы формирования разнообразия в CDR описаны, например, в патенте США № 7,985,840. Другие способы, которые можно использовать для построения библиотек антител и/или созревания аффинности антител, описаны, например, в патентах США № 8,685,897 и 8,603,930, а также в публикациях заявки на патент США № 2014/0170705, 2014/0094392, 2012/0028301, 2011/0183855 и 2009/0075378, каждый из которых путем ссылки включается в настоящий документ.

[00317] Скрининг библиотек можно осуществлять с помощью разных методик, известных специалистам в области. Например, однодоменные антитела могут быть иммобилизованы на твердых подложках, колонках, контактах или целлюлозных/поливинилиденфторидных мембранах/других фильтрах, экспрессированы на клетках-хозяевах, фиксированных на адсорбционных планшетах, или использованы при сортировке клеток, или конъюгированы с биотином для фиксации на покрытых стрептавидином гранулах, или использованы в любом другом способе пэннинга библиотек дисплея.

[00318] Обзор способов созревания аффинности in vitro, см., например, Hoogenboom, 2005, Nature Biotechnology 23:1105-16; Quiroz and Sinclair, 2010, Revista Ingeneria Biomedia 4:39-51; и ссылки в данной публикации.

5.2.5. Модификация однодоменных антител

[00319] Ковалентные модификации однодоменных антител включены в охват настоящего описания. Ковалентные модификации включают взаимодействие целевых аминокислотных остатков однодоменного антитела с органическим дериватизирующим агентом, который в состоянии реагировать с выбранной боковой цепью или с N- или C-концевыми остатками однодоменного антитела. К другим модификациям относятся деамидирование глутаминильных и аспарагильных остатков до соответствующих глутамильных и аспартильных остатков соответственно, гидроксилирование пролины и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп серильных или треонильных остатков, метилирование α-аминогрупп боковых цепей лизина, аргинина и гистидина (см., например, Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties 79-86 (1983)), ацетилирование N-концевого амина и амидирование любой C-концевой карбоксильной группы.

[00320] К другим типам ковалентной модификации однодоменного антитела, включенным в объем настоящего описания, относятся изменение природного характера гликозилирования антитела или полипептида (см., например, Beck et al., 2008, Curr. Pharm. Biotechnol. 9:482-501; и Walsh, 2010, Drug Discov. Today 15:773-80), и связывание антитела с одним из множества небелковых полимеров, например полиэтиленгликолем (ПЭГ), полипропиленгликолем или полиоксиалкиленами, так, как это описано, например, в патенте США № 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192; или 4,179,337.

Однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, в соответствии с описанием, может быть также генетически слито или конъюгировано с одной или более константных областей или участков иммуноглобулина (например, Fc) для увеличения периода полувыведения и/или обеспечения известных Fc-опосредованных эффекторных функций.

[00321] Одноцепочечное антитело, которое связывается с pIgR, в соответствии с настоящим описанием, может также модифицироваться с образованием химерных молекул, содержащих одноцепочечное антитело, которые связываются с pIgR, слитыми с другим гетерологичным полипептидом или аминокислотной последовательностью, например тэгом эпитопа (см., например, Terpe, 2003, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60:523-33), или Fc-областью молекулы IgG (см., например, Aruffo, Antibody Fusion Proteins 221-42 (Chamow and Ashkenazi eds., 1999)). Одноцепочечное антитело, которое связывается с pIgR, можно также использовать для получения связывающегося с pIgR химерного антигенного рецептора (CAR).

[00322] В настоящем документе также обеспечен слитый белок, содержащий одноцепочечное антитело, которое связывается с pIgR в соответствии с описанием, и гетерологичный полипептид. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид, с которым генетически слито или химически конъюгировано антитело, используют для направленного воздействия антитела на клетки с pIgR, экспрессированным на клеточной поверхности.

[00323] В настоящем документе также обеспечены панели антител, которые связываются с антигеном pIgR. В конкретных вариантах осуществления панели антител отличаются различными скоростями ассоциации, различными скоростями диссоциации, различной аффинностью к антигену pIgR и/или различной специфичностью по отношению к антигену pIgR. В некоторых вариантах осуществления панели включают или состоят из около 10, около 25, около 50, около 75, около 100, около 125, около 150, около 175, около 200, около 250, около 300, около 350, около 400, около 450, около 500, около 550, около 600, около 650, около 700, около 750, около 800, около 850, около 900, около 950 или около 1000 антител или более. Панели антител можно использовать, например, в 96-луночных или 384-луночных планшетах для таких анализов, как ИФА.

5.2.6. Получение однодоменных антител

[00324] Однодоменные антитела, обеспеченные в настоящем документе, могут продуцироваться путем культивирования клеток, трансформированных или трансфицированных вектором, содержащим нуклеиновые кислоты, кодирующие однодоменное антитело. Полинуклеотидные последовательности, кодирующие полипептидные компоненты антитела настоящего описания могут быть получены с применением стандартных рекомбинантных методик. Желаемые полинуклеотидные последовательности можно выделять и секвенировать из клеток, продуцирующих антитела, например клеток гибридомы или В-клеток. В альтернативном варианте осуществления полинуклеотиды могут быть синтезированы с применением синтезатора нуклеотидов или методик ПЦР. После получения последовательности кодирующие

полипептиды вставляют в рекомбинантный вектор, способный к репликации и экспрессии гетерологичных полинуклеотидов в клетках-хозяевах. Для целей настоящего описания можно использовать множество векторов, доступных и известных в данной области техники. Выбор подходящего вектора в основном зависит от размера нуклеиновых кислот, которые вставляют в вектор, и конкретной клетки-хозяина, трансформируемой вектором. К клеткам-хозяина, приемлемым для экспрессии антител настоящего описания, относятся прокариоты, такие как архебактерии и эубактерии, в том числе грамотрицательные или грамположительные организмы, эукариотические микробы, такие как мицелиальные грибы или дрожжи, клетки беспозвоночных, такие как клетки насекомых или растений, а также клетки позвоночных, такие как линии клеток-хозяев млекопитающих. Клетки-хозяева трансформируют вышеописанными векторами экспрессорами и культивируют в традиционной питательной среде, модифицированной надлежащим образом, для индуцирования промоторов, выбора трансформантов или амплификации генов, кодирующих желаемые последовательности. Антитела, продуцируемые клетками-хозяина, очищают с помощью стандартных способов очистки белков, известных специалистам в области.

[00325] Способы продукции антител, включая конструирование вектора, экспрессию и очистку, более подробно описаны в Plückthun et al., Antibody Engineering: Producing antibodies in Escherichia coli: From PCR to fermentation 203-52 (McCafferty et al. eds., 1996); Kwong and Rader, E. coli Expression and Purification of Fab Antibody Fragments, in Current Protocols in Protein Science (2009); Tachibana and Takekoshi, Production of Antibody Fab Fragments in Escherichia coli, in Antibody Expression and Production (Al-Rubeai ed., 2011); и Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic (An ed., 2009).

[00326] Конечно, подразумевается, что альтернативные способы, которые хорошо известны специалистам в области, можно использовать для получения антител к pIgR. Например, соответствующая аминокислотная последовательность или ее части могут быть получены прямым пептидным синтезом с применением твердофазных методик (см., например, Stewart et al., Solid-Phase Peptide Synthesis (1969); и Merrifield, 1963, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-54). In vitro синтез белка можно выполнять вручную или с применением автоматических методик. Разные участки антител к pIgR могут химически синтезироваться раздельно и комбинироваться с помощью химических или ферментативных способов, чтобы получить искомое антитело к pIgR. В альтернативном варианте осуществления антитела можно очищать от клеток или биологических жидкостей, таких как молоко, трансгенного животного, сконструированного для экспрессии антитела, как это описано, например, в патентах США № 5,545,807 и 5,827,690.

[00327] В частности, однодоменные антитела или другие связывающиеся с pIgR молекулы могут быть получены посредством иммунизации лам с применением внеклеточного домена mpIgR и hpIgR (ECD), выполняя сортировку единичных B-клеток, осуществляя экстракцию V-гена, клонируя связывающие pIgR молекулы, такие как

слияния VHH-Fc, и впоследствии проводя экспрессию и очистку в малых масштабах. Можно выполнять дополнительный скрининг однодоменных антител и других молекул, которые связываются с pIgR, включая отбор одной или более из ИФА-положительных, BLI-положительных с K_D менее 100 нМ. Эти критерии отбора можно комбинировать, как это показано на Фиг. 8 (VHH, полученная из антигена mpIgR) и на Фиг. 9 (VHH, полученная из антигена hpIgR). Кроме того, отдельные связывающие молекулы VHH (и другие молекулы, которые связываются с pIgR), можно анализировать с точки зрения их способности связываться с клетками MDCK, экспрессирующими pIgR, например hpIgR. Такой анализ можно выполнять с применением метода FACS с клетками MDCK, экспрессирующими hpIgR, и измерения средней интенсивности флуоресценции (MFI) флуоресцентно-меченых молекул VHH. Результаты такого эксперимента представлены на Фиг. 10. Окрашивание hpIgR на монослое клеток MDCK показано на Фиг. 11.

5.3. Терапевтические молекулы, содержащие однодоменные антитела

[00328] В одном аспекте в настоящем документе обеспечена терапевтическая молекула, содержащая однодоменное антитело (например, домен VHH), обеспеченное в настоящем документе, и терапевтический агент.

[00329] В разных вариантах осуществления обеспеченное в настоящем документе однодоменное антитело может быть генетически слито или химически конъюгировано с любыми агентами для доставки этих агентов, например, белковых структур. Однодоменное антитело может быть химически конъюгировано с агентом или иным образом нековалентно конъюгировано с агентом.

[00330] Однодоменные антитела, обеспеченные в настоящем документе, используют для доставки агентов, которые можно применять для лечения субъектов, например биологических препаратов (включая белковые лекарственные средства, например пептиды и антитела, и нуклеотидные лекарственные препараты, например вирусные генетические лекарственные средства или лекарственные средства на основе РНК). Например, агентом может быть лекарственное средство для лечения диабета, необязательно выбранное из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1, пептидов-миметиков инсулина и пептидов-миметиков глюкагоноподобного пептида-1. Агентом может быть пептид или антитело (или его фрагмент), необязательно выбранное из группы, состоящей из антитела к TNF-альфа или его фрагмента, антитела к IL23 или его фрагмента, антитела, которое связывается с рецептором IL23, или его фрагмента, ингибитора рецептора IL23 и антитела иммунной контрольной точки, такого как антитело к PD-1. Агентом может также быть вакцина, например вакцина для профилактики инфекции, выбранной из группы, состоящей из вибриона, холеры, тифа, ротавируса, туберкулеза, ВИЧ, гриппа, Эболы и Сендай.

[00331] Таким образом, в настоящем документе обеспечены однодоменные антитела (например, домены VHH), которые рекомбинантно связываются или химически конъюгированы (ковалентные или нековалентные конъюгации) с гетерологичным белком или полипептидом (или его фрагментом, например, с полипептидом из около 10, около 20,

около 30, около 40, около 50, около 60, около 70, около 80, около 90, около 100, около 150, около 200, около 250, около 300, около 350, около 400, около 450, или около 500 аминокислот, или более 500 аминокислот) для получения слитых белков, а также для их использования. В частности, в настоящем документе обеспечены слитые белки, содержащие антигенсвязывающий фрагмент однодоменного антитела, обеспеченного в настоящем документе (например, CDR1, CDR2 и/или CDR3), и гетерологичный белок, полипептид или пептид. Например, антитело, которое связывается с рецептором клеточной поверхности, экспрессируемым клеткой определенного типа, может быть слито или конъюгировано с модифицированным антителом, обеспеченным в настоящем документе.

[00332] Более того, обеспеченные в настоящем документе антитела могут быть слиты с последовательностью маркера или «тэга», например пептида, для облегчения очистки. В конкретных вариантах осуществления аминокислотная последовательность маркера или тэга представляет собой гексагистидиновый пептид, такой как, среди прочих, тэг, поставляемый в векторе pQE (см., например, QIAGEN, Inc.), причем многие из них производят серийно. Например, как описано в Gentz et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-24, гексагистидин обеспечивает эффективную очистку слитого белка. К другим пептидным маркерам, используемым для очистки, относятся, без ограничений, тэг гемагглютинин «HA», который соответствует эпитопу, полученному из гемагглютининового белка гриппа (Wilson et al., 1984, Cell 37:767-78) и маркер «FLAG».

[00333] Хорошо известны способы слияния или конъюгации функциональных групп (включая полипептиды) с антителами (см., например, Arnon et al., Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 243-56 (Reisfeld et al. eds., 1985); Hellstrom et al., Antibodies for Drug Delivery, in Controlled Drug Delivery 623-53 (Robinson et al. eds., 2d ed. 1987); Thorpe, Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review, in Monoclonal Antibodies: Biological and Clinical Applications 475-506 (Pinchera et al. eds., 1985); Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy 303-16 (Baldwin et al. eds., 1985); Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58; U.S. Pat. № 5,336,603; 5,622,929; 5,359,046; 5,349,053; 5,447,851; 5,723,125; 5,783,181; 5,908,626; 5,844,095; и 5,112,946; EP 307,434; EP 367,166; EP 394,827; публикации PCT WO 91/06570, WO 96/04388, WO 96/22024, WO 97/34631 и WO 99/04813; Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-39; Traunecker et al., 1988, Nature, 331:84-86; Zheng et al., 1995, J. Immunol. 154:5590-600; и Vil et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-41).

[00334] Слитые белки можно получать, например, с помощью методик перестановки генов, перестановки мотивов, перестановки экзонов и/или перестановки кодонов (которые в совокупности называются «перестановками ДНК»). Перестановки ДНК можно использовать для изменения активности однодоменных антител, обеспеченных в настоящем документе, включая, например, антитела с более высокой

аффинностью и более низкими скоростями диссоциации (см., например, патенты США № 5,605,793; 5,811,238; 5,830,721; 5,834,252; и 5,837,458; Patten et al., 1997, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33; Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82; Hansson et al., 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76; и Lorenzo and Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308-13). Антитела или кодируемые антитела можно модифицировать посредством случайного мутагенеза при ПЦР сниженной точности, случайной вставки нуклеотидов или другими способами перед рекомбинацией. Полинуклеотид, кодирующий антитело, обеспеченное в настоящем документе, можно рекомбинировать с одним или более компонентами, мотивами, секциями, частями, доменами, фрагментами и т. д. одной или более гетерологичных молекул.

[00335] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело, обеспеченное в настоящем документе (например, домен VHH), конъюгировано со вторым антителом с образованием гетероконъюгата антител, как описано, например, в патенте США № 4,676,980.

[00336] Антитела, которые связываются с pIgR, как описано в настоящем документе, могут также фиксироваться на твердых подложках, что, в частности, используют для иммуноанализа или очистки целевого антигена. К таким твердым подложкам, без ограничений, относятся стекло, целлюлоза, полиакриламид, нейлон, полистирол, поливинилхлорид или полипропилен.

[00337] К другим примерам агентов, без ограничений, относятся малая молекула, полинуклеотид, радиоизотоп, токсин, фермент, антикоагулянт, гормон, цитокин, противовоспалительная молекула, РНКи, мРНК, самореплицирующаяся РНК, антибиотик или конъюгат антитело-антибиотик. В одном варианте осуществления агентом является антибиотик. К примерам антибиотиков, без ограничений, относятся макролидный антибиотик, фторхинолон, тетрациклин, амоксициллин, цефтриакон, пенициллин G, линезолид, моксифлоксацин и азитромицин. К примерам радиоизотопов, без ограничений, относятся от ^{18}F, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{123}I, ^{201}Tl, ^{133}Xe, ^{11}C, ^{13}N, ^{15}O, ^{18}F, ^{62}Cu, ^{64}Cu, ^{124}I, ^{76}Br, ^{82}Rb, ^{89}Zr и до ^{68}Ga.

[00338] В других вариантах осуществления антитела, обеспеченные в настоящем документе, конъюгированы или рекомбинантно слиты, например, с диагностической молекулой.

[00339] Такую диагностику и обнаружение можно осуществлять, например, посредством связывания антитела с регистрируемыми веществами, в том числе, без ограничений, с разными ферментами, например, без ограничений, с пероксидазой хрена, щелочной фосфатазой, бета-галактозидазой или ацетилхолинэстеразой; простетическими группами, такими как, без ограничений, стрептавидин/биотин или авидин/биотин; флуоресцентными материалами, такими как, без ограничений, умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеинизотиоцианат, родамин, дихлортриазиниламинфлуоресцеин, дансилхлорид или фикоэритрин; люминесцентными материалами, такими как, без ограничений, люминол; биолюминесцентными материалами, такими как, без

ограничений, люцифераза, люциферин или экворин; хемилюминесцентными материалами, такими как 225Ac-γ-излучающий, Оже-электрон-излучающий, β-излучающий, альфа-излучающий или позитрон-излучающий радиоактивный изотоп. Примеры радиоактивных изотопов включают 3H, 11C, 13C, 15N, 18F, 19F, 55Co, 57Co, 60Co, 61Cu, 62Cu, 64Cu, 67Cu, 68Ga, 72As, 75Br, 86Y, 89Zr, 90Sr, 94mTc, 99mTc, 115In, 1231, 1241, 125I, 1311, 211At, 212Bi, 213Bi, 223Ra, 226Ra, 225Ac и 227Ac.

[00340] В качестве линкера можно использовать «расщепляемый линкер», который облегчает высвобождение конъюгированного агента в клетке, но в настоящем документе можно также использовать нерасщепляемые линкеры. К линкерам для применения в конъюгатах настоящего описания относятся, без ограничений, кислотно-неустойчивые линкеры (например, гидразоновые линкеры), дисульфидные линкеры, чувствительные к пептидазам линкеры (например, пептидные линкеры, содержащие аминокислоты, например валин и/или цитруллин, такие как валин-цитруллин или фенилаланин-лизин), фотолабильные линкеры, диметильные линкеры (см., например, Chari et al., 1992, Cancer Res. 52:127-31; и патент США № 5,208,020), тиоэфирные линкеры или гидрофильные линкеры, выполненные с возможностью уходить от опосредованной транспортером множественной лекарственной резистентности (см., например, Kovtun et al., 2010, Cancer Res. 70:2528-37).

[00341] Конъюгаты антитела и агента можно получать с применением разных бифункциональных связывающих белок агентов, таких как BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC, сульфо-SMPB и SVSB (сукцинилимидил-(4-винилсульфон)бензоат). В настоящем описании дополнительно рассматривается возможность получения конъюгатов антител и агентов с применением любых приемлемых способов, описанных для данной области (см., например, Bioconjugate Techniques (Hermanson ed., 2d ed. 2008)).

[00342] Традиционные стратегии конъюгации антител и агентов были основаны на химических реакциях случайной конъюгации, задействующих ε-аминогруппы остатков Lys или тиольные группы остатков Cys, которые приводят к гетерогенным конъюгатам. Недавно разработанные методики обеспечивают сайт-специфическую конъюгацию с антителами, которая обеспечивает однородное содержание и позволяет избежать формирования субпопуляций конъюгатов с измененным связыванием с антигеном или фармакокинетикой. К ним относятся конструирование «тиомоноклональных антител», содержащих цистеиновые замены в тех положениях тяжелой и легкой цепей, которые обеспечивают реакционноспособные тиоловые группы и не нарушают фолдинга иммуноглобулина и сборки или изменения связывания с антигеном (см., например, Junutula et al., 2008, J. Immunol. Meth. 332: 41-52; и Junutula et al., 2008, Nature Biotechnol. 26:925-32). В другом способе селеноцистеин котрансляционно вставляют в последовательность антитела за счет рекодирования стоп-кодона UGA от прерывания до вставки селеноцистеина, что позволяет проводить сайт-специфическую ковалентную

конъюгацию при нуклеофильной селенольной группы селеноцистеина в присутствии других аминокислот природного происхождения (см., например, Hofer et al., 2008, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:12451-56; и Hofer et al., 2009, Biochemistry 48(50):12047-57).

5.3.1. Способы получения генетически слитых белков

[00343] В разных вариантах осуществления однодоменное антитело генетически слито с агентом. Генетическое слияние можно осуществлять посредством введения линкера (например, полипептида) между однодоменным антителом и агентом. Линкер может представлять собой гибкий линкер, содержащий последовательность, выбранную из группы, состоящей из EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK (SEQ ID NO: 130), (EAAAK)n (SEQ ID NO: 147), (GGGGS)n (SEQ ID NO: 148) и (GGGS)n (SEQ ID NO: 149), где n представляет собой целое число от 1 до 20.

[00344] В разных вариантах осуществления однодоменное антитело генетически конъюгировано с терапевтической молекулой, при этом шарнирная область однодоменного антитела связана с терапевтической молекулой. Шарнирная область может представлять собой гибкий линкер, содержащий последовательность, выбранную из группы, состоящей из EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK (SEQ ID NO: 130), (EAAAK)n (SEQ ID NO: 147), (GGGGS)n (SEQ ID NO: 148) и (GGGS)n (SEQ ID NO: 149), где n представляет собой целое число от 1 до 20. В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK (SEQ ID NO: 130) или содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 50, по меньшей мере 55, по меньшей мере 60, по меньшей мере 65, по меньшей мере 70, по меньшей мере 75, по меньшей мере 80, по меньшей мере 85, по меньшей мере 90, по меньшей мере 95, по меньшей мере 98 или по меньшей мере 99% идентична последовательности EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK (SEQ ID NO: 130). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 150) или содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 50, по меньшей мере 55, по меньшей мере 60, по меньшей мере 65, по меньшей мере 70, по меньшей мере 75, по меньшей мере 80, по меньшей мере 85, по меньшей мере 90, по меньшей мере 95, по меньшей мере 98 или по меньшей мере 99% идентична последовательности EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 150). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность ERKCCVECPPCP (SEQ ID NO: 151) или содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 50, по меньшей мере 55, по меньшей мере 60, по меньшей мере 65, по меньшей мере 70, по меньшей мере 75, по меньшей мере 80, по меньшей мере 85, по меньшей мере 90, по меньшей мере 95, по меньшей мере 98 или по меньшей мере 99% идентична последовательности ERKCCVECPPCP (SEQ ID NO: 151). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность ELKTPLGDTTHTCPRCP(EPKSCDTPPPCPRCP)$_3$ (SEQ ID NO: 152) или содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 50, по меньшей мере 55, по меньшей мере 60, по меньшей мере 65, по меньшей мере 70, по

меньшей мере 75, по меньшей мере 80, по меньшей мере 85, по меньшей мере 90, по меньшей мере 95, по меньшей мере 98 или по меньшей мере 99% идентична последовательности ELKTPLGDTTHTCPRCP(EPKSCDTPPPCPRCP)$_3$ SEQ ID NO: 152). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область содержит последовательность ESKYGPPCPSCP (SEQ ID NO: 153) или содержит аминокислотную последовательность, которая на по меньшей мере 50, по меньшей мере 55, по меньшей мере 60, по меньшей мере 65, по меньшей мере 70, по меньшей мере 75, по меньшей мере 80, по меньшей мере 85, по меньшей мере 90, по меньшей мере 95, по меньшей мере 98 или по меньшей мере 99% идентична последовательности ESKYGPPCPSCP (SEQ ID NO: 153).

[00345] В настоящем документе также предложены способы получения разных слитых белков, обеспеченных в настоящем документе. В конкретном варианте осуществления обеспеченный в настоящем документе слитый белок экспрессируют рекомбинантным способом.

[00346] Для рекомбинантной экспрессии слитого белка, обеспеченного в настоящем документе, может потребоваться конструирование вектор экспрессии, содержащего полинуклеотид, который кодирует белок или его фрагмент. После получения полинуклеотида, кодирующего белок, обеспеченный в настоящем документе, или его фрагмент, вектор продукции молекулы может быть получен с помощью методики рекомбинантной ДНК с применением хорошо известных в данной области методик. Таким образом, способы получения белка посредством экспрессии полинуклеотида, содержащего кодирующую нуклеотидную последовательность, также описаны в настоящем документе. Способы, которые хорошо известны специалистам в данной области, можно применять для конструирования векторов экспрессии, содержащих кодирующие последовательности и соответствующие сигнальные метки для управления транскрипцией и трансляцией. К этим способам относятся, например, методики рекомбинантной ДНК in vitro, синтетические методики и генетическая рекомбинация in vivo. Кроме того, обеспечены реплицируемые векторы, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующие слитой белок, обеспеченный в настоящем документе, или его фрагмент, или CDR, функционально связанную с промотором.

[00347] Вектор экспрессии можно переносить в клетку-хозяина с помощью традиционных методик, и трансфицированные клетки впоследствии культивируют с помощью стандартных методик для получения слитого белка, обеспеченного в настоящем документе. Таким образом, в настоящем документе также обеспечены клетки-хозяева, содержащие полинуклеотид, кодирующий слитой белок, обеспеченный в настоящем документе, или его фрагменты, функционально связанные с гетерологичным промотором.

[00348] Для экспрессии слитого белка, обеспеченного в настоящем документе, можно использовать множество различных систем хозяин-вектор экспрессии (см., например, патент США № 5,807,715). Такие системы хозяин-вектор экспрессии представляют собой несущие среды для получения и последующей очистки интересующих кодирующих последовательностей, но также представляют собой клетки,

которые при трансформации или трансфекции соответствующими кодирующими нуклеотидными последовательностями способны экспрессировать слитой белок, обеспеченный в настоящем документе, in situ. Сюда, без ограничений, относятся микроорганизмы, как бактерии (например, E. coli и B. subtilis), трансформированные с применением рекомбинантной ДНК бактериофага, векторов экспрессии плазмидной ДНК или космидной ДНК, содержащих кодирующие последовательности; дрожжи (например, Saccharomyces Pichia), трансформированные с применением рекомбинантных векторов экспрессии дрожжей, содержащих кодирующие последовательности; системы клеток насекомых, инфицированных рекомбинантными векторами экспрессии (например, бакуловирусом), содержащими кодирующие последовательности; системы клеток растений, инфицированные рекомбинантными векторами вируса экспрессии (например, вирус мозаики цветной капусты, CaMV, вирус табачной мозаики, TMV) или трансформированные с применением рекомбинантных векторов экспрессии плазмиды (например, плазмиды Ti), содержащими кодирующие последовательности; или системы клеток млекопитающих (например, клетки COS, CHO, BHK, 293, NS0 и 3T3), несущие рекомбинантные конструкты экспрессии, содержащие промоторы, полученные из генома клеток млекопитающих (например, металлотионеиновый промотор) или из вирусов млекопитающих (например, поздний промотор аденовируса; промотор вируса осповакцины 7.5K). Для экспрессии рекомбинантного слитого белка можно использовать бактериальные клетки, такие как Escherichia coli, или эукариотические клетки, в частности для экспрессии всей молекулы рекомбинантного антитела. Например, клетки млекопитающих, такие как клетки яичника китайского хомячка (CHO), в сочетании с вектором, таким как основной элемент промежуточного раннего гена-промотора цитомегаловируса человека, являются эффективной системой экспрессии антител или их вариантов (Foecking et al., 1986, Gene 45:101; и Cockett et al., 1990, Bio/Technology 8:2). В некоторых вариантах осуществления обеспеченные в настоящем документе слитые белки, продуцируются клетками CHO. В конкретном варианте осуществления экспрессия нуклеотидных последовательностей, кодирующих слитые белки, обеспеченные в настоящем документе, регулируют конститутивным промотором, индуцируемым промотором или тканеспецифичным промотором.

[00349] В бактериальных системах число векторов экспрессии можно преимущественно выбирать в зависимости от предполагаемого применения экспрессируемого слитого белка. Например, когда предполагается формировать большое количество такого слитого белка для получения фармацевтических композиций слитого белка, может быть желательно использовать векторы, определяющие экспрессию высоких уровней продуктов слитого белка, которые с легкостью поддаются очистке. К таким векторам, без ограничений, относятся вектор экспрессии E. coli pUR278 (Ruther et al., 1983, EMBO 12:1791), в котором кодирующая последовательность может быть по отдельности лигирована в вектор в рамке с кодирующей областью lac Z, чтобы получить слитый белок; векторы pIN (Inouye & Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109; Van

Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509); и т. п. Векторы pGEX можно также применять для экспрессии чужеродных полипептидов в качестве слитых белков с глутатион 5-трансферазой (GST). Как правило, такие слитые белки растворимы и могут быть легко очищены от лизированных клеток путем адсорбции и связывания с матрицей глутатион-агарозных гранул с последующим элюированием в присутствии свободного глутатиона. Векторы pGEX выполнены с возможностью включения тромбина или сайтов расщепления протеазы фактора Xa, чтобы клонированный целевой продукт целевого гена можно было отделять от функциональной группы GST.

[00350] В системе насекомых вирус ядерного полиэдроза Autographa californica (AcNPV) применяют в качестве вектора для экспрессии чужеродных генов. Вирус растет в клетках Spodoptera frugiperda. Кодирующую последовательность можно клонировать по отдельности в неосновные области (например, ген полиэдрина) вируса и переводить под контроль промотора AcNPV (например, промотора полиэдрина).

[00351] В клетках-хозяевах млекопитающих можно использовать целый ряд вирусных систем экспрессии. В тех случаях, когда в качестве вектора экспрессии используют аденовирус, интересующую кодирующую последовательность можно лигировать с комплексом контроля транскрипции/трансляции аденовируса, например с поздним промотором и трехкомпонентной лидерной последовательностью. Этот химерный ген можно впоследствии вставлять в геном аденовируса с помощью рекомбинации in vitro или in vivo. Вставка неосновной области в вирусный геном (например, области E1 или E3) будет приводить к рекомбинантному вирусу, который жизнеспособен и способен экспрессировать слитой белок в инфицированных клетках-хозяевах (например, см. Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8 1:355-359). Для эффективной трансляции вставленных кодирующих последовательностей могут также потребоваться специфические сигналы инициации. К этим сигналам относятся кодон инициации ATG и смежные последовательности. Кроме того, для обеспечения трансляции всей вставки кодон инициации должен быть в фазе с рамкой считывания искомой кодирующей последовательности. Эти экзогенные контрольные сигналы трансляции и кодоны инициации могут иметь самое различное происхождение, как природное, так и синтетическое. Эффективность экспрессии может усиливаться за счет включения подходящих элементов энхансера транскрипции, терминаторов транскрипции и т. д. (см., например, Bittner et al., 1987, Methods in Enzymol. 153:51-544).

[00352] Кроме того, можно выбирать штаммы клетки-хозяина, которые модулируют экспрессию вставленных последовательностей или регулируют и обеспечивают процессинг генного продукта конкретным заданным образом. Подобные модификации (например, гликозилирование) и процессинг (например, расщепление) белковых продуктов могут иметь важное значение для функционирования белка. Различные клетки-хозяева обладают характерными и специфическими механизмами пост-трансляционного процессинга и модификации белков и генных продуктов. Соответствующие штаммы клеток или системы организма-хозяина можно выбирать для

обеспечения точной модификации и процессинга экспрессированного чужеродного белка. Для этого можно применять эукариотическую клетку-хозяин, которая обладает клеточным аппаратом для надлежащего процессинга первичного транскрипта, гликозилирования и фосфорилирования генного продукта. К таким клеткам-хозяевам млекопитающих могут, без ограничений, относиться клетки CHO, VERY, BHK, Hela, COS, MDCK, 293, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT2O и T47D, NS0 (клетки линии мышиной миеломы, которые эндогенно не продуцируют никакие цепи иммуноглобулина), CRL7O3O и HsS78Bst.

[00353] Стабильную экспрессию можно использовать для долгосрочной высокопроизводительной продукции рекомбинантных белков. Например, могут быть сконструированы линии клеток, которые стабильно экспрессируют слитые белки. Вместо использования векторов экспрессии, которые содержат вирусные источники репликации, клетка-хозяин может быть трансформирована с помощью ДНК в условиях регулирования, которое обеспечивается соответствующими элементами контроля экспрессии (например, промотором, энхансером, последовательностями, терминаторами транскрипции, сайтами полиаденилирования и пр.) и селективным маркером. После введения экзогенной ДНК клетки, полученные методами генетической инженерии, можно оставлять для роста в течение 1-2 дней в обогащенных средах и впоследствии переносить в избирательные среды. Селективный маркер в рекомбинантной плазмиде обеспечивает устойчивость к отбору и позволяет клеткам стабильно интегрировать плазмиду в свои хромосомы и расти с образованием очагов, которые затем можно клонировать и размножать в клеточные линии. Данный способ можно преимущественно применять для конструирования клеточных линий, которые экспрессируют слитый белок. Такие сконструированные линии клеток можно, в частности, использовать для скрининга и оценки композиций, которые прямо или косвенно взаимодействуют со связывающей молекулой.

[00354] Можно применять целый ряд систем селекции, в том числе, без ограничений, гены тимидинкиназы вируса простого герпеса (Wigler et al., 1977, Cell 11:223), гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы (Szybalska & Szybalski, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202) и аденинфосфорибозилтрансферазы (Lowy et al., 1980, Cell 22:8-17) можно использовать в tk-, hgprt- или aprt-клетках соответственно. Кроме того, устойчивость к антиметаболитам можно применять в качестве основы для селекции следующих генов: dhfr, который обеспечивает резистентность к метотрексату (Wigler et al., 1980, Natl. Acad. Sci. USA 77:357; O'Hare et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527); gpt, который обеспечивает резистентность к микофеноловой кислоте (Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072); neo, который обеспечивает резистентность к аминогликозиду G-418 (Wu and Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan, 1993, Science 260:926-932; и Morgan and Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217; May, 1993, TIB TECH 11(5):l55-2 15); и hygro, который обеспечивает резистентность к гигромицину (Santerre et al., 1984, Gene 30:147). Способы, широко известные в области технологии рекомбинантной ДНК, можно

стандартным образом применять для отбора искомого рекомбинантного клона, и такие способы описаны, например, в Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); и в Chapters 12 and 13, Dracopoli et al. (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colberre-Garapin et al., 1981, J. Mol. Biol. 150:1, которые полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

[00355] Уровень экспрессии слитого белка можно увеличивать путем вектора амплификации (обзор см. в Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)). В случае возможности амплификации маркера в векторной системе, экспрессирующей слитой белок, увеличение уровня ингибитора, присутствующего в культуре клетки-хозяина, будет приводить к росту числа копий маркерного гена. Поскольку амплифицируемая область ассоциирована с геном слитого белка, продукция слитого белка будет также возрастать (Crouse et al., 1983, Mol. Cell. Biol. 3:257).

[00356] Возможна котрансфекция клетки-хозяина множеством векторов экспрессии, обеспеченных в настоящем документе. Векторы могут содержать идентичные селективные маркеры, которые обеспечивают равную экспрессию соответствующих кодирующих полипептидов. В альтернативном варианте осуществления можно использовать единичный вектор, который кодирует и способен экспрессировать множество полипептидов. Кодирующие последовательности могут содержать кДНК или геномную ДНК.

[00357] После того как молекула слитого белка, обеспеченного в настоящем документе, была получена посредством рекомбинантной экспрессии, ее можно очищать любым способом, известным специалистам в области очистки полипептидов, например хроматографией (например, ионообменной, аффинной, в частности, опирающейся на специфического антигена к белку А, колоночной хроматографией с распределением по размерам и каппа-селективной аффинной хроматографией), центрифугированием, дифференциальной растворимостью или с помощью любой другой стандартной методики для очистки белков. Кроме того, молекулы слитых белков, обеспеченные в настоящем документе, могут быть слиты с гетерологичными полипептидными последовательностями, описанными в настоящем документе, или иными, известными специалистам в данной области, для облегчения очистки.

5.4. Полинуклеотиды

[00358] В определенных вариантах осуществления в настоящем описании обеспечены полинуклеотиды, которые кодируют однодоменные антитела, которые связываются с pIgR, и слитые белки, содержащие однодоменные антитела, которые связываются с pIgR, как описано в настоящем документе. Полинуклеотиды в соответствии с описанием могут быть в форме РНК или в форме ДНК. ДНК включает кДНК, геномную ДНК и синтетическую ДНК; и может быть двухцепочечной или одноцепочечной, и в

случае одноцепочечной может быть кодирующей цепью или некодирующей (антисенсовой) цепью. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представлен в форме ДНК. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой синтетический полинуклеотид.

[00359] В примерах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, обеспеченная в настоящем документе, включает последовательность, которая кодирует однодоменное антитело с последовательностью:

QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDW NGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYG GMDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93), EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94), QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV TVSS (SEQ ID NO: 95), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 96), QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 97), EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 98), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99), QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 100), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 101), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

[00360] В примерах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит последовательность:

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTC
TGAAACTCGCCTGTGCAGCACCTGGACTTACCTTCAGTTCGTATCGCATGGGCTGGT
TCCGCCAGGCTCCAGGGCAGGAGCGTGAGTTTGTAGCAGCTATTGATTGGAATGGTC
GTGGCACATATTATCGATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATTTCCA
GAGACAACGCCAAGAACACGATGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGAC
ACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCAGGTTCGATCGACCTTAACTGGTACGGCGGCATG
GACTACTGGGGCNANGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 133),
GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTCTGAA
ACTCGCCTGTGCAGCACCTGGACTTACCTTCAGTTCGTATCGCATGGGCTGGTTCCG
CCAGGCTCCAGGGCAGGAGCGTGAGTTTGTAGCAGCTATTGATTGGAATGGTCGTG
GCACATATTATCGATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATTTCCAGAG
ACAACGCCAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACG
GCCGTTTATTACTGTGCAGCTACTACGGTATTAACTGACCCTAGGGTTCTTAATGAG
TATGCCACATGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 134),
CAGTTGCAGCTCGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGGGGGGTCTCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAAGCATCTTCAGTATCAATGTTATGGGCTGGTACCG
CCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGAGTTGGTCGCACGTATTAATGGAGGTGGCATTA
CACACTATGCAGAGTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAG
AACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACAGCCGCATATTA
CTGTAAGGCAGATGTGTTCGGTAGTAGCGGGTACGTAGAAACCTACTGGGGCCAGG
GGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 135),
GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAACCTCCGTCAGTAGCAATGCCATGGGTTGGTACCG
CCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGAGTGGGTCGGATTTATTGATCGTATTGCTACCAC
GACGATTGCAACCTCCGTGAAGGGCCGATTCGCCATCACCAGAGACAACGCCAAGA
ACACGGTGTATCTCCAAATGAGCGGCCTGAAACCTGAGGACACAGCCGTCTATTACT
GTAATCATCCATTGACCGCTCGGTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 136),
CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCAGTAGCTATGCCATGGGCTGGTTCCG
CCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGTGAGTTTGTAGCAGCTATTACCTGGAATGGTGGTA
CCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCC
AAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACGGCCGTTTA
TTACTGTGCAGCAGACCCATTCAACCAAGGCTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCA
CCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 137),
GAGGTGCAGCTCGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGGTCTCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAAGCTCCGTCAGTAGCGATGCCATGGGTTGGTACCG
CCAGGCTCCAGGGAATCAGCGCGCGTGGGTCGCATTTATTTCTGGTGGTGGTACCAC

AACCTATGCAGACTCCGTTAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACACCAAGA
ACACGGTGTATCTCCACATGAACAGCCTGAAACCTGAAGACACAGCCGTCTATTACT
GTAATCATCCATTGACGTCTCGGTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA
(SEQ ID NO: 138),
GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGGTCTCTGAG
ACTCGCCTGTGTAGCCTCTAGAAGCATCGGCAGTATCAATGTTATGGGCTGGTACCG
CCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGACTTGGTCGCACGTATTACTGGAGGTGGCAGTA
CACACTACGCAGAGTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAG
AACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGGAACCTGAGGACACGGCCGTTTATTA
CTGTGCGTCAATGGTAAACCCTATCATTACGGCTTGGGGTACGATTGGTGTGCGCGA
GATTCCCGACTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ
ID NO: 139),
GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGGTCTCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCACCCGCTATGCCATGGGCTGGTTCCGC
CAGGCTCCAGGGAAGGAGCGATCGTTTGTAGCAGCTATTAGCTGGAGTGGTAGTAG
CGCAGGCTATGGAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCA
AGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTAAAACCTGAGGACACGGCCGTTTAT
TACTGTGCAGCAGACCCATTCAACCAAGGCTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCAC
CGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 140),
GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCACTACCTATCGCATGGGCTGGTTCCG
CCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGAGAGTTTGTAGCAGCTATTCGCTGGAGTGGTGGTC
GCACATTGTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGCC
AAGAACACAGCGTATCTGCAAATGAACAACCTGAGACCTGAGGACACGGCCGTTTA
TTACTGTGCAGCAGATCTAGCCGAGTATAGTGGTACTTACTCCAGCCCTGCGGACTC
CCCCGCTGGGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ
ID NO: 141), или
CAGGTGCAGCTGGTCGAAACTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGACTCTCTGAG
ACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCCTCAGCTTCAACACCTATGCCATGGGCTG
GTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGTGAATTTGTAGCCTCTATTACCTGGAATGG
TGGAAGCACAAGCTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCACCAGAGACA
ACGCCAAGAACACGGCTACTCTGCGAATGAATAGCCTGCAGCCCGACGACACGGCC
GTGTATTACTGTGCAGCAGCCCGATACTATGTGAGTGGTACTTACTTCCCCGCGAAT
TACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO: 142).

[00361] Кроме того, обеспечены векторы, содержащие молекулы нуклеиновой кислоты, описанные в настоящем документе. В варианте осуществления молекулы нуклеиновых кислот можно встраивать в рекомбинантный вектор экспрессии. В настоящем описании обеспечены рекомбинантные векторы экспрессии, содержащие любую из нуклеиновых кислот по описанию. Используемый в данном документе термин «рекомбинантный вектор экспрессии» означает генетически модифицированный

олигонуклеотидный или полинуклеотидный конструкт, который обеспечивает экспрессию мРНК, белка, полипептида или пептида клеткой-хозяином, когда конструкт содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую мРНК, белок, полипептид или пептид, а вектор приводят в контакт с клеткой в условиях, достаточных для экспрессии мРНК, белка, полипептида или пептида внутри клетки. Описанные в данном документе векторы не встречаются в природе в целом; однако части векторов могут быть природного происхождения. Описанные рекомбинантные векторы экспрессии могут содержать нуклеотиды любого типа, включая, без ограничений, ДНК и РНК, которые могут быть одноцепочечными или двухцепочечными, синтезированными или частично полученными из природных источников и которые могут содержать природные, неприродные или измененные нуклеотиды. Рекомбинантные векторы экспрессии могут содержать межнуклеотидные связи природного происхождения или неприродного происхождения или оба типа связей. Неприродные или измененные нуклеотиды или межнуклеотидные связи не препятствуют транскрипции или репликации вектора.

[00362] В варианте осуществления рекомбинантный вектор экспрессии описания может быть любым приемлемым рекомбинантным вектором экспрессии и может быть использован для трансформации или трансфекции любого приемлемого организма-хозяина. Приемлемые векторы включают векторы, предназначенные для размножения и экспансии или для экспрессии, или и того, и другого, такие как плазмиды и вирусы. Вектор может быть выбран из группы, состоящей из серии pUC (Fermentas Life Sciences, Глен Берни, штат Мэриленд, США), серии pBluescript (Stratagene, г. Ла-Холья, штат Калифорния, США), серии pET (Novagen, г. Мэдисон, штат Висконсин, США), серии pGEX (Pharmacia Biotech, г. Уппсала, Швеция) и серии pEX (Clontech, г. Пало-Альто, штат Калифорния, США). Можно использовать векторы бактериофагов, такие как λGT10, λGT11, λEMBL4 и λNM1149, λZapII (Stratagene). Примеры векторов экспрессии растений включают pBI01, pBI01.2, pBI121, pBI101.3 и pBIN19 (Clontech). Примеры векторов экспрессии на животных включают pEUK-Cl, pMAM и pMAMneo (Clontech). Рекомбинантный вектор экспрессии может быть вирусным вектором, например ретровирусным вектором, например гамма-ретровирусным вектором.

[00363] В варианте осуществления рекомбинантные векторы экспрессии получают с применением стандартных методик рекомбинантной ДНК, описанных, например, в Sambrook et al., выше, и Ausubel et al., выше. Могут быть получены конструкты векторов экспрессии, которые являются кольцевыми или линейными, чтобы они содержали систему репликации, функционирующую в прокариотической или эукариотической клетке-хозяине. Системы репликации могут быть получены, например, из ColE1, SV40, 2μ плазмиды, λ, вируса бычьей папилломы и т. п.

[00364] Рекомбинантный вектор экспрессии может содержать регуляторные последовательности, такие как инициирующие и терминирующие кодоны транскрипции и трансляции, которые специфичны для типа хозяина (например, бактерии, растения, гриба или животного), в который должен быть введен вектор, при необходимости, при этом

учитывается, основан ли вектор на ДНК или РНК.

[00365] Рекомбинантный вектор экспрессии может включать один или более маркерных генов, которые позволяют отбирать трансформированные или трансфицированные организмы-хозяева. Маркерные гены включают гены резистентности к биоцидам, например гены резистентности к антибиотикам, тяжелым металлам и т. д., комплементации в ауксотрофном хозяине для обеспечения прототрофности и т. п. Приемлемые маркерные гены для описанных векторов экспрессии включают, например, гены резистентности к неомицину/G418, гены резистентности к гистидинолу X, гены резистентности к гистидинолу, гены резистентности к тетрациклину и гены резистентности к ампициллину.

[00366] Рекомбинантный вектор экспрессии может включать нативный или нормативный промотор, функционально связанный с нуклеотидной последовательностью описания. Выбор промоторов, например сильных, слабых, тканеспецифичных, индуцируемых и специфичных для развития промоторов находится в рамках квалификации обычного специалиста в данной области техники. Аналогичным образом комбинирование нуклеотидной последовательности с промотором также находится в рамках квалификации специалиста в данной области техники. Промотор может представлять собой невирусный промотор или вирусный промотор, например промотор цитомегаловируса (CMV), промотор RSV, промотор SV40 или промотор, присутствующий в длинном концевом повторе вируса мышиных стволовых клеток.

[00367] Рекомбинантные векторы экспрессии могут быть разработаны либо для транзиентной экспрессии, либо для стабильной экспрессии, либо для обоих типов. Кроме того, рекомбинантные векторы экспрессии могут быть получены для конститутивной экспрессии или для индуцируемой экспрессии.

[00368] Дополнительно могут быть созданы рекомбинантные векторы экспрессии, включающие суицидальный ген. Используемый в данном документе термин «суицидальный ген» относится к гену, который заставляет клетку, экспрессирующую суицидальный ген, погибать. Суицидальный ген может быть геном, который придает чувствительность к агенту, например лекарственному средству, клетке, в которой экспрессируется ген, и заставляет клетку погибать, когда клетку приводят в контакт с агентом или она подвергается его воздействию. Суицидальные гены известны в данной области и включают, например, ген тимидинкиназы (TK) вируса простого герпеса (HSV), цитозиндезаминазу, пурин-нуклеозидфосфорилазу и нитроредуктазу.

[00369] Настоящее описание дополнительно относится к вариантам описанных в настоящем документе полинуклеотидов, причем вариант кодирует, например, фрагменты, аналоги и/или производные однодоменного антитела, которое связывается с pIgR по описанию. В определенных вариантах осуществления в настоящем описании обеспечен полинуклеотид, содержащий полинуклеотид, имеющий нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере около на 80% идентична, на по меньшей мере около 85% идентична, на по меньшей мере около 90% идентична, на по меньшей

мере около 95% идентична и в некоторых вариантах осуществления на по меньшей мере около 96%, 97%, 98% или 99% идентична полинуклеотиду, кодирующему однодоменное антитело, которое связывается с pIgR по описанию.

[00370] Используемое в настоящем документе выражение «полинуклеотид, имеющий нуклеотидную последовательность, которая на по меньшей мере, например, 95% «идентична» эталонной нуклеотидной последовательности» призвано означать, что нуклеотидная последовательность полинуклеотида идентична эталонной последовательности за исключением того, что последовательность полинуклеотида может содержать до пяти точечных мутаций на каждые 100 нуклеотидов эталонной нуклеотидной последовательности. Иными словами, чтобы получить полинуклеотид с нуклеотидной последовательностью, которая по меньшей мере на 95% идентична эталонной нуклеотидной последовательности, до 5% нуклеотидов в эталонной последовательности могут быть удалены или заменены на другой нуклеотид, или несколько нуклеотидов, составляющих до 5% от общего числа нуклеотидов в эталонной последовательности, могут быть вставлены в эталонную последовательность. Эти мутации в эталонной последовательности могут происходить в 5′ или 3′-концевых положениях эталонной нуклеотидной последовательности или в любом месте между этими двумя концевыми положениями, рассеянными по отдельности между нуклеотидами в эталонной последовательности, или в одной или более непрерывных групп в пределах эталонной последовательности.

[00371] Варианты полинуклеотидов могут содержать изменения в кодирующих областях, в некодирующих областях или обоих упомянутых областях. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида содержит изменения, которые формируют молчащие замены, добавления или делеции, но не изменяют свойств или активности кодируемого полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида содержит молчащие замены, которые не приводят к изменению аминокислотной последовательности полипептида (из-за вырождения генетического кода). Варианты полинуклеотидов могут продуцироваться по самым разным причинам, например для оптимизации экспрессии кодона для определенной клетки-хозяина (т. е. изменение кодонов в человеческой мРНК на те, которые предпочтительны бактериальной клеткой-хозяином, такой как E. coli). В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида содержит по меньшей мере одну молчащую мутацию в некодирующей или кодирующей области последовательности.

[00372] В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида получают для модулирования или изменения экспрессии (или уровни экспрессии) кодируемого полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида получают для повышения экспрессии кодируемого полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида получают для подавления экспрессии кодируемого полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида характеризуется повышенной экспрессией кодируемого полипептида по

сравнению с исходной полинуклеотидной последовательностью. В некоторых вариантах осуществления вариант полинуклеотида характеризуется пониженной экспрессией кодируемого полипептида по сравнению с исходной полинуклеотидной последовательностью.

[00373] В определенных вариантах осуществления полинуклеотид выделяют. В определенных вариантах осуществления полинуклеотид является по существу чистым.

[00374] Кроме того, обеспечены клетки-хозяева, содержащие молекулы нуклеиновой кислоты, описанные в настоящем документе. Клеткой-хозяина может быть любая клетка, которая содержит гетерологичную нуклеиновую кислоту. Гетерологичная нуклеиновая кислота может представлять собой вектор (например, вектор экспрессии). Например, клеткой-хозяина может быть клетка любого организма, которая отбирается, модифицируется, трансформируется, выращивается, используется или проходит любые манипуляции для продуцирования клеткой вещества, например экспрессии клеткой гена, последовательности ДНК или РНК, белка или фермента. Может определяться подходящая клетка-хозяин. Например, клетка-хозяин может быть выбрана на основании каркаса вектора и желаемого результата. В качестве примера в прокариотическую клетку можно вводить плазмиду или космиду для репликации нескольких типов векторов. В качестве клеток-хозяина для репликации и/или экспрессии вектора можно использовать бактериальные клетки, такие как, без ограничений, DH5α, JM109 и KCB, SURE® Competent Cells и SOLOPACK Gold Cells. Кроме того, в качестве клеток-хозяина для фаговых вирусов можно использовать бактериальные клетки, например E. coli LE392. К эукариотическим клеткам, которые можно использовать в качестве клеток-хозяина, без ограничений, относятся дрожжи (например, YPH499, YPH500 и YPH501), клетки насекомых и млекопитающих. Примеры эукариотических клеток-хозяев млекопитающих для репликации и/или экспрессии вектора, без ограничений, включают HeLa, NIH3T3, Jurkat, 293, COS, Saos, PC12, SP2/0 (American Type Culture Collection (ATCC), г. Манассас, штат Вирджиния, CRL-1581), NS0 (European Collection of Cell Cultures (ECACC), г. Солсбери, Уилтшир, Великобритания, ECACC № 85110503), FO (ATCC CRL-1646) и Ag653 (ATCC CRL-1580) мышиные клеточные линии. Примером клеточной линии миеломы человека является U266 (ATTC CRL-TIB-196). Другие используемые клеточные линии включают линии, полученные из клеток яичника китайского хомячка (CHO), например CHO-K1SV (Lonza Biologics, г. Уолкерсвилл, штат Мэриленд, США), CHO-K1 (ATCC CRL-61) или DG44.

5.5. Фармацевтические композиции

[00375] В одном аспекте в настоящем описании дополнительно обеспечены фармацевтические композиции, содержащие однодоменное антитело или терапевтическую молекулу настоящего описания. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество антитела или терапевтической молекулы, обеспеченных в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый эксципиент.

[00376] В конкретном варианте осуществления термин «эксципиент» может также относиться к разбавителю, адъюванту (например, адъювант Фрейнда (полный или неполный)) или к несущей среде. Фармацевтические эксципиенты могут быть стерильными жидкостями, такими как вода или масла, включая масла, получаемые из нефти, масла растительного, животного или синтетического происхождения, например арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и т. п. Примером эксципиента является вода. Физиологические растворы и водные растворы декстрозы и глицерина можно также применять в качестве жидких эксципиентов. К приемлемым фармацевтическим эксципиентам относятся крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, глицеринмоностеарат, тальк, хлорид натрия, сухое снятое молоко, глицерин, пропилен-гликоль, вода, этанол и т. п. Если требуется, состав может также содержать небольшие количества смачивающих веществ, или эмульгаторов, или буферных веществ для поддержания pH. Эти препараты могут иметь форму растворов, суспензий, эмульсий, таблеток, пилюль, капсул, порошков, лекарственных форм с пролонгированным действием и т. п. Примеры приемлемых фармацевтических эксципиентов описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA. Такие композиции будут содержать профилактически или терапевтически эффективное количество антител или терапевтических молекул, обеспеченных в настоящем документе, например, в очищенной форме, наряду с приемлемым количеством эксципиента, чтобы получить форму для надлежащего введения пациенту. Состав должен соответствовать способу введения.

[00377] Однодоменное антитело или терапевтическая молекула, обеспеченные в настоящем документе, могут быть составлены в любой приемлемой форме для доставки в целевую клетку/ткань, например, в виде микрокапсул или макроэмульсий (Remington, выше; Park et al., 2005, Molecules 10:146-61; Malik et al., 2007, Curr. Drug. Deliv. 4:141-51), в качестве составов с замедленным высвобождением (Putney and Burke, 1998, Nature Biotechnol. 16:153-57), или в липосомах (Maclean et al., 1997, Int. J. Oncol. 11:325-32; Kontermann, 2006, Curr. Opin. Mol. Ther. 8:39-45).

[00378] Однодоменное антитело или терапевтическая молекула, обеспеченные в настоящем документе, также могут быть захвачены в микрокапсулы, полученные, например, с помощью методик коацервации или с помощью межфазной полимеризации, например гидроксиметилцеллюлозные или желатиновые микрокапсулы и полиметилметакрилатные микрокапсулы соответственно, в коллоидные системы доставки лекарственного средства (например, липосомы, альбуминовые микросферы, микроэмульсии, наночастицы и нанокапсулы) или в макроэмульсии. Такие методики описаны, например, в Remington, выше.

[00379] Известны разные композиции и системы доставки, и их можно применять для однодоменного антитела или терапевтической молекулы, обеспеченных в настоящем документе, включая, без ограничений, инкапсулирование в липосомах, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать однодоменное

антитело или терапевтическую молекулу, обеспеченные в настоящем документе, конструирование нуклеиновой кислоты как части ретровирусного или другого вектора и т. п.

[00380] В некоторых вариантах осуществления антитело или терапевтическая молекула, обеспеченные в настоящем документе, составлены в форме фармацевтической композиции, приемлемой для менее инвазивного или неинвазивного введения. В конкретном варианте осуществления антитело или терапевтическая молекула, обеспеченные в настоящем документе, составлены в форме фармацевтической композиции, приемлемой для перорального введения. В конкретном варианте осуществления антитело или терапевтическая молекула, обеспеченные в настоящем документе, составлены в форме фармацевтической композиции, приемлемой для буккального введения. В конкретном варианте осуществления антитело или терапевтическая молекула, предлагаемые в настоящем документе, составлены в форме фармацевтической композиции, приемлемой для ингаляционного введения. В конкретном варианте осуществления антитело или терапевтическая молекула, обеспеченные в настоящем документе, составлены в форме фармацевтической композиции, приемлемой для назального введения. Не имеющие ограничительного характера примеры дозированных форм более подробно описаны в следующих разделах.

5.5.1. Пероральные дозированные формы

[00381] В определенных вариантах осуществления антитела или терапевтические молекулы, обеспеченные в настоящем документе, составлены в форме фармацевтической композиции, приемлемой для перорального введения. Пероральное введение может быть представлено в виде отдельных дозированных форм, таких как, без ограничений, таблетки (например, жевательные таблетки), капсуловидные таблетки, капсулы и жидкости (например, ароматизированные сиропы). Такие дозированные формы содержат заранее заданные количества активных ингредиентов и могут быть приготовлены с помощью способов фармации, хорошо известных специалистам в области. См. общую информацию в *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

[00382] Традиционные пероральные дозированные формы получают комбинированием активных ингредиентов в тщательно перемешанной смеси с по меньшей мере одним эксципиентом в соответствии с принятыми методиками составления фармацевтических смесей. Эксципиенты можно применять в самом широком разнообразии форм в зависимости от формы препарата, требуемого для введения. Например, к эксципиентам, приемлемым для применения в пероральных жидких или аэрозольных дозированных формах относятся, без ограничений, вода, гликоли, масла, спирты, ароматизаторы, консерванты и красители. К примерам эксципиентов, приемлемых для применения в твердых пероральных дозированных формах (например, порошки, таблетки, капсулы и капсуловидные таблетки), без ограничений, относятся крахмалы, сахара, микрокристаллическая целлюлоза, разбавители, гранулообразующие агенты, смазывающие вещества, связующие вещества и вещества для улучшения

распадаемости таблеток.

[00383] Благодаря простоте введения, таблетки и капсулы представляют собой предпочтительную пероральную дозированную стандартную форму, и в этом случае применяют твердые эксципиенты. При необходимости на таблетки можно наносить покрытие с применением стандартных водных или безводных методик. Такие дозированные формы могут быть приготовлены с помощью любого из способов фармации. Как правило, фармацевтические композиции и дозированные формы получают посредством однородного и тщательного смешивания активных ингредиентов с жидкими носителями, тонко измельченными твердыми носителями или обоими видами носителей, и впоследствии при необходимости с формованием продукта в желательную форму представления.

[00384] Например, таблетка может быть получена посредством прессования или формования. Прессованные таблетки можно получать путем прессования в приемлемой машине активных ингредиентов, находящихся в свободнотекучей форме, таких как порошок или гранулы, необязательно смешанные с эксципиентом. Формованные таблетки можно получать путем формования в приемлемой машине смеси порошкообразного соединения, смоченной инертным жидким разбавителем.

[00385] К примерам эксципиентов, которые можно применять в пероральных дозированных формах, обеспеченных в настоящем документе, без ограничений, относятся связующие вещества, наполнители, вещества для улучшения распадаемости таблеток и смазывающие вещества. К связующим веществам, приемлемым для применения в фармацевтических композициях и дозированных формах, без ограничений, относятся кукурузный крахмал, картофельный крахмал или другие крахмалы, желатин, природная и синтетическая камеди, такие как гуммиарабик, альгинат натрия, альгиновая кислота, другие альгинаты, трагакантовая камедь, гуаровая камедь, целлюлоза и ее производные (например, этилцеллюлоза, ацетат целлюлозы, кальций-карбоксилметилцеллюлоза, натрий-карбоксилметилцеллюлоза), поливинилпирролидон, метилцеллюлоза, предварительно желатинизированный крахмал, гидроксипропилметилцеллюлоза (например, № 2208, 2906, 2910), микрокристаллическая целлюлоза и их смеси.

[00386] К приемлемым формам микрокристаллической целлюлозы, без ограничений, относятся материалы, предлагаемые под маркой AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103 AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (предлагаемые FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, г. Маркус-Хук, штат Пенсильвания, США), и их смеси. Специфическим связующим веществом является смесь микрокристаллической целлюлозы и натрий-карбоксиметилцеллюлозы, предлагаемая под маркой AVICEL RC-581. К приемлемым безводным эксципиентам, или эксципиентам с низким содержанием влаги, или к добавкам относятся AVICEL-PH-103™ и Starch 1500 LM.

[00387] К примерам наполнителей, приемлемых для применения в фармацевтических композициях и дозированных формах, описанных в настоящем документе, без ограничений, относятся тальк, карбонат кальция (например, гранулы или

порошок), микрокристаллическая целлюлоза, порошок целлюлозы, декстраты, каолин, маннит, кремниевая кислота, сорбит, крахмал, предварительно желатинизированный крахмал и их смеси. Связующее вещество или наполнитель в фармацевтических композициях, обеспеченных в настоящем документе. как правило, присутствует в количестве от около 50 до около 99 масс.% фармацевтической композиции или дозированной формы.

[00388] Вещества для улучшения распадаемости таблеток применяют в композициях для получения таблеток, которые распадаются под воздействием водной среды. Таблетки, которые содержат слишком много вещества для улучшения распадаемости таблеток, могут разлагаться при хранении, в то время как таблетки, которые содержат слишком мало вещества для улучшения распадаемости таблеток, могут не распадаться с желаемой скоростью или в желаемых условиях. Таким образом, для образования твердых пероральных дозированных форм следует использовать достаточное количество вещества для улучшения распадаемости таблеток, которое не является ни слишком большим, ни слишком малым и, следовательно, не оказывает негативного влияния на высвобождение активных ингредиентов. Применяемое количество вещества для улучшения распадаемости таблеток зависит от типа состава и хорошо известно специалистам в данной области. Типичные фармацевтические композиции содержат от около 0,5 до около 15 масс.% вещества для улучшения распадаемости таблеток, предпочтительно от около 1 до около 5 масс.% вещества для улучшения распадаемости таблеток.

[00389] К веществам для улучшения распадаемости таблеток, которые можно использовать в фармацевтических композициях и дозированных формах, без ограничений, относятся агар-агар, альгиновая кислота, карбонат кальция, микрокристаллическая целлюлоза, натрий-кроскармеллоза, кросповидон, полакрилин калия, натриевую соль гликолята крахмала, картофельный или тапиоковый крахмал, другие крахмалы, предварительно желатинизированный крахмал, другие крахмалы, глины, другие альгины, другие целлюлозы, камеди и их смеси.

[00390] К смазывающим веществам, которые можно применять в фармацевтических композициях и дозированных формах, без ограничений, относятся стеарат кальция, стеарат магния, минеральное масло, легкое минеральное масло, глицерин, сорбит, маннит, полиэтиленгликоль, другие гликоли, стеариновая кислота, лаурилсульфат натрия, тальк, гидрогенизированное растительное масло (например, арахисовое масло, хлопковое масло, подсолнечное масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло), стеарат цинка, этилолеат, этиллауреат, агар и их смеси. К дополнительным смазывающим веществам относятся, например, силоидный силикагель (AEROSIL200, выпускаемый W.R. Grace Co., г. Балтимор, штат Мэриленд, США), коагулированный аэрозоль синтетического диоксида кремния (выпускаемый Evonik Degussa Co., г. Плейно, штат Техас, США), CAB-O-SIL (продукт пирогенного диоксида кремния, предлагаемый Cabot Co., г. Бостон, штат Массачусетс, США) и их

смеси. В случае их использования смазывающие вещества, как правило, применяют в количестве менее около 1 масс. % от фармацевтических композиций или дозированных форм, в которые их вводят.

5.5.2. Дозированные формы для местного и мукозального применения

[00391] К дозированным формам для местного и мукозального применения, обеспеченным в настоящем документе, без ограничений, относятся спреи, аэрозоли, растворы, эмульсии, суспензии, глазные капли или другие офтальмологические препараты, или другие формы, известные специалистам в данной области. См., например, *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16th and 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990); и Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1985). В некоторых вариантах осуществления дозированные формы для мукозального применения, обеспеченные в настоящем документе, приемлемы для внесения на мукозальную (буккальную) поверхность полости рта или на назальную мукозальную поверхность субъекта.

[00392] Приемлемые эксципиенты (например, носители и разбавители) и другие материалы, которые можно применять для обеспечения дозированных форм для местного и мукозального применения, хорошо известны специалистам в фармацевтической области, и зависят от конкретной ткани, в которую будут вноситься конкретная фармацевтическая композиция или дозированная форма. С учетом этого к стандартным эксципиентам, без ограничений, относятся вода, ацетон, этанол, этиленгликоль, пропиленгликоль, бутан-1,3-диол, изопропилмиристат, изопропилпальмитат, минеральное масло и их смеси с образованием растворов, эмульсий или гелей, которые нетоксичны и являются фармацевтически приемлемыми. Увлажнители или смачивающие вещества могут также при необходимости к фармацевтическим композициям и дозированным формам. Примеры таких дополнительных ингредиентов хорошо известны в данной области. См., например, Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 16th and 18th eds., Mack Publishing, Easton PA (1980 & 1990).

[00393] pH фармацевтической композиции или дозированной формы можно также корректировать для улучшения доставки одного или более активных ингредиентов. Аналогичным образом для улучшения доставки можно корректировать полярность растворителя-носителя, его ионную силу или тоничность. Такие соединения, как стеараты, можно также добавлять к фармацевтическим композициям или дозированным формам, чтобы предпочтительным образом изменять гидрофильность или липофильность одного или более активных ингредиентов так, чтобы улучшить доставку. При этом стеараты могут выступать в качестве липидной несущей среды для состава, в качестве эмульгирующего агента или поверхностно-активного вещества и как улучшающий доставку или усиливающий проницаемость агент. Можно использовать различные соли, гидраты или сольваты активных ингредиентов для дополнительной корректировки свойств получаемой композиции.

5.5.3. Дозированные формы с отсроченным высвобождением

[00394] В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция может быть обеспечена в качестве системы с замедленным высвобождением или с отсроченным высвобождением. В одном варианте осуществления для достижения замедленного или отсроченного высвобождения можно использовать насос (см., например, Langer, выше; Sefton, 1987, Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201-40; Buchwald et al., 1980, Surgery 88:507-16; и Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321:569-74). В другом варианте осуществления для достижения замедленного или отсроченного высвобождения профилактического или терапевтического агента (например, слитой белок, как описано в настоящем документе) или обеспеченной в настоящем документе композиции можно использовать полимерные материалы (см., например, Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise eds., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen and Ball eds., 1984); Ranger and Peppas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61-126; Levy et al., 1985, Science 228:190-92; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351-56; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105-12; U.S. Pat. Nos. 5,679,377; 5,916,597; 5,912,015; 5,989,463; и 5,128,326; и публикации PCT № WO 99/15154 и WO 99/20253). К примерам полимеров, применяемых в составах для замедленного высвобождения, без ограничений, относятся поли(2-гидроксиэтилметакрилат), полиметилметакрилат, полиакриловая кислота, сополимеры полиэтилена и поливинилацетата, полиметакриловая кислота, полигликолиды (PLG), полиангидриды, поли(N-винилпирролидон), поливиниловый спирт, полиакриламид, полиэтиленгликоль, полилактиды (PLA), сополимеры полилактида и полигликолидов (PLGA) и полиортоэфиры. В одном варианте осуществления полимер, применяемый в составе для замедленного высвобождения, является инертным, свободным от вымываемых примесей, стабильным при хранении, стерильным и биоразлагаемым.

[00395] В еще одном варианте осуществления система контролируемого или замедленного высвобождения может располагаться в непосредственной близости от конкретной целевой ткани, например носового прохода или легких, а потому потребуется лишь часть от системной дозы (см., например, Goodson, Medical Applications of Controlled Release Vol. 2, 115-38 (1984)). Системы контролируемого высвобождения обсуждаются, например, в Langer, 1990, Science 249:1527-33. Для получения составов с замедленным высвобождением, содержащих один или более агентов, как описано в настоящем документе, можно применять любую методику, известную специалистам в данной области (см., например, патент США № 4,526,938, публикации PCT № WO 91/05548 и WO 96/20698, Ning et al., 1996, Radiotherapy & Oncology 39:179-89; Song et al., 1995, PDA J. of Pharma. Sci. & Tech. 50:372-97; Cleek et al., 1997, Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-54; и Lam et al., 1997, Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-60).

5.6. Способы и применение

[00396] Как показано в настоящем описании, однодоменные антитела (например, домены VHH), обеспеченные в настоящем документе, используют для транспорта агента от апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки до базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки, и могут доставлять агент, например, в

большой круг кровообращения, или в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника, или в желудочно-кишечный тракт субъекта с применением таких способов как пероральная доставка, буккальная доставка, назальная доставка или ингаляционная доставка. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00397] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ доставки от апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки до базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки, включающий приведение pIgR-экспрессирующей клетки в контакт с (i) однодоменным антителом, которое связывается с pIgR, как описано в настоящем документе, или (ii) терапевтической молекулой, содержащей агент и однодоменное антитело. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело

представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00398] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе обеспечено однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, как показано в настоящем документе, для применения в доставке агента от апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки до базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки, причем агент конъюгирован с однодоменным антителом. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00399] В некоторых вариантах осуществления в настоящем документе обеспечено применение однодоменного антитела, которое связывается с pIgR, как показано в настоящем документе, для доставки агента от апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки до базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки, причем агент конъюгирован с однодоменным антителом. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В

другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00400] В других вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ транспорта терапевтической молекулы к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки субъекта, включающий введение субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и домен VHH. В некоторых вариантах осуществления терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело

представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00401] В других вариантах осуществления в настоящем документе обеспечено однодоменное антитело для применения в транспорте терапевтической молекулы к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки субъекта, причем терапевтическая молекула содержит агент и однодоменное антитело. В некоторых вариантах осуществления терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00402] В других вариантах осуществления в настоящем документе обеспечено однодоменное антитело для транспорта терапевтической молекулы к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки субъекта, причем терапевтическая молекула содержит агент и однодоменное антитело. В некоторых вариантах осуществления терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте

осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00403] В прочих вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ транспортировки терапевтической молекулы в большой круг кровообращения субъекта, включающий введение субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, причем терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00404] В прочих дополнительных вариантах осуществления в настоящем документе обеспечено однодоменное антитело для применения в транспортировке терапевтической молекулы в большой круг кровообращения субъекта, причем

терапевтическая молекула содержит однодоменное антитело и агент, и при этом терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00405] В прочих дополнительных вариантах осуществления в настоящем документе обеспечено применение VHH для транспортировки терапевтической молекулы в большой круг кровообращения субъекта, при этом терапевтическая молекула содержит однодоменное антитело и агент, и при этом терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки.

[00406] В прочих дополнительных вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ транспортировки терапевтической молекулы в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника или желудочно-кишечный тракт субъекта, включающий введение субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, причем терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело

представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00407] В прочих дополнительных вариантах осуществления в настоящем документе обеспечено однодоменное антитело для применения в транспортировке терапевтической молекулы в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника, или в желудочно-кишечный тракт субъекта, причем терапевтическая молекула содержит агент и однодоменное антитело, и при этом терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00408] В прочих дополнительных вариантах осуществления в настоящем документе предложено применение однодоменного антитела для транспортировки терапевтической молекулы в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника, или в желудочно-кишечный тракт субъекта, причем терапевтическая молекула содержит агент и однодоменное антитело, и при этом терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00409] В некоторых вариантах осуществления обеспеченных в настоящем документе разных способов и применений терапевтический агент транспортируют от апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки в организме субъекта.

[00410] В некоторых вариантах осуществления однодоменное антитело или терапевтическая молекула, содержащая агент и однодоменное антитело, также способна транспортироваться от базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки к апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки.

[00411] В прочих дополнительных вариантах осуществления в настоящем документе предложен способ лечения заболевания или расстройства, включающий введение субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, обеспеченное в настоящем документе, причем необязательно терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления

однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00412] В прочих дополнительных вариантах осуществления в настоящем документе обеспечена терапевтическая молекула, содержащая агент и однодоменное антитело, обеспеченное в настоящем документе, для применения в лечении заболевания или расстройства у субъекта, причем необязательно терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном

конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00413] В прочих дополнительных вариантах осуществления в настоящем документе предложено применение терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, обеспеченное в настоящем документе, для лечения заболевания или расстройства у субъекта, причем необязательно терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки. В конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH1 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH1. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH2 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH2. В другом конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH3 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH3. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH4 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH4. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH5 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH5. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH6 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH6. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH7 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH7. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH9 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH9. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH10 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH10. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH11 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH11. В еще одном конкретном варианте осуществления однодоменное антитело представляет собой VHH12 или VHH, имеющие такие же CDR, как в VHH12.

[00414] В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой метаболическое заболевание или расстройство. В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой диабет. В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой рак. В других вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой иммунное заболевание или расстройство. В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой желудочно-кишечное заболевание. В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой воспаление в желудочно-кишечном тракте. В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой воспалительное заболевание кишечника (ВЗК). В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство

представляет собой болезнь Крона (БК). В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой язвенный колит (ЯК). В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой анкилозирующий спондилит (АС). В некоторых вариантах осуществления заболевание или расстройство представляет собой колит.

[00415] Например, однодоменное антитело по описанию может быть конъюгировано с любым агентом, который может быть применен для лечения или облегчения симптомов воспаления кишечника, ВЗК, ЯК или АС, включая агенты, которые являются ингибиторами провоспалительных цитокинов, ингибиторами активации и/или дифференцировки клеток Th17, молекулами, ингибирующими миграцию или адгезию лимфоцитов, модуляторами врожденной иммунной системы, модуляторами макрофагов, дендритных клеток, регуляторных Т-клеток (Treg) или эффекторами $CD8^+$ или $CD4^+$ Т-клеток. К примерам таких агентов относятся ингибиторы TNF-α IL-12, IL-6, IL-13, IL-17A, IL17A/F, IL-18, IL-21, модуляторы пути TLR3 или TLR4, ингибиторы TNF-α инфликсимаб, адалимумаб, цертолизумаб, голимумаб, этанерцепт и их биоаналоги, ингибиторы IL-23 устекинумаб, ризанкизумаб, бразикумаб и мирикизумаб, ингибиторы IL-23 рецептора, ингибитор IL-17 секунимаб, ингибиторы IL-6 тосилизумаб и PF-04236921, ингибитор PDE4 апермиласт, ингибиторы JAK токасифиниб, филготинию, упадаситиниб или перфиситинг, ингибиторы клеточной адгезии, такие как натализумаб, ведолизумаб, этролизумаб, абрилумаб, PF-00547659, антагонисты интегрина или модуляторы рецептора сфингозин-1-фосфата или агенты, повышающие продукцию IL-10. В некоторых вариантах осуществления агент представляет собой ингибитор рецептора IL-23. В качестве агента направленного воздействия на патогенные пути воспаления кишечника в настоящем документе можно использовать известную молекулу, вариант или фрагмент известной молекулы или полученные de novo и генетически слитые или химически конъюгированные с однодоменным антителом описания с применением известных способов, а также способов, описанных в настоящем документе.

[00416] В некоторых вариантах осуществления способы или применение, предложенные в настоящем документе, относятся к доставке вакцины для предупреждения инфекции, такой как холера, тиф, ротавирус, туберкулез, ВИЧ, грипп, Эбола и Сендай.

[00417] В некоторых вариантах осуществления разных способов и применения, предложенных в настоящем документе, агент в терапевтической молекуле содержит пептид. В некоторых вариантах осуществления разных способов и применения, предложенных в настоящем документе, агент в терапевтической молекуле содержит антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления разных способов и применения, предложенных в настоящем документе, агент в терапевтической молекуле содержит пептид, конъюгированный с низкомолекулярным соединением (например, конъюгат антитела и лекарственного средства). В некоторых вариантах осуществления разных способов и применений, предложенных в настоящем документе, агент в

терапевтической молекуле содержит нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах осуществления разных способов и применений, предложенных в настоящем документе, агент в терапевтической молекуле содержит вакцину.

[00418] Количество профилактического или терапевтического агента (например, антитела или терапевтической молекулы), или композиции, предлагаемой в настоящем документе, которое будет эффективным для предупреждения и/или лечения того или иного заболевания или состояния, можно определять с помощью стандартных клинических методик. Кроме того, для определения диапазона оптимальной дозы, необязательно могут быть применены анализы in vitro. Точная доза, используемая в составе, также зависит от способа введения и серьезности заболевания или состояния и должна быть определена на основании решения медицинского работника и обстоятельств каждого пациента.

[00419] Эффективные дозы можно рассчитывать на кривых дозовой зависимости, полученных из тестовых систем in vitro или животных моделей. В определенных вариантах осуществления способ введения пациенту дозы антитела или терапевтической молекулы, обеспеченных в настоящем документе, представляет собой пероральную доставку, буккальную доставку, назальную доставку, ингаляционную доставку или их комбинацию, но и другие способы могут быть также приемлемыми. Каждую дозу можно необязательно вводить одним и тем же способом введения. В некоторых вариантах осуществления антитело или терапевтическую молекулу, обеспеченные в настоящем документе, можно вводить множеством способов введения одновременно или последовательно по отношению к другим дозам того же или другого агента, обеспеченного в настоящем документе.

[00420] Для краткости в настоящем документе используются определенные сокращения. Одним из примеров является однобуквенное сокращение, обозначающее аминокислотные остатки. Ниже приводятся аминокислоты и их соответствующие трехбуквенные и однобуквенные сокращения:

аланин	Ala	(A)
аргинин	Arg	(R)
аспарагин	Asn	(N)
аспарагиновая кислота	Asp	(D)
цистеин	Cys	(C)
глутаминовая кислота	Glu	(E)
глутамин	Gln	(Q)
глицин	Gly	(G)
гистидин	His	(H)
изолейцин	Ile	(I)
лейцин	Leu	(L)

лизин	Lys	(K)
метионин	Met	(M)
фенилаланин	Phe	(F)
пролин	Pro	(P)
серин	Ser	(S)
треонин	Thr	(T)
триптофан	Trp	(W)
тирозин	Tyr	(Y)
валин	Val	(V)

[00421] Настоящий документ по существу использует утвердительные формулировки для описания множества вариантов осуществления. Настоящий документ также, в частности, включает варианты осуществления, где полностью или частично исключается конкретный объект изобретения, например вещества или материалы, стадии и условия способы, протоколы, процедуры, анализы или способы анализа. Поэтому, несмотря на то что в описании по существу не представлены пояснения в отношении того, что именно не включено в описание, аспекты, которые в прямой форме не включены в описание, тем не менее, описаны в настоящем документе.

[00422] В описании приводится ряд вариантов осуществления. Тем не менее будет очевидно, что возможны разные модификации без отклонения от сущности и объема описания. Соответственно, приведенные ниже примеры предназначены для иллюстрации, но не ограничивают объем изобретения, описанный в формуле изобретения.

6. ПРИМЕРЫ

[00423] Ниже приводится описание различных способов и материалов, использованных в исследовании, и они приводятся для обеспечения специалиста в данной области полным изложением и описанием того, как выполнять и применять настоящее описание, и не призваны ограничивать объем того, что авторы изобретения считают своим изобретением, и не предназначены для представления того, что приведенные ниже эксперименты представляют собой все или только выполненные эксперименты. Следует понимать, что необязательно реализовались те описания примеры, которых приведены в настоящем времени, а напротив, описанные примеры можно выполнять для получения данных и т. п., связанных с идеями настоящего описания. Были приложены усилия для обеспечения точности использованных чисел (например, количеств, процентов и т. п.), но следует учитывать некоторые погрешности и отклонения в экспериментах.

6.1. Пример 1. Иммунизация, извлечение и скрининг для pIgR-связывающих молекул

[00424] Для получения панели однодоменных антител, которые связываются с pIgR, лам в течение около 90 дней иммунизировали рекомбинантным человеческим pIgR (hpIgR) и/или мышиным pIgR (mpIgR). У лам отбирали цельную кровь, выделяли PBMC и извлекали РНК. После синтеза одноцепочечной кДНК использовали отжиг специфичных

для лам праймеров с (i) VH (вариабельная область тяжелой цепи), (ii) генами лидерной последовательности VHH и (iii) геном CH2 для ПЦР-амплификации наборов генов VH и VHH.

[00425] Наборы VHH отделяли от наборов VH, проводя ПЦР фрагментов на геле и вырезая наименьшую полоску. Набор гена VHH повторно амплифицировали и клонировали в вектор млекопитающих на основе CMV. Ген VHH был форматирован как Ig-слияние. Трансформацию библиотеки проводили в E. coli. Единичные колонии отбирали в формате 96-луночного планшета для секвенирования по Сэнгеру. Из приблизительно 300 уникальных последовательностей отбирали определенное число последовательностей VHH для минипрепарата ДНК, который впоследствии масштабировался для последующей рекомбинантной экспрессии и скрининга. Для минипрепарата ДНК отбирали 39 клонов из цикла mo_pIgR_llama_Sort1 и 35 из цикла hu_pIgR_llama_Sort1. Селекция клонов основана на уникальности последовательности (в сильной зависимости от CDR3) и сигнатуры каркаса 2, которая указывала на последовательность, производную исключительно по отношению к VHH или тяжелой цепи.

[00426] Выделяли, извлекали и клонировали B-клетки, которые были положительными по связыванию VHH и антигена, и вариабельный домен VHH секвенировали с применением апробированных протоколов. После секвенирования VHH-области панель из 73 молекул VHH экспрессировали и очищали в виде слитого белка с человеческим IgG1 моно-Fc. Последовательность белка человеческого IgG1 моно-Fc выглядела следующим образом:

SPAPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTKPPSREE MTKNQVSLSC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTVPV LDSDGSFRLA SYLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 146)

[00427] Проводили скрининг этой панели VHH на предмет связывания с внеклеточным доменом hpIgR и mpIgR с помощью связанного с ферментом иммуносорбентного анализа (ИФА), который приводил к 40 положительным результатам.

[00428] Интерферометрию биослоя выполняли следующим образом. Систему ForteBioOctet RED384 (Pall Corporation) использовали для измерения кинетики связывания между молекулами VHH-моно-Fc и белками pIgR и между IgA и белками pIgR (в отсутствие и в присутствии молекул VHH-моно-Fc). Сбор данных проводили с помощью Octet Data Acquisition версия 7.1.0.87 (ForteBio) и анализировали с помощью Octet Data Analysis версия 7.1 (ForteBio). Для измерения кинетики связывания между молекулами VHH-моно-Fc HIS-меченными белками pIgR проводили иммобилизацию VHH-моно-Fc на реагирующих с амином биосенсорах 2-го поколения (ARG2) в соответствии с инструкциями производителя и воздействовали иммобилизованным на сенсоре VHH на возрастающие концентрации белков pIgR. В некоторых случаях проводили

иммобилизацию HIS-меченных белков pIgR на анти-HIS биосенсорах и воздействовали на них возрастающими концентрациями молекул VHH-моно-Fc. По сдвигу длины волны (нм) измеряли скорости ассоциации и диссоциации. Для каждого иммобилизованного на сенсоре белка использовали по меньшей мере три различных концентрации лиганда и определяли K_D (равновесную константу диссоциации) по результатам обработки данных по модели связывания 1:1. Все реакции выполняли при 25°C в PBS. Результаты приводятся на Фиг. 30A-30B.

[00429] Для измерения кинетики связывания между IgA и белками pIgR проводили иммобилизацию IgA на биосенсорах ARG2 в соответствии с инструкциям производителя и воздействовали на иммобилизованный IgA возрастающими концентрациями pIgR ECD. Для проверки эффекта воздействия VHH на связывание pIgR-IgA измеряли значения K_D для связывания pIgR ECD с IgA в присутствии VHH. На IgA, иммобилизованный на биосенсорах ARG2, воздействовали возрастающими концентрациями комплекса pIgR-VHH и по сдвигу длины волны (нм) измеряли скорости ассоциации и диссоциации. Для каждого иммобилизованного на сенсоре IgA использовали по меньшей мере три различных концентрации pIgR или pIgR-VHH и определяли K_D (равновесную константу диссоциации) по результатам обработки данных по модели связывания 2:1. Все реакции выполняли при 25°C в PBS.

[00430] Интерферометрия биослоя показала, что у 14 связывающихся молекул из данной панели значения K_D составляли < 100 нМ для связывания с внеклеточным доменом мышиного или человеческого pIgR (5 антител к mpIgR, 6 антител к hpIgR и 3 перекрестно-реагирующих).

[00431] Экспрессию и очистку VHH в клетках CHO выполняли следующим образом. Конструкты ДНК для VHH субклонировали в векторы экспрессии млекопитающих с применением набора In-Fusion® HD Cloning Kit. Проводили трансфекцию клеток ExpiCHO™ соответствующими векторами экспрессии. Супернатанты собирали через 6-7 дней центрифугированием (4000 g, 15 мин), пропускали через фильтр 0,45 мкм и очищали при 4°C хроматографией MabSelect™ SuRe™ на системе ÄKTA express (оба GE Healthcare) с применением DPBS (Sigma) в качестве подвижного буфера и 0,1 М ацетата натрия, pH 3,5 в качестве элюирующего буфера. Элюаты немедленно нейтрализовали с помощью 25% (об./об.) 2 М Tris-HCl pH 7,0, диализовали в DPBS, стерилизовали фильтрованием через 0,22 мкм фильтр и хранили при 4 °C. Концентрации определяли по поглощению при 280 нм на спектрофотометре Nanodrop ND-1000 (ThermoFisher Scientific). Результаты представлены на Фиг. 14.

[00432] Клонирование, экспрессию и очистку конструктов pIgR в клетках HEK293 выполняли следующим образом. Блоки генов, кодирующих желаемые последовательности домена hpIgR, получали из IDT и субклонировали в векторы экспрессии млекопитающих с применением In-Fusion® HD Cloning Kit. Проводили трансфекцию клеток HEK Expi293™ векторами экспрессии pIgR-домена с применением набора трансфекции ExpiFectamine™ 293. Супернатанты собирали через 6-7 дней центрифугированием (4000 g, 15 мин),

пропускали через фильтр 0,45 мкм и очищали хроматографией с иммобилизованным ионом металла с применением смолы HisPur™ Cobalt (Thermo Scientific). В качестве подвижного буфера использовали буфер NPI-20 (Teknova), а в качестве элюирующего буфера использовали буфер NPI-300 (Teknova), содержащий 300 мМ имидазола. Заменяли буфер в элюатах на DPBS с применением колонок обессоливания PD10 (GE Healthcare), следуя инструкциям производителя, и очищенные домены pIgR хранили при 4 °C. Концентрации определяли по поглощению при 280 нм на спектрофотометре Nanodrop ND-1000 (ThermoFisher Scientific).

[00433] Аналитическую ГПХ выполняли следующим образом. Все очищенные молекулы VHH-моно-Fc анализировали с помощью аналитической жидкостной хроматографии высокого давления на системе Agilent 1200 Infinity с применением колонки Agilent AdvanceBio Size exclusion (300 Å, 2,7 мкм, 4,6×150 мм). Колонку уравновешивали с 0,2 М фосфата натрия pH 6,8 и вводили 20 мкл образцов при концентрации 0,5 мг/мл и скорости потока 0,35 мл/мин. В этих условиях регистрировали элюаты мономерного VHH-моно-Fc при ожидаемом времени удерживания ~ 4 мин. Анализ данных выполняли в OpenLab Chemstation, чтобы определить % содержания мономера.

[00434] ГПХ-MALS выполняли следующим образом. Молекулярный вес молекул очищенного VHH-моно-Fc измеряли гель-фильтрацией в комбинации с многоугловым рассеянием света. Эксперимент выполняли на жидкостном хроматографе высокого давления Waters, последовательно соединенным с прибором для рассеяния света/uTrEX Wyatt uDAWN. Колонку гельпроникающей хроматографии Acquity UPLC Protein BEH (200Å, 1,7 мкм, 4,6×150 мм) уравновешивали с 1x DPBS, pH 7,4, и вводили 10 мкл образцов в концентрации 0,5 мг/мл и при скорости потока 0,3 мл/мин. Молекулярный вес основных молекул (мономерный VHH-Fc) рассчитывали с помощью пакета программ Astra (Wyatt).

6.2. Пример 2. Биофизические характеристики hpIgR-специфичных связывающих молекул

[00435] Из примера 1 выбирали 10 связывающих pIgR молекул (8 hpIgR-специфичных и 2 перекрестно-реагирующих человек/мышь) для проведения дальнейшего биофизического исследования и функционального анализа. 10 связывающих pIgR молекул экспрессировали и очищали из клеток CHO с помощью аффинной хроматографии с белком A. Гель-фильтрация в сочетании с многоугловым рассеянием света показала, что молекулярный вес 10 связывающих молекул VHH-моно-Fc (VHH2, VHH3, VHH4, VHH5, VHH6, VHH7, VHH9, VHH10, VHH11 и VHH12) находится в диапазоне от 41,3 кДа и 48,7 кДа.

[00436] Термостабильность образца определяли дифференциальной сканирующей флуориметрией, в частности способом NanoDSF с применением автоматизированного прибора Prometheus. Измерения проводили, перенося образец в 24-луночный капиллярный планшет из 384-луночного планшета для образцов. Для каждого образца выполняли

повторные измерения. Пользовательский интерфейс Promeeus NanoDSF (вкладка Melting Scan) применяли для настройки экспериментальных параметров анализа. Термическое сканирование стандартного образца IgG охватывает диапазон от 20°C до 95°C со скоростью 1,0 °C/мин. Проводили мониторинг внутренней флуоресценции триптофана и тирозина с помощью технологии двух УФ-волн на длинах волны испускания 330 нм и 350 нм. Откладывали график отношения F350 нм/F330 нм от температуры, чтобы построить кривую разворачивания.

[00437] Для обнаружения агрегирования образца также использовали оптику обратного отражения прибора. Такая оптика испускала свет в ближнем УФ на длине волны, которая не поглощалась белком. Свет проходил через образец и отражался на детектор. Агрегаты белка рассеивали этот свет, а потому до детектора доходил только нерассеянный свет. Снижение интенсивности света обратного отражения было непосредственной мерой агрегации в образце и отражено на графике в единицах mAU (единицы ослабления) в зависимости от температуры. Nano DSF использовали для измерения термических параметров разворачивания (Tm и Tagg) связывающих молекул VHH при концентрации 0,5 мг/мл в фосфатно-солевом буфере, pH 7,4.

[00438] Молекулы VHH-моно-Fc экспрессировали в клетках CHO и очищали аффинной хроматографией с белком A. Гомогенность и молекулярный вес очищенных белков проверяли аналитической гель-фильтрацией (A-ГПХ) и гель-фильтрацией в комбинации с многоугловым светорассеянием (ГПХ-MALS) соответственно. Результаты для A-ГПХ приводятся на Фиг. 15. Результаты для SEC-MALS приводятся на Фиг. 16.

[00439] Термостабильность оценивали дифференциальной сканирующей флуориметрией (DSF), результаты приводятся на Фиг. 17. Ниже приводятся значения Tm для молекул VHH. Значения K_D для взаимодействий VHH с внеклеточным доменом hpIgR измеряли методом интерферометрии биослоя. Значения EC_{50} для молекул VHH, связывающихся с клетками MDCK-hpIgR, измеряли проточной цитометрией.

[00440] Проточную цитометрию выполняли следующим образом. Для проверки распознавания молекулами VHH-моно-Fc hpIgR клеточной поверхности применяли клетки Мадин-Дарби почек собак (MDCK), сконструированные для экспрессии полноразмерного hpIgR. Клетки культивировали в модифицированной по способу Дульбекко среде Игла, содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки при 37°C с 5% CO_2. Клетки разделяли на равные фракции (≈ 70 000 клеток) и инкубировали с возрастающими концентрациям молекул VHH-моно-Fc в течение 30 мин при 4 °C. Клетки дважды промывали холодным PBS (pH 7,4) и инкубировали с флуоресцентно меченным антителом к Fc (Alexa Fluor® 647 AffiniPure $F(ab')_2$ фрагмент, специфический к антителу к человеческому антигену IgG Fcγ козы) в течение 30 мин в окрашивающем буфере (2 мкг/мл Ab) при 4 °C. Клетки промывали дважды холодным окрашивающим буфером, ресуспендировали в подвижном буфере и анализировали с помощью iQue Screener (IntelliCyt Corporation). Связывание оценивали с помощью RL1 (A647) Geomeans из популяции живых клеток и EC50 рассчитывали по результатам обработки зависимости

логарифма концентраций VHH от MFI в Prism (Graphpad). Данные представлены ниже в таблице 1.

Таблица 1

VHH	T_m (°C)	K_D (нМ)	EC_{50} (нМ)	Связывание с mpIgR?
VHH2	64,1	21	6,3	Да
VHH3	75,9	5	6,4	Да
VHH4	61,5	22	32,9	Нет
VHH5	76,4	11	4,3	Нет
VHH6	69,3	27	11,5	Нет
VHH7	55,3	521	36,4	Нет
VHH9	70,3	4	1,5	Нет
VHH10	53,9	256	20,4	Нет
VHH11	69,2	19	1,5	Нет
VHH12	61,5	34	4,6	Нет

[00441] Приведенные в таблице 1 данные дифференциальной сканирующей флуориметрии показывают, что значения Tm для 10 молекул VHH находятся в пределах от 53,9°C до 76,4 °C. Данные дифференциальной сканирующей флуориметрии показывают, что значения Tm для пяти наиболее прочно связывающихся VHH находятся в пределах от 61°C до 70 °C. Интерферометрия биослоя показала, что у 8 связывающихся молекул из данной панели значения K_D составляли < 50 нМ для связывания с внеклеточным доменом человеческого pIgR, как показано в таблице 1. Кроме того, проточная цитометрия показала, что у 6 связывающихся молекул значения EC_{50} составляли < 10 нМ для связывания с клетками MDCK-hpIgR.

6.3. Пример 3. Связывание клеток и анализ трансцитоза

[00442] Анализ трансцитоза выполняли следующим образом. Клетки Мадин-Дарби почек собак (MDCK), широко применяемую модельную систему эпителия, применяли для исследования возможности транспорта связывающих молекул VHH через эпителий с помощью pIgR-опосредованного трансцитоза. Для исследования трансцитоза использовали клетки MDCK до трансфекции или после стабильной трансфекции человеческим pIgR (см. Natvig, I.B., Johansen, F.E., Nordeng, T.W., Haraldsen, G. & Brandtzaeg, P. Mechanism for enhanced external transfer of dimeric IgA over pentameric IgM: studies of diffusion, binding to the human polymeric Ig receptor, and epithelial transcytosis. J. Immunol. 159, 4330-4340 (1997)). Экспрессию hpIgR в клетках MDCK и образование монослоя подтверждали с помощью конфокальной лазерной микроскопии. Приблизительно 5,0 × 10^5 клеток высевали на 1-$см^2$, фильтры ПТФЭ 3,0-мкм с коллагеновым покрытием (Transwell-COL 3494; Costar). Клетки инкубировали в течение 3 дней при 37°C с 5% CO_2 в модифицированной по способу Дульбекко среде Игла, содержащей 10% фетальной телячьей сыворотки, 50 мкг/мл гентамицина и 1 мМ L-

глутамина. 20 мкг исследуемых молекул VHH-моно-Fc добавляли в базолатеральную область и инкубировали фильтры в течение 24 или 48 часов при 37°C в свежей среде. VHH-моно-Fc, которые не связывались с pIgR (иррелевантные VHH), использовали в качестве контроля вместе с 100 нМ (15 мкг/мл) человеческого IgG (для контроля неспецифического транспорта и утечки). Апикальную среду собирали и рассчитывали количество VHH-моно-Fc, транспортированного pIgR, с помощью стандартных исследований титрованием. Утечку IgG в апикальную среду определяли по MSD. Результаты анализа трансцитоза приводятся на Фиг. 12A-12B.

[00443] Кроме того, биотинилированное антитело к VHH использовали для захвата VHH-моно-Fc на стрептавидиновых планшетах и рутенилированное антитело к Fc применяли для обнаружения VHH-моно-Fc с помощью платформы MSD. Результаты этого анализа приведены на Фиг. 12C. Шесть VHH (2, 4, 6, 9, 11 и 12) демонстрировали > 10-кратное увеличение их апикальной концентрации по сравнению с контрольным VHH.

6.4. Пример 4. Анализ трансцитоза с применением модели первичной ткани легких человека

[00444] Модель первичной ткани легких человека EpiAirway также применяли для проверки активности трансцитоза 10 молекул VHH из базолатерального в апикальный эпителий и их доставки в мукозальный просвет. Модель EpiAirway показана на Фиг. 18. Модель EpiAirway представляет собой апробированную модель ткани легких, сконструированную из первичных трахеальных бронхиальных клеток человека. Модели ткани поставлялись Mattek Corporation и хранились в соответствии с инструкциями производителя. 20 мкг исследуемых и контрольных молекул VHH-моно-Fc добавляли к 1 мл среды EpiAirway в базолатеральной области и отбирали по 100 мкл образцов из базолатеральной и апикальной областей через 0, 24 и 48 часов. Для сбора мукора из апикальных областей использовали буфер EpiAirway TEER. Количество VHH-моно-Fc, присутствующего в базолатеральной среде и в апикальном мукоре, определяли способом электролюминесценции. В этом способе стрептавидиновые MSD планшеты покрывали биотинилированным антителом к VHH (2 мкг/мл в PBS) в течение 1 часа при КТ и 1000 об/мин, промывали 3X с PBT, инкубировали в блокирующем буфере в течение 1 час при КТ, инкубировали в среде/мукоре, содержащих VHH-моно-Fc (в различных разведениях), в течение 2 часов при КТ и 1000 об/мин, отмывали 3X с PBT, инкубировали с рутенилированным антителом к человеческому антигену Fc (2 мкг/мл в PBS) в течение 1 часа при КТ и 1000 об/мин, промывали 3X с PBT и считывали планшеты в 40 мкл буфера считывания с помощью MSD визуализатора. Количество VHH-моно-Fc в базолатеральной и апикальной областях рассчитывали, соотнося графики значений ECLU со стандартными кривыми VHH-моно-Fc в Prism (Graphpad). Данные приведены на Фиг. 19. Аналогичный эксперимент для трансцитоза IgG и IgA представлен на Фиг. 20. Каждая микрофотография на Фиг. 20 является репрезентативным изображением одной из квадратных областей на тепловой карте на Фиг. 5.

[00445] На Фиг. 22 приводится 3D-реконструкция, демонстрирующая локализацию

hpIgR и VHH на апикальной поверхности в модели EpiAirway.

[00446] Количество VHH, присутствующего в апикальном мукоре через 0, 24 и 48 часов после обработки определяли по электролюминесценции.

[00447] Анализ электролюминесценции выполняли следующим образом. Платформу Meso-Scale Discovery (MSD) использовали для картирования эпитопа и исследования скрытого эпитопа. Для исследования связывания молекул VHH-моно-Fc с очищенными белковыми конструктами pIgR стрептавидиновые MSD планшеты покрывали биотинилированным антителом к HIS (2 мкг/мл в PBS) в течение 1 часа при КТ и 1000 об/мин, промывали 3X с PBT (PBS+0,1% Tween-20), инкубировали в блокирующем буфере в течение 1 час при КТ, инкубировали с His-меченными белками pIgR (10 мкг/мл в PBS), в течение 2 часов при КТ и 1000 об/мин, отмывали 3X с PBT, инкубировали с молекулами VHH-моно-Fc (100 мкг/мл в PBS) в течение 2 часов при КТ и 1000 об/мин, отмывали 3X с PBT, инкубировали с рутенилированным антителом к человеческому антигену Fc (2 мкг/мл в PBS) в течение 1 часа при КТ и 1000 об/мин, промывали 3X с PBT и считывали планшеты в 40 мкл буфера считывания с помощью MSD визуализатора. Значения ECLU откладывали на графике в виде тепловой карты.

[00448] Чтобы выяснить, распознает ли VHH скрытый эпитоп на pIgR, измеряли значения EC_{50} для связывания молекул VHH-моно-Fc с hpIgR-ECD белка по электролюминенсценции с применением двух различных детекторных антител, антитела к Fc и антитела к VHH. pIgR ECD (10 мкг/мл в PBS) наносили на планшеты MSD с высоким связыванием в течение 2 часов при КТ и 1000 об/мин, инкубировали в блокирующем буфере в течение 1 часа при КТ, инкубировали с молекулами VHH-моно-Fc (возрастающие концентрации в PBS) в течение 2 часов при КТ и 1000 об/мин, отмывали 3X с PBT, инкубировали с рутенилированным вторичным антителом (2 мкг/мл в PBS) в течение 1 часа при КТ и 1000 об/мин, отмывали 3X с PBT и считывали планшеты в 40 мкл буфера считывания с помощью MSD визуализатора. EC50 рассчитывали по результатам обработки зависимости логарифма концентрации VHH от логарифма ECLU в Prism (Graphpad). Увеличение EC_{50} (> 50-кратное) за счет обнаружения антитела к VHH использовали в качестве показателя, определяющего распознавание VHH скрытого эпитопа на pIgR.

[00449] Через 48 часов после обработки образцы ткани фиксировали, увеличивали проницаемость мембраны и окрашивали для выявления hpIgR и VHH в рамках модели EpiAirway. Данные приведены на Фиг. 4. Для пяти молекул VHH (VHH2, VHH6, VHH9, VHH11 и VHH12) наблюдалось более чем 20-кратное увеличение их количества в слизистой оболочке по отношению к контрольным молекулам VHH. В случае наилучшего агониста pIgR (VHH12) каждые 24 часа в мукор секретировалось 17,5% вводимого базолатерального VHH. На Фиг. 23 показано, что модель ткани EpiAirway образована на скошенной мембране, которая не является идеальной для анализа изображений. На Фиг. 24 приводится пример стратегии для визуализации Opera Phenix и анализа, чтобы исключить артефакты из-за наклонной ткани в модели ткани EpiAirway.

[00450] После трансцитоза использовали непрямую иммунофлуоресценцию для отслеживания локализации и количества hpIgR и VHH в рамках модели ткани EpiAirway с помощью конфокальной лазерной микроскопии Opera Phenix. Непрямую иммунофлуоресценцию применяли для отслеживания количества pIgR и VHH-моно-Fc, сохраняющегося в модели EpiAirway через два дня после обработки. Образцы ткани промывали в PBS, ткани фиксировали в 2 мл 10% формалине при КТ в течение 20 минут, промывали трижды 2 мл PBST (1% Triton-X100 в PBS) при КТ каждый раз в течение 10 минут (при осторожном перемешивании), инкубировали с первичными антителами (500 мкл для апикальной, 500 мкл для базолатеральной области), разбавленными в PBTG (PBST с 10% козьей сыворотки), в течение 2 часов при КТ (при осторожном перемешивании), двукратно промывали 2 мл PBTG при КТ каждый раз в течение 10 минут (при осторожном перемешивании), инкубировали со вторичными антителами (100 мкл для апикальной, 100 мкл для базолатеральной области) разбавленными в PBTG, в течение 1 часа при КТ (при осторожном перемешивании) и дважды промывали 2 мл PBTG при КТ каждый раз в течение 10 минут (при осторожном перемешивании). Смесь первичных антител содержала мышиное антитело и биотинилированное антитело к IgA в обоих случаях в концентрации 5 мкг/мл. Смесь вторичных антител содержала меченное Alexa-Flour 488 антимышиное антитело (разведение 1 : 100), меченный Alexa-Flour 647 стрептавидин (разведение 1 : 100) и Hoechst (разведение 1 : 1000). Визуализацию фиксированных, с повышенной проницаемостью мембраны и окрашенных тканей проводили с разрешением 20X (30-40 плоскостей, расстояние 2 мкм) с помощью конфокальной лазерной микроскопии. Анализ изображений выполняли с применением пакета программ Harmony, считываемые показатели флуоресценции корректировали с учетом аутофлуоресценции мембраны, нормализовали по числу клеток и отображали на графике в форме тепловой карты в Prism (Graphpad).

[00451] Данные приведены на Фиг. 5. Исследования с помощью методов визуализации подтвердили результаты трансцитоза и указывали на колокализацию hpIgR и VHH, в особенности вблизи апикального эпителия. По причине протеолитического распада pIgR и его высвобождения в мукор посредством трансцитоза количество остающегося в ткани pIgR было обратно пропорционально функции VHH.

[00452] В рамках модели EpiAirway присутствие IgA не влияло на трансцитоз VHH9, вместе с тем присутствие IgA негативно отражалось на четырех остальных связывающих молекул VHH: VHH2, VHH6, VHH11 и VHH12.

6.5. Пример 5. Картирование эпитопа на уровне доменов

[00453] Для проведения картирования эпитопа на уровне доменов для VHH семь HIS-меченных hpIgR конструктов (D1, D2, D3, D5, D1-D2, D2-D3 и D4-D5), причем каждый из них кодирует один или два домена hpIgR ECD, экспрессировали и очищали из клеток HEK293 с применением аффинной хроматографии на иммобилизованных ионах металла. Два конструкта, D4 и D3-D4, демонстрировали низкий уровень экспрессии и плохо очищались, а потому их не использовали для анализа картирования эпитопа.

Связывание молекул VHH-mFc тестировали для иммобилизованных конструктов pIgR с помощью способа электролюминесценции. Результаты анализа связывания приводятся в виде тепловой карты на Фиг. 2.

[00454] Распознавание скрытых эпитопов связывающими pIgR молекулами выполняли следующим образом. EC_{50} для молекул VHH-моно-Fc, связывающихся с белком hpIgR-ECD, измеряли по электролюминесценции с применением двух различных детекторных антител, антитела к Fc и антитела к VHH. Увеличение EC_{50} (> 50-кратное) за счет обнаружения антитела к VHH использовали в качестве показателя, определяющего распознавание VHH скрытого эпитопа на pIgR. Как показано на Фиг. 35, четыре молекулы (VHH3, VHH4, VHH5 и VHH6) распознавали скрытые эпитопы в pIgR. Как показано на Фиг. 36A-36B, VHH3 распознает комплексный эпитоп на интерфейсе домена-1 hpIgR, и в частности не регистрировали никаких различий в EC_{50} для VHH2 (4 нМ для обоих детекторных антител), тогда как VHH3 демонстрировал 54-кратное увеличение EC_{50} при обнаружении антитела к VHH. Проведенные эксперименты в совокупности показали, что VHH2 и VHH3 распознают домен-1 различными способами, что может быть связано с различиями в их функциях.

[00455] Картирование эпитопа продемонстрировало, что VHH2, VHH6 и VHH12 связываются с доменами 1, 2 и 5 hpIgR соответственно, тогда как VHH9 и VHH11 связываются с доменами 4-5 hpIgR. Чтобы проверить, распознает ли связывающая область VHH скрытый эпитоп на hpIgR, использовали способ электролюминесценции с применением двух различных детекторных антител, антитела к Fc и антитела к VHH, чтобы получить значения EC_{50}, которые отражают связывание молекул VHH-моно-Fc с белком hpIgR-ECD. Увеличение EC_{50} (> 50-кратное) за счет обнаружения антитела к VHH использовали в качестве показателя, определяющего распознавание VHH скрытого эпитопа на pIgR. Результаты показаны в таблице 2 и на Фиг. 29.

Таблица 2

№ VHH	Антитело к Fc EC_{50} (нМ)	Антитело к VHH EC_{50} (нМ)	Кратное изменение EC_{50}	Скрытый эпитоп?
VHH2	4,2	4,0	1,0	Нет
VHH3	0,5	28,6	54	Да
VHH4	1,1	206,0	180	Да
VHH5	0,3	178,5	592	Да
VHH6	3,9	4187,0	1063	Да
VHH7	12,4	31,1	2,5	Нет
VHH9	0,4	0,8	1,8	Нет
VHH10	17,6	43,9	2,5	Нет

№ VHH	Антитело к Fc EC_{50} (нМ)	Антитело к VHH EC_{50} (нМ)	Кратное изменение EC_{50}	Скрытый эпитоп?
VHH11	0,3	0,8	3,2	Нет
VHH12	0,5	0,2	0,4	Нет

[00456] Приведенные в таблице 2 результаты показывают, что четыре молекулы (VHH3, VHH4, VHH5 и VHH6) распознают скрытые эпитопы на pIgR. Для проведения картирования эпитопа на уровне доменов семь HIS-меченных конструктов внеклеточного домена pIgR (D1, D2, D3, D5, D1-D2, D2-D3 и D4-D5) успешно экспрессировали и очищали из клеток HEK293 с применением аффинной хроматографии на иммобилизованных ионах металла. Последовательности D1, D2, D3, D5, D1-D2, D2-D3 и D4-D5 включают имеющие следующие SEQ ID NOS: 216-222.

[00457] Результаты связывания молекул VHH-моно-Fc с иммобилизованными конструктами pIgR приводятся в виде тепловой карты на Фиг. 2. Коротко говоря, эпитопы VHH2 и VHH3 в основном находятся в домене 1 hpIgR (D1), а эпитопы VHH4 и VHH6 в основном находятся в домене 2 hpIgR (D2). Как показано на Фиг. 32A, D1 необходим для связывания IgA с hpIgR. Эпитопы других шести молекул VHH в основном локализованы в пределах доменов 4-5 hpIgR (D4-D5). Кроме того, исследования рентгеновского рассеяния в растворе, проведенные в Bonner et al., Mucosal Immunol., 2:74-84 (2009), указывают на то, что при взаимодействии с dIgA, pIgR переходит в растянутую конформацию, в которой домен-1 взаимодействует с доменом Cα2 одной субъединицы домена Fcα, а домен-5 связывается с субъединицей Cα2 на той же сторону противолежащей субъединицы Fcα (Фиг. 32B).

[00458] Затем проводили анализ конкурентного связывания для восьми молекул VHH-моно-Fc, которые демонстрировали значения KD < 100 нМ для связывания с hpIgR. Во-первых, для проверки влияния IgA на связывание hpIgR-VHH, измеряли значения KD для связывания полноразмерного hpIgR ECD с иммобилизованными молекулами VHH-моно-Fc в отсутствие и в присутствии dIgA2 с помощью интерферометрии биослоя (Фиг. 3A). В целом молекулы VHH демонстрировали снижение от 1,3 до 3,3 раз для аффинности связывания с hpIgR ECD из-за присутствия dIgA. Предварительно связанный IgA оказывал небольшой негативный эффект на связывание молекул VHH с pIgR, возможно, из-за стерических затруднений, возникающих по причине связанного dIgA или конформационных перегруппировок hpIgR ECD. Во-вторых, для проверки воздействия VHH на связывание dIgA2 с hpIgR, измеряли значения K_D связывания рекомбинантного димерного конструкта IgA2 с внеклеточным доменом hpIgR в присутствии и в отсутствие молекул VHH-моно-Fc. Три молекулы (VHH2, VHH3 и VHH5) оказывали отрицательное воздействие на связывание IgA с pIgR, тогда как другие молекулы VHH демонстрировали небольшое положительное воздействие на связывание IgA с pIgR, как показано на Фиг. 3B.

6.6. Пример 6. Исследования конкуренции VHH/IgA (связывание и трансцитоз)

[00459] Сопоставляли различия в связывании между VHH2, описанной выше трансцитоз-положительной связывающейся с доменом-1 молекулой, и VHH3, трансцитоз-отрицательной связывающейся с доменом-1 молекулой. Связывание VHH3 оказывается более прочным, чем VHH2. Для проверки значимости CDR домена-1 hpIgR для связывания VHH2 и VHH3 каждую CDR домена-1 человеческого pIgR заменяли на соответствующую CDR домена-1 pIgR костистой рыбы, чтобы получить три новых конструкта домена-1 hpIgR с замененными CDR для применения в исследованиях связывания (полноразмерный hpIgR ECD приобретали у R&D Systems). Пять конструктов (D1-D2, D1, D1_tCDR1, D1_tCDR2, D1_tCDR3) экспрессировали и очищали из клеток HEK293 с применением аффинной хроматографии на иммобилизованных ионах металла. Три мутанта CDR домена-1 hpIgR (D1_tCDR1, D1_tCDR2, D1_tCDR3) содержали соответствующие CDR костистой рыбы в каркасе домена-1 hpIgR. His-меченные конструкты pIgR иммобилизовали на биосенсорах антитело к HIS и измеряли связывание молекул VHH-моно-Fc с конструктами pIgR с помощью интерферометрии биослоя. Данные приведены в таблице 3 и на Фиг. 33A-33D.

Таблица 3

pIgR	VHH2 K_D (нМ)	Кратное изменение K_D	VHH3 K_D (нМ)	Кратное изменение K_D
hpIgR_ECD	22	1	10	1
hpIgR_D1-D2	23	1	13,3	1,3
hpIgR_D1	15,5	0,7	7,7	0,8
hpIgR_D1_tCDR1	21,3	1	77	7,7
hpIgR_D1_tCDR2	Нет связывания	Нет связывания	Нет связывания	Нет связывания
hpIgR_D1_tCDR3	14,9	0,7	7,5	0,8

[00460] В таблице 3 приводятся значения K_D для двух молекул VHH-моно-Fc (VHH2 и VHH3), связывающихся с шестью HIS-меченными конструктами pIgR. VHH2 и VHH3 демонстрировали близкие профили связывания с CDR2 и CDR3 домена-1 hpIgR при различных профилях связывания CDR1 домена-1 hpIgR. Свойства VHH2 и VHH3 обобщены на Фиг. 31. Приведенные на Фиг. 34 данные показывают, что VHH2 и VHH3 конкурируют друг с другом за связывание с hpIgR.

[00461] Анализы конкурентного связывания показали, что IgA оказывал отрицательное воздействие на связывание молекул VHH с pIgR, возможно, по причине

стерических затруднений, возникающих из-за различия размеров между димерным IgA и VHH. Данные приведены на Фиг. 28A-28D. Учитывая необходимость домена-1 hpIgR для связывания IgA, можно утверждать, что только VHH2 (связывающаяся с доменом-1 молекула) оказывала отрицательное воздействие на связывание IgA с hpIgR и демонстрировала непосредственную конкуренцию с IgA.

[00462] VHH2 и VHH3 демонстрировали близкие профили связывания с CDR2 и CDR3 домена-1 hpIgR, тогда как их профили связывания CDR1 домена-1 hpIgR были различными. Данный результат показывает, что VHH2 и VHH3 частично перекрываются по эпитопам на домене-1, а потому конкурируют друг с другом за связывание с hpIgR. Кроме того, анализ связывания указывает на то, что VHH3 связывается с более скрытым эпитопом на домене-1 по сравнению с VHH2 (таблица 2). Интересно, что после обработки VHH3 в модели ткани EpiAirway сохранялось больше pIgR в базолатеральном эпителии по сравнению с VHH2 или полностью отсутствовал VHH (Фиг. 5). С учетом того, что домен-1 является важным интерфейсом и играет роль в переходе hpIgR из неактивного в активное состояние, приведенные результаты свидетельствуют о том, что связывание VHH3 может смещать равновесие pIgR в сторону неактивной конформации. Как показано на Фиг. 25, пять Ig-подобных внеклеточных доменов организованы в форме треугольника, при этом интерфейс располагается между лиганд-связывающими доменами D1 и D5. При связывании лиганда происходит разрыв интерфейса D1-D5. На Фиг. 26 приводится структура комплекса pIgR:IgA по результатам рассеяния с применением ограниченных моделей.

[00463] Сводная информация о свойствах исследованных молекул VHH приводится ниже в таблице 4.

Таблица 4

VHH	T_m (°C)	K_D (нМ)	EC_{50} (нМ)	Связывание с mpIgR?	Скрытый эпитоп?	Домен эпитопа pIgR	IgA Прям. Сравн.?	Трансцитоз (Кратн. рост)
VHH2	64,1	21	6,3	Да	Нет	1	Да	34,2
VHH3	75,9	5	6,4	Да	Да	1	Да	2,6
VHH4	61,5	22	32,9	Нет	Да	2	Нет	12,6
VHH5	76,4	11	4,3	Нет	Да	4-5	Да	6,9
VHH6	69,3	27	11,5	Нет	Да	2	Нет	30,7
VHH7	55,3	521	36,4	Нет	Нет	4-5	Нет	1,3
VHH9	70,3	4	1,5	Нет	Нет	4-5	Нет	22,4
VHH10	53,9	256	20,4	Нет	Нет	4-5	Нет	5,0
VHH11	69,2	19	1,5	Нет	Нет	4-5	Нет	32,0
VHH12	61,5	34	4,6	Нет	Нет	5	Нет	38,6

[00464] В приведенных выше примерах продемонстрированы получение, скрининг и характеристики связывающих hpIgR молекул VHH по результатам применения биофизических и функциональных методов анализа. Молекулы VHH демонстрировали различные степени аффинности, перекрестной реакционноспособности соединений, биофизические характеристики, разнообразие эпитопов, профили конкуренции IgA и активность трансцитоза в модели ткани легких человека.

6.7. Пример 7. Другие подходы к анализу трансцитоза

[00465] Клетки MDCK, экспрессирующие hpIgR, как описано в примере 3, являются важной системой модели эпителия, и их используют для анализа активности прямого и обратного трансцитоза молекул VHH-моно-Fc.

[00466] Клетки MDCK, экспрессирующие hpIgR, культивировали в DMEM, содержащей 10% FBS при 37°C с 5% CO_2. Для приготовления монослоев таких клеток (монослоев MDCK-hpIgR) 5×10^5 клеток высевали на обработанные фибронектином и коллагеном проницаемые подложки Transwell™ (Costar) с полиэфирным мембранным фильтром 0,4 мкм. Клетки впоследствии инкубировали в течение 3 дней, выдерживали в бессывороточной среде в течение 2 часов и добавляли DMEM, содержащую 1% FBS (среда анализа). Базолатеральные и апикальные области содержали 1,5 мл и 0,5 мл среды анализа соответственно.

[00467] Для исследования активности прямого трансцитоза молекул VHH-моно-Fc через монослои MDCK-hpIgR 20 мкг исследуемых или контрольных молекул VHH-моно-Fc добавляли в базолатеральную область и собирали 100 мкл среды из базолатеральной и апикальной областей в различные моменты времени после добавления молекул VHH-моно-Fc (0, 4, 8, 12, 24, 36 и 48 часов).

[00468] Для исследования активности обратного трансцитоза молекул VHH-моно-Fc через монослои MDCK-hpIgR 20 мкг исследуемых или контрольных молекул VHH-моно-Fc добавляли в апикальную область и собирали 100 мкл среды из базолатеральной и апикальной областей в различные моменты времени после добавления VHH-моно-Fc (0, 4, 8, 12, 24, 36 и 48 часов).

[00469] Количество VHH-моно-Fc, присутствующего в базолатеральной и в апикальной среде, определяли способом электролюминесценции. Стрептавидиновые MSD планшеты покрывали биотинилированным антителом к VHH (2 мкг/мл в PBS) в течение 1 часа при КТ и 1000 об/мин, промывали 3X с PBT, инкубировали в блокирующем буфере в течение 1 часа при КТ, инкубировали в среде/мукоре, содержащих VHH-моно-Fc (в различных разведениях), в течение 1 часа при КТ и 1000 об/мин, отмывали 3X с PBT, инкубировали с рутенилированным антителом к человеческому антигену Fc (2 мкг/мл в PBS) в течение 1 часа при КТ и 1000 об/мин, промывали 3X с PBT и считывали планшеты в 40 мкл буфера считывания с помощью MSD визуализатора. Количество VHH в базолатеральной и апикальной областях рассчитывали, соотнося графики значений ECLU со стандартными кривыми VHH-моно-Fc в Prism (Graphpad).

[00470] Результаты анализа прямого и обратного трансцитоза приведены на Фиг.

37A, 37B, 38A, 38B, 39A и 39B.

[00471] Сводная информация о свойствах исследованных молекул VHH приводится ниже в таблице 5.

Таблица 5

VHH	T_m (°C)	K_D (нМ)	EC_{50} (нМ)	Связывание с mpIgR?	Домен эпитопа pIgR	IgA Прям. Сравн.?	Прям. трансп. (Кратн. рост)	Обр. транс. (кратн. рост.)
VHH2	64,1	21	6,3	Да	1	Да	21,0	5,7
VHH3	75,9	5	6,4	Да	1	Да	1,0	1,0
VHH4	61,5	22	32,9	Нет	2	Нет	15,1	8,0
VHH5	76,4	11	4,3	Нет	4-5	Да	8,9	2,1
VHH6	69,3	27	11,5	Нет	2	Нет	25,6	14,6
VHH7	55,3	521	36,4	Нет	4-5	Нет	1,9	3,3
VHH9	70,3	4	1,5	Нет	4-5	Нет	24,2	6,6
VHH10	53,9	256	20,4	Нет	4-5	Нет	1,3	3,4
VHH11	69,2	19	1,5	Нет	4-5	Нет	24,2	10,3
VHH12	61,5	34	4,6	Нет	5	Нет	29,5	11,7

[00472] Содержание всех патентов, опубликованных заявок, ссылок, цитируемых в настоящем документе, полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

[00473] Хотя были показаны и описаны примеры осуществления, специалистам в данной области будет понятно, что возможно внесение различных изменений в форме и содержании без отступления от объема вариантов осуществления, включенных в прилагаемую формулу изобретения.

[00474] Исходя из вышеизложенного, следует понимать, что несмотря на то что в настоящем документе в целях иллюстрации описаны конкретные варианты осуществления, разнообразные модификации могут быть внесены без отклонения от сущности и объема приведенного в настоящем документе описания. Все упомянутые выше ссылки в полном объеме включены в настоящий документ путем ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID NO: 1 - CDR1 VHH1 и VHH2 (по Кабату)

SYRMG

SEQ ID NO: 2 - CDR1 VHH3 (по Кабату)

INVMG

SEQ ID NO: 3 - CDR1 VHH4 (по Кабату)

SNAMG

SEQ ID NO: 4 - CDR1 VHH5 (по Кабату)

SYAMG

SEQ ID NO: 5 - CDR1 VHH6 (по Кабату)

SDAMG

SEQ ID NO: 6 - CDR1 VHH7 (по Кабату)

INVMG

SEQ ID NO: 7 - CDR1 VHH9 (по Кабату)

TYRMG

SEQ ID NO: 8 - CDR1 VHH10 (по Кабату)

RYAMG

SEQ ID NO: 9 - CDR1 VHH12 (по Кабату)

FNTYAMG

SEQ ID NO: 10 - CDR1 VHH1 и VHH2 (по Чотиа)

GLTFSSY

SEQ ID NO: 11 - CDR1 VHH3 (по Чотиа)

GSIFSIN

SEQ ID NO: 12 - CDR1 VHH4 (по Чотиа)

GTSVSSN

SEQ ID NO: 13 - CDR1 VHH5 (по Чотиа)

GRTFSSY

SEQ ID NO: 14 - CDR1 VHH6 (по Чотиа)

GSSVSSD

SEQ ID NO: 15 - CDR1 VHH7 (по Чотиа)

RSIGSIN

SEQ ID NO: 16 - CDR1 VHH9 (по Чотиа)

GRTFSTY

SEQ ID NO: 17 - CDR1 VHH10 (по Чотиа)

GFTFTRY

SEQ ID NO: 18 - CDR1 VHH11 (по Чотиа)

GRTFTTY

SEQ ID NO: 19 - CDR1 VHH12 (по Чотиа)

GRTLSFNTY

SEQ ID NO: 20 - CDR1 VHH1 и VHH2 (по IMGT)

GLTFSSYR

SEQ ID NO: 21 - CDR1 VHH3 (по IMGT)

GSIFSINV

SEQ ID NO: 22 - CDR1 VHH4 (по IMGT)

GTSVSSNA

SEQ ID NO: 23 - CDR1 VHH5 (по IMGT)

GRTFSSYA

SEQ ID NO: 24 - CDR1 VHH6 (по IMGT)

GSSVSSDA

SEQ ID NO: 25 - CDR1 VHH7 (по IMGT)

RSIGSINV

SEQ ID NO: 26 - CDR1 VHH9 (по IMGT)

GRTFSTYR

SEQ ID NO: 27 - CDR1 VHH10 (по IMGT)

GFTFTRYA

SEQ ID NO: 28 - CDR1 VHH11 (по IMGT)

GRTFTTYR

SEQ ID NO: 29 - CDR1 VHH12 (по IMGT)

GRTLSFNTYA

SEQ ID NO: 30 - CDR2 VHH1 и VHH2 (по Кабату)

AIDWNGRGTYYRYYADSVKG

SEQ ID NO: 31 - CDR2 VHH3 (по Кабату)

RINGGGITHYAESVKG

SEQ ID NO: 32 - CDR2 VHH4 (по Кабату)

FIDRIATTTIATSVKG

SEQ ID NO: 33 - CDR2 VHH5 (по Кабату)

AITWNGGTTYYADSVKG

SEQ ID NO: 34 - CDR2 VHH6 (по Кабату)

FISGGGTTTYADSVKG

SEQ ID NO: 35 - CDR2 VHH7 (по Кабату)

RITGGGSTHYAESVKG

SEQ ID NO: 36 - CDR2 VHH9 (по Кабату)

AISWSGGSTTYADPVKG

SEQ ID NO: 37 - CDR2 VHH10 (по Кабату)

AISWSGSSAGYGDSVKG

SEQ ID NO: 38 - CDR2 VHH11 (по Кабату)

AIRWSGGRTLYADSVKG

SEQ ID NO: 39 - CDR2 VHH12 (по Кабату)

SITWNGGSTSYADSVKG

SEQ ID NO: 40 - CDR2 VHH1 и VHH2 (по Чотиа)

DWNGRGTYY

SEQ ID NO: 41 - CDR2 VHH3 (по Чотиа)

NGGGI

SEQ ID NO: 42 - CDR2 VHH4 (по Чотиа)

DRIAT

SEQ ID NO: 43 - CDR2 VHH5 (по Чотиа)

TWNGGT

SEQ ID NO: 44 - CDR2 VHH6 (по Чотиа)

SGGGT

SEQ ID NO: 45 - CDR2 VHH7 (по Чотиа)

TGGGS

SEQ ID NO: 46 - CDR2 VHH9 (по Чотиа)

SWSGGS

SEQ ID NO: 47 - CDR2 VHH10 (по Чотиа)

SWSGSS

SEQ ID NO: 48 - CDR2 VHH11 (по Чотиа)

RWSGGR

SEQ ID NO: 49 - CDR2 VHH12 (по Чотиа)

TWNGGS

SEQ ID NO: 50 - CDR2 VHH1 и VHH2 (по IMGT)

IDWNGRGTYY

SEQ ID NO: 51 - CDR2 VHH3 (по IMGT)

INGGGIT

SEQ ID NO: 52 - CDR2 VHH4 (по IMGT)

IDRIATT

SEQ ID NO: 53 - CDR2 VHH5 (по IMGT)

ITWNGGTT

SEQ ID NO: 54 - CDR2 VHH6 (по IMGT)

ISGGGTT

SEQ ID NO: 55 - CDR2 VHH7 (по IMGT)

ITGGGST

SEQ ID NO: 56 - CDR2 VHH9 (по IMGT)

ISWSGGST

SEQ ID NO: 57 - CDR2 VHH10 (по IMGT)

ISWSGSSA

SEQ ID NO: 58 - CDR2 VHH11 (по IMGT)

IRWSGGRT

SEQ ID NO: 59 - CDR2 VHH12 (по IMGT)

ITWNGGST

SEQ ID NO: 60 - CDR3 VHH1 (по Кабату)

GSIDLNWYGGMDY

SEQ ID NO: 61 - CDR3 VHH2 (по Кабату)

TTVLTDPRVLNEYAT

SEQ ID NO: 62 - CDR3 VHH3 (по Кабату)

DVFGSSGYVETY

SEQ ID NO: 63 - CDR3 VHH4 (по Кабату)

PLTAR

SEQ ID NO: 64 - CDR3 VHH5 (по Кабату)

DPFNQGY

SEQ ID NO: 65 - CDR3 VHH6 (по Кабату)

PLTSR

SEQ ID NO: 66 - CDR3 VHH7 (по Кабату)

MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY

SEQ ID NO: 67 - CDR3 VHH9 (по Кабату)

DQRGY

SEQ ID NO: 68 - CDR3 VHH10 (по Кабату)

DPFNQGY

SEQ ID NO: 69 - CDR3 VHH11 (по Кабату)

DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

SEQ ID NO: 70 - CDR3 VHH12 (по Кабату)

ARYYVSGTYFPANY

SEQ ID NO: 71 - CDR3 VHH1 (по Чотиа)

GSIDLNWYGGMDY

SEQ ID NO: 72 - CDR3 VHH2 (по Чотиа)

TTVLTDPRVLNEYAT

SEQ ID NO: 73 - CDR3 VHH3 (по Чотиа)

DVFGSSGYVETY

SEQ ID NO: 74 - CDR3 VHH4 (по Чотиа)

PLTAR

SEQ ID NO: 75 - CDR3 VHH5 (по Чотиа)

DPFNQGY

SEQ ID NO: 76 - CDR3 VHH6 (по Чотиа)

PLTSR

SEQ ID NO: 77 - CDR3 VHH7 (по Чотиа)

MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY

SEQ ID NO: 78 - CDR3 VHH9 (по Чотиа)

DQRGY

SEQ ID NO: 79 - CDR3 VHH10 (по Чотиа)

DPFNQGY

SEQ ID NO: 80 - CDR3 VHH11 (по Чотиа)

DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

SEQ ID NO: 81 - CDR3 VHH12 (по Чотиа)

ARYYVSGTYFPANY

SEQ ID NO: 82 - CDR3 VHH1 (по IMGT)

CAAGSIDLNWYGGMDY

SEQ ID NO: 83 - CDR3 VHH2 (по IMGT)

CAATTVLTDPRVLNEYAT

SEQ ID NO: 84 - CDR3 VHH3 (по IMGT)

KADVFGSSGYVETY

SEQ ID NO: 85 - CDR3 VHH4 (по IMGT)

NHPLTAR

SEQ ID NO: 86 - CDR3 VHH5 (по IMGT)

AADPFNQGY

SEQ ID NO: 87 - CDR3 VHH6 (по IMGT)

NHPLTSR

SEQ ID NO: 88 - CDR3 VHH7 (по IMGT)

ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY

SEQ ID NO: 89 - CDR3 VHH9 (по IMGT)

NDQRGY

SEQ ID NO: 90 - CDR3 VHH10 (по IMGT)

AADPFNQGY

SEQ ID NO: 91 - CDR3 VHH11 (по IMGT)

AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

SEQ ID NO: 92 - CDR3 VHH12 (по IMGT)

AAARYYVSGTYFPANY

SEQ ID NO: 93 - VHH1 - аминокислотная последовательность VH

QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDW
NGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYG
GMDYWGQGTQVTVSS

SEQ ID NO: 94 - VHH2 - аминокислотная последовательность VH

EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDW
NGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRV
LNEYATWGQGTQVTVSS

SEQ ID NO: 95 - VHH3 - аминокислотная последовательность VH

QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGG
GITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQ
GTQVTVSS

SEQ ID NO: 96 - VHH4 - аминокислотная последовательность VH

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDR
IATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTV
SS

SEQ ID NO: 97 - VHH5 - аминокислотная последовательность VH

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITW
NGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGT
QVTVSS

SEQ ID NO: 98 - VHH6 - аминокислотная последовательность VH

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISG
GGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTV

SS

SEQ ID NO: 99 - VHH7 - аминокислотная последовательность VH

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITG GGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVR EIPDYDYWGQGTQVTVSS

SEQ ID NO: 100 - VHH9 - аминокислотная последовательность VH

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISW SGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVT VSS

SEQ ID NO: 101 - VHH10 - аминокислотная последовательность VH

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISW SGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGT QVTVSS

SEQ ID NO: 102 - VHH11 - аминокислотная последовательность VH

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRW SGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPA DSPAGYDYWGQGTQVTVSS

SEQ ID NO: 103 - VHH12 - аминокислотная последовательность VH

QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASIT WNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFP ANYWGQGTQVTVSS

SEQ ID NO: 104 - белок VHH1-линкер-моно-Fc

QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDW NGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYG GMDYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQ VSLSCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 105 - белок VHH2-линкер-моно-Fc

EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDW NGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRV LNEYATWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKN QVSLSCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 106 - белок VHH3-линкер-моно-Fc

QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGG GITHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQ

GTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 107 - белок VHH4-линкер-моно-Fc

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDR
IATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCXHPXTARWGQGTQVTV
SSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 108 - белок VHH5-линкер-моно-Fc

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITW
NGGTTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGT
QVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP
EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 109 - белок VHH6-линкер-моно-Fc

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISG
GGTTTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTV
SSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 110 - белок VHH7-линкер-моно-Fc

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITG
GGSTHYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVR
EIPDYDYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKN
QVSLSCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 111 - белок VHH9-линкер-моно-Fc

QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISW
SGGSTTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVT

VSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 112 - белок VHH10-линкер-моно-Fc

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISW
SGSSAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGT
QVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP
EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 113 - белок VHH11-линкер-моно-Fc

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRW
SGGRTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPA
DSPAGYDYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMT
KNQVSLSCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 114 - белок VHH12-линкер-моно-Fc

QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASIT
WNGGSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFP
ANYWGQGTQVTVSSEPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPKSPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTKPPSREEMTKNQ
VSLSCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDSDGSFRLASYLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 115 - тяжелая цепь IgA

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPI
FGSTAYAQKFQGRVTISADIFSNTAYMELNSLTSEDTAVYFCARHGNYYYYSGMDVWG
QGTTVTVSSASPTSPKVFPLSLDSTPQDGNVVVACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQNVTA
RNFPPSQDASGDLYTTSSQLTLPATQCPDGKSVTCHVKHYTNPSQDVTVPCPVPPPPCC
HPRLSLHRPALEDLLLGSEANLTCTLTGLRDASGATFTWTPSSGKSAVQGPPERDLCGC
YSVSSVLPGCAQPWNHGETFTCTAAHPELKTPLTANITKSGNTFRPEVHLLPPPSEELAL
NELVTLTCLARGFSPKDVLVRWLQGSQELPREKYLTWASRQEPSQGTTTFAVTSILRVA
AEDWKKGDTFSCMVGHEALPLAFTQKTIDRLAGKPTHVNVSVVMAEVDGTCY

SEQ ID NO: 116 -легкая цепь IgA

QSALTQPPAVSGTPGQRVTISCSGSDSNIGRRSVNWYQQFPGTAPKLLIYSNDQRP

SVVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEYYCAAWDDSLKGAVFGGGTQLTVLGQPKA
APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNN
KYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO: 117 - J-цепь IgA

SRDSSASASRVAGITAQEDERIVLVDNKCKCARITSRIIRSSEDPNEDIVERNIRIIV
PLNNRENISDPTSPLRTRFVYHLSDLCKKCDPTEVELDNQIVTATQSNICDEDSATETCYT
YDRNKCYTAVVPLVYGGETKMVETALTPDACYPD

SEQ ID NO: 118 - внеклеточный домен человеческого pIgR (ECD)

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYV
SSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEVSQGPGLL
NDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAQKRKSLYKQIGLYPVLVIDSSGYVNPNYTGRIRL
DIQGTGQLLFSVVINQLRLSDAGQYLCQAGDDSNSNKKNADLQVLKPEPELVYEDLRGS
VTFHCALGPEVANVAKFLCRQSSGENCDVVVNTLGKRAPAFEGRILLNPQDKDGSFSVV
ITGLRKEDAGRYLCGAHSDGQLQEGSPIQAWQLFVNEESTIPRSPTVVKGVAGSSVAVL
CPYNRKESKSIKYWCLWEGAQNGRCPLLVDSEGWVKAQYEGRLSLLEEPGNGTFTVIL
NQLTSRDAGFYWCLTNGDTLWRTTVEIKIIEGEPNLKVPGNVTAVLGETLKVPCHFPCK
FSSYEKYWCKWNNTGCQALPSQDEGPSKAFVNCDENSRLVSLTLNLVTRADEGWYWC
GVKQGHFYGETAAVYVAVEERKAAGSRDVSLAKADAAPDEKVLDSGFREIENKAIQDP
RLFAEEKAVADTRDQADGSRASVDSGSSEEQGGSSRHHHHHH

SEQ ID NO: 119 - внеклеточный домен 1 человеческого pIgR (D1)

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYV
SSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEVGSHHHH
HH

SEQ ID NO: 120 - внеклеточный домен 2 человеческого pIgR (D2)

SQGPGLLNDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAQKRKSLYKQIGLYPVLVIDSSGY
VNPNYTGRIRLDIQGTGQLLFSVVINQLRLSDAGQYLCQAGDDSNSNKKNADLQVLKPE
PGSHHHHHH

SEQ ID NO: 121 - внеклеточный домен 3 человеческого pIgR (D3)

KPEPELVYEDLRGSVTFHCALGPEVANVAKFLCRQSSGENCDVVVNTLGKRAPA
FEGRILLNPQDKDGSFSVVITGLRKEDAGRYLCGAHSDGQLQEGSPIQAWQLFVNEEST
GSHHHHHH

SEQ ID NO: 122 - внеклеточный домен 5 человеческого pIgR (D5)

GEPNLKVPGNVTAVLGETLKVPCHFPCKFSSYEKYWCKWNNTGCQALPSQDEG
PSKAFVNCDENSRLVSLTLNLVTRADEGWYWCGVKQGHFYGETAAVYVAVEERGSHH
HHHH

SEQ ID NO: 123 - внеклеточный домен 1 - домен 2 человеческого pIgR (D1-D2)

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYV
SSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEVSQGPGLL
NDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAQKRKSLYKQIGLYPVLVIDSSGYVNPNYTGRIRL
DIQGTGQLLFSVVINQLRLSDAGQYLCQAGDDSNSNKKNADLQVLKPGSHHHHHH

SEQ ID NO: 124 - внеклеточный домен 2 - домен 3 человеческого pIgR (D2-D3)

SQGPGLLNDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAQKRKSLYKQIGLYPVLVIDSSGY
VNPNYTGRIRLDIQGTGQLLFSVVINQLRLSDAGQYLCQAGDDSNSNKKNADLQVLKPE
PELVYEDLRGSVTFHCALGPEVANVAKFLCRQSSGENCDVVVNTLGKRAPAFEGRILLN
PQDKDGSFSVVITGLRKEDAGRYLCGAHSDGQLQEGSPIQAWQLFVNGSHHHHHH

SEQ ID NO: 125 - внеклеточный домен 4 - домен 5 человеческого pIgR (D4-D5)

STIPRSPTVVKGVAGSSVAVLCPYNRKESKSIKYWCLWEGAQNGRCPLLVDSEG
WVKAQYEGRLSLLEEPGNGTFTVILNQLTSRDAGFYWCLTNGDTLWRTTVEIKIIEGEP
NLKVPGNVTAVLGETLKVPCHFPCKFSSYEKYWCKWNNTGCQALPSQDEGPSKAFVNC
DENSRLVSLTLNLVTRADEGWYWCGVKQGHFYGETAAVYVAVEERGSHHHHHH

SEQ ID NO: 126 - pIgR CDR1 D1

GPQYASY

SEQ ID NO: 127 - pIgR CDR2 D1

DAP

SEQ ID NO: 128 - pIgR CDR3 D1

VGGVWSAD

SEQ ID NO: 129 - внеклеточный домен мышиного pIgR (ECD)

KSPIFGPQEVSSIEGDSVSITCYYPDTSVNRHTRKYWCRQGASGMCTTLISSNGYL
SKEYSGRANLINFPENNTFVINIEQLTQDDTGSYKCGLGTSNRGLSFDVSLEVSQVPELPS
DTHVYTKDIGRNVTIECPFKRENAPSKKSLCKKTNQSCELVIDSTEKVNPSYIGRAKLFM
KGTDLTVFYVNISHLTHNDAGLYICQAGEGPSADKKNVDLQVLAPEPELLYKDLRSSVT
FECDLGREVANEAKYLCRMNKETCDVIINTLGKRDPDFEGRILITPKDDNGRFSVLITGL
RKEDAGHYQCGAHSSGLPQEGWPIQTWQLFVNEESTIPNRRSVVKGVTGGSVAIACPYN
PKESSSLKYWCRWEGDGNGHCPVLVGTQAQVQEEYEGRLALFDQPGNGTYTVILNQLT
TEDAGFYWCLTNGDSRWRTTIELQVAEATREPNLEVTPQNATAVLGETFTVSCHYPCKF
YSQEKYWCKWSNKGCHILPSHDEGARQSSVSCDQSSQLVSMTLNPVSKEDEGWYWCG
VKQGQTYGETTAIYIAVEERTRGSSHVNPTDANARAKVALEEEVVDSSISEKENKAIPNP
GPFANEREIQNVGDQAQENRASGDAGSADGQSRSSSSKHHHHHH

SEQ ID NO: 130 - шарнирная область (AA)

EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK

SEQ ID NO: 131 - шарнирная область (ДНК)

GAACCCAAGACACCAAAACCACAACCACAACCACAACTACAACCACAACCC
AATCCTACAACAGAATCCAAGAGCCCCAAAA

SEQ ID NO: 132 - последовательность ДНК моно-Fc человеческого IgG1

AGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAA
ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGG
ACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGT
GGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGT
GCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC

AAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCAAGCCCCCATCCCGGGAGGAGAT
GACCAAGAACCAGGTCAGCCTGAGCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACA
TCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGGT
GCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCAGACTCGCAAGCTATCTCACCGTGGACAA
GAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGC
ACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO: 146 - последовательность АА моно-Fc человеческого IgG1

SPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG
QPREPQVYTKPPSREEMTKNQVSLSCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTVPVLDS
DGSFRLASYLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 133 - последовательность ДНК, кодирующая VHH1

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTC
TGAAACTCGCCTGTGCAGCACCTGGACTTACCTTCAGTTCGTATCGCATGGGCTGGT
TCCGCCAGGCTCCAGGGCAGGAGCGTGAGTTTGTAGCAGCTATTGATTGGAATGGTC
GTGGCACATATTATCGATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATTTCCA
GAGACAACGCCAAGAACACGATGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGAC
ACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCAGGTTCGATCGACCTTAACTGGTACGGCGGCATG
GACTACTGGGGCNANGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 134 - последовательность ДНК, кодирующая VHH2

GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTC
TGAAACTCGCCTGTGCAGCACCTGGACTTACCTTCAGTTCGTATCGCATGGGCTGGT
TCCGCCAGGCTCCAGGGCAGGAGCGTGAGTTTGTAGCAGCTATTGATTGGAATGGTC
GTGGCACATATTATCGATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATCCACCATTTCCA
GAGACAACGCCAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGAC
ACGGCCGTTTATTACTGTGCAGCTACTACGGTATTAACTGACCCTAGGGTTCTTAAT
GAGTATGCCACATGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 135 - последовательность ДНК, кодирующая VHH3

CAGTTGCAGCTCGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGCCTGGGGGGTCTC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAAGCATCTTCAGTATCAATGTTATGGGCTGGT
ACCGCCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGAGTTGGTCGCACGTATTAATGGAGGTGGC
ATTACACACTATGCAGAGTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACGC
CAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACAGCCGCAT
ATTACTGTAAGGCAGATGTGTTCGGTAGTAGCGGGTACGTAGAAACCTACTGGGGC
CAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 136 - последовательность ДНК, кодирующая VHH4

GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTC
TGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAACCTCCGTCAGTAGCAATGCCATGGGTTGGT
ACCGCCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGAGTGGGTCGGATTTATTGATCGTATTGCT
ACCACGACGATTGCAACCTCCGTGAAGGGCCGATTCGCCATCACCAGAGACAACGC

CAAGAACACGGTGTATCTCCAAATGAGCGGCCTGAAACCTGAGGACACAGCCGTCT
ATTACTGTAATCATCCATTGACCGCTCGGTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCT
CCTCA

SEQ ID NO: 137 - последовательность ДНК, кодирующая VHH5

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCAGTAGCTATGCCATGGGCTGGT
TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGTGAGTTTGTAGCAGCTATTACCTGGAATGGT
GGTACCACATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA
CGCCAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAACCTGAGGACACGGCCG
TTTATTACTGTGCAGCAGACCCATTCAACCAAGGCTACTGGGGCCAGGGGACCCAG
GTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 138 - последовательность ДНК, кодирующая VHH6

GAGGTGCAGCTCGTGGAGTCTGGAGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGGTCTC
TGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGAAGCTCCGTCAGTAGCGATGCCATGGGTTGGT
ACCGCCAGGCTCCAGGGAATCAGCGCGCGTGGGTCGCATTTATTTCTGGTGGTGGTA
CCACAACCTATGCAGACTCCGTTAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACACC
AAGAACACGGTGTATCTCCACATGAACAGCCTGAAACCTGAAGACACAGCCGTCTA
TTACTGTAATCATCCATTGACGTCTCGGTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTC
CTCA

SEQ ID NO: 139 - последовательность ДНК, кодирующая VHH7

GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGGTCT
CTGAGACTCGCCTGTGTAGCCTCTAGAAGCATCGGCAGTATCAATGTTATGGGCTGG
TACCGCCAGGCTCCAGGGAAGCAGCGCGACTTGGTCGCACGTATTACTGGAGGTGG
CAGTACACACTACGCAGAGTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAACG
CCAAGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGGAACCTGAGGACACGGCCGTT
TATTACTGTGCGTCAATGGTAAACCCTATCATTACGGCTTGGGGTACGATTGGTGTG
CGCGAGATTCCCGACTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 140 - последовательность ДНК, кодирующая VHH10

GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGCAGGCTGGGGGGTCTC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCACCCGCTATGCCATGGGCTGGTT
CCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGATCGTTTGTAGCAGCTATTAGCTGGAGTGGTA
GTAGCGCAGGCTATGGAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAAC
GCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTAAAACCTGAGGACACGGCCGT
TTATTACTGTGCAGCAGACCCATTCAACCAAGGCTACTGGGGCCAGGGGACCCAGG
TCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 141 - последовательность ДНК, кодирующая VHH11

GAGGTGCAGGTGGTGGAGTCTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGGCTCTC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCTTCACTACCTATCGCATGGGCTGGT
TCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGAGAGTTTGTAGCAGCTATTCGCTGGAGTGGT
GGTCGCACATTGTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA

CGCCAAGAACACAGCGTATCTGCAAATGAACAACCTGAGACCTGAGGACACGGCCG
TTTATTACTGTGCAGCAGATCTAGCCGAGTATAGTGGTACTTACTCCAGCCCTGCGG
ACTCCCCCGCTGGGTATGACTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 142 - последовательность ДНК, кодирующая VHH12

CAGGTGCAGCTGGTCGAAACTGGGGGAGGATTGGTGCAGGCTGGGGACTCTC
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGACGCACCCTCAGCTTCAACACCTATGCCATGG
GCTGGTTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGAGCGTGAATTTGTAGCCTCTATTACCTGGA
ATGGTGGAAGCACAAGCTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCACCAGA
GACAACGCCAAGAACACGGCTACTCTGCGAATGAATAGCCTGCAGCCCGACGACAC
GGCCGTGTATTACTGTGCAGCAGCCCGATACTATGTGAGTGGTACTTACTTCCCCGC
GAATTACTGGGGCCAGGGGACCCAGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO: 143 - иллюстративная стволовая последовательность человеческого pIgR

EKAVADTRDQADGSRASVDSGSSEEQGGSSR

SEQ ID NO: 144 - иллюстративная стволовая последовательность мышиного pIgR

EREIQNVGDQAQENRASGDAGSADGQSRSSSSK

SEQ ID NO: 145 - иллюстративная стволовая последовательность мышиного pIgR

EREIQNVRDQAQENRASGDAGSADGQSRSSSSK

SEQ ID NO: 147 - иллюстративный гибкий линкер 1

(EAAAK)n, где n представляет собой целое число от 1 до 20

SEQ ID NO: 148 - иллюстративный гибкий линкер 2

(GGGGS)n, где n представляет собой целое число от 1 до 20

SEQ ID NO: 149 - иллюстративный гибкий линкер 3

(GGGS)n, где n представляет собой целое число от 1 до 20

SEQ ID NO: 150 - иллюстративная шарнирная область 1

EPKSCDKTHTCPPCP

SEQ ID NO: 151 - иллюстративная шарнирная область 2

ERKCCVECPPCP

SEQ ID NO: 152 - иллюстративная шарнирная область 3

ELKTPLGDTTHTCPRCP(EPKSCDTPPPCPRCP)$_3$

SEQ ID NO: 153 - иллюстративная шарнирная область 4

ESKYGPPCPSCP

SEQ ID NO: 154 - CDR1 VHH1 и VHH2 (по Чотиа)

GLTFSSYRMG

SEQ ID NO: 155 - CDR1 VHH3 (иллюстративн.)

GSIFSINVMG

SEQ ID NO: 156 - CDR1 VHH4 (иллюстративн.)

GTSVSSNAMG

SEQ ID NO: 157 - CDR1 VHH5 (иллюстративн.)
GRTFSSYAMG
SEQ ID NO: 158 - CDR1 VHH6 (иллюстративн.)
GSSVSSDAMG
SEQ ID NO: 159 - CDR1 VHH7 (иллюстративн.)
RSIGSINVMG
SEQ ID NO: 160 - CDR1 VHH9 (иллюстративн.)
GRTFSTYRMG
SEQ ID NO: 161 - CDR1 VHH10 (иллюстративн.)
GFTFTRYAMG
SEQ ID NO: 162 - CDR1 VHH11 (иллюстративн.)
GRTFTTYRMG
SEQ ID NO: 163 - CDR1 VHH12 (иллюстративн.)
GRTLSFNTYAMG
SEQ ID NO: 164 - CDR1 VHH1 и VHH2 (Contact)
SSYRMG
SEQ ID NO: 165 - CDR1 VHH3 (Contact)
SINVMG
SEQ ID NO: 166 - CDR1 VHH4 (Contact)
SSNAMG
SEQ ID NO: 167 - CDR1 VHH5 (Contact)
SSYAMG
SEQ ID NO: 168 - CDR1 VHH6 (Contact)
SSDAMG
SEQ ID NO: 169 - CDR1 VHH7 (Contact)
SINVMG
SEQ ID NO: 170 - CDR1 VHH9 (Contact)
STYRMG
SEQ ID NO: 171 - CDR1 VHH10 (Contact)
TRYAMG
SEQ ID NO: 172 - CDR1 VHH11 (Contact)
TTYRMG
SEQ ID NO: 173 - CDR1 VHH12 (Contact)
SFNTYAMG
SEQ ID NO: 174 - CDR1 VHH1 и VHH2 (AbM)
GLTFSSYRMG
SEQ ID NO: 175 - CDR1 VHH3 (AbM)
GSIFSINVMG
SEQ ID NO: 176 - CDR1 VHH4 (AbM)
GTSVSSNAMG

SEQ ID NO: 177 - CDR1 VHH5 (AbM)
GRTFSSYAMG
SEQ ID NO: 178 - CDR1 VHH6 (AbM)
GSSVSSDAMG
SEQ ID NO: 179 - CDR1 VHH7 (AbM)
RSIGSINVMG
SEQ ID NO: 180 - CDR1 VHH9 (AbM)
GRTFSTYRMG
SEQ ID NO: 181 - CDR1 VHH10 (AbM)
GFTFTRYAMG
SEQ ID NO: 182 - CDR1 VHH11 (AbM)
GRTFTTYRMG
SEQ ID NO: 183 - CDR1 VHH12 (AbM)
GRTLSFNTYAMG
SEQ ID NO: 184 - CDR2 VHH1 и VHH2 (иллюстративн.)
AIDWNGRGTYYRYYADSVKG
SEQ ID NO: 185 - CDR2 VHH3 (иллюстративн.)
RINGGGITHYAESVKG
SEQ ID NO: 186 - CDR2 VHH4 (иллюстративн.)
FIDRIATTTIATSVKG
SEQ ID NO: 187 - CDR2 VHH5 (иллюстративн.)
AITWNGGTTYYADSVKG
SEQ ID NO: 188 - CDR2 VHH6 (иллюстративн.)
FISGGGTTTYADSVKG
SEQ ID NO: 189 - CDR2 VHH7 (иллюстративн.)
RITGGGSTHYAESVKG
SEQ ID NO: 190 - CDR2 VHH9 (иллюстративн.)
AISWSGGSTTYADPVKG
SEQ ID NO: 191 - CDR2 VHH10 (иллюстративн.)
AISWSGSSAGYGDSVKG
SEQ ID NO: 192 - CDR2 VHH11 (иллюстративн.)
AIRWSGGRTLYADSVKG
SEQ ID NO: 193 - CDR2 VHH12 (иллюстративн.)
SITWNGGSTSYADSVKG
SEQ ID NO: 194 - CDR2 VHH1 и VHH2 (Contact)
FVAAIDWNGRGTYYRY
SEQ ID NO: 195 - CDR2 VHH3 (Contact)
LVARINGGGITH
SEQ ID NO: 196 - CDR2 VHH4 (Contact)
WVGFIDRIATTT

SEQ ID NO: 197 - CDR2 VHH5 (Contact)
FVAAITWNGGTTY
SEQ ID NO: 198 - CDR2 VHH6 (Contact)
WVAFISGGGTTT
SEQ ID NO: 199 - CDR2 VHH7 (Contact)
LVARITGGGSTH
SEQ ID NO: 200 - CDR2 VHH9 (Contact)
FVAAISWSGGSTT
SEQ ID NO: 201 - CDR2 VHH10 (Contact)
FVAAISWSGSSAG
SEQ ID NO: 202 - CDR2 VHH11 (Contact)
FVAAIRWSGGRTL
SEQ ID NO: 203 - CDR2 VHH12 (Contact)
FVASITWNGGSTS
SEQ ID NO: 204 - CDR2 VHH1 и VHH2 (AbM)
AIDWNGRGTYYRY
SEQ ID NO: 205 - CDR2 VHH3 (AbM)
RINGGGITH
SEQ ID NO: 206 - CDR2 VHH4 (AbM)
FIDRIATTT
SEQ ID NO: 207 - CDR2 VHH5 (AbM)
AITWNGGTTY
SEQ ID NO: 208 - CDR2 VHH6 (AbM)
FISGGGTTT
SEQ ID NO: 209 - CDR2 VHH7 (AbM)
RITGGGSTH
SEQ ID NO: 210 - CDR2 VHH9 (AbM)
AISWSGGSTT
SEQ ID NO: 211 - CDR2 VHH10 (AbM)
AISWSGSSAG
SEQ ID NO: 212 - CDR2 VHH11 (AbM)
AIRWSGGRTL
SEQ ID NO: 213 - CDR2 VHH12 (AbM)
SITWNGGSTS
SEQ ID NO: 214 - CDR3 VHH1 (иллюстративн.)
GSIDLNWYGGMDY
SEQ ID NO: 215 - CDR3 VHH2 (иллюстративн.)
TTVLTDPRVLNEYAT
SEQ ID NO: 216 - CDR3 VHH3 (иллюстративн.)
DVFGSSGYVETY

SEQ ID NO: 217 - CDR3 VHH4 (иллюстративн.)
PLTAR
SEQ ID NO: 218 - CDR3 VHH5 (иллюстративн.)
DPFNQGY
SEQ ID NO: 219 - CDR3 VHH6 (иллюстративн.)
PLTSR
SEQ ID NO: 220 - CDR3 VHH7 (иллюстративн.)
MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY
SEQ ID NO: 221 - CDR3 VHH9 (иллюстративн.)
QRGY
SEQ ID NO: 222 - CDR3 VHH10 (иллюстративн.)
DPFNQGY
SEQ ID NO: 223 - CDR3 VHH11 (иллюстративн.)
DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY
SEQ ID NO: 224 - CDR3 VHH12 (иллюстративн.)
ARYYVSGTYFPANY
SEQ ID NO: 225 - CDR3 VHH1 (Contact)
AAGSIDLNWYGGMD
SEQ ID NO: 226 - CDR3 VHH2 (Contact)
AATTVLTDPRVLNEYA
SEQ ID NO: 227 - CDR3 VHH3 (Contact)
KADVFGSSGYVET
SEQ ID NO: 228 - CDR3 VHH4 (Contact)
NHPLTA
SEQ ID NO: 229 - CDR3 VHH5 (Contact)
AADPFNQG
SEQ ID NO: 230 - CDR3 VHH6 (Contact)
NHPLTS
SEQ ID NO: 231 - CDR3 VHH7 (Contact)
ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD
SEQ ID NO: 232 - CDR3 VHH9 (Contact)
NDQRG
SEQ ID NO: 233 - CDR3 VHH10 (Contact)
AADPFNQG
SEQ ID NO: 234 - CDR3 VHH11 (Contact)
AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD
SEQ ID NO: 235 - CDR3 VHH12 (Contact)
AAARYYVSGTYFPAN
SEQ ID NO: 236 - CDR3 VHH1 (AbM)
GSIDLNWYGGMDY

SEQ ID NO: 237 - CDR3 VHH2 (AbM)

TTVLTDPRVLNEYAT

SEQ ID NO: 238 - CDR3 VHH3 (AbM)

DVFGSSGYVETY

SEQ ID NO: 239 - CDR3 VHH4 (AbM)

PLTAR

SEQ ID NO: 240 - CDR3 VHH5 (AbM)

DPFNQGY

SEQ ID NO: 241 - CDR3 VHH6 (AbM)

PLTSR

SEQ ID NO: 242 - CDR3 VHH7 (AbM)

MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY

SEQ ID NO: 243 - CDR3 VHH9 (AbM)

QRGY

SEQ ID NO: 244 - CDR3 VHH10 (AbM)

DPFNQGY

SEQ ID NO: 245 - CDR3 VHH11 (AbM)

DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY

SEQ ID NO: 246 - CDR3 VHH12 (AbM)

ARYYVSGTYFPANY

SEQ ID NO: 247 - hpIgR_073

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDR IATTTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCXHPXTARWGQGTQVTV SS

SEQ ID NO: 248 - hpIgR_201

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRPNSKYAMAWFRRAPGKEREFQAAINW SGANTYYGDSVKGRFTISRDNAKNTVTLQMNNLNPEDTAVYYCAADNRAYTYHTFDY YQTDASYVYWGQGTQVTVSS

SEQ ID NO: 249 - mpIgR_349

QLQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSTSTMGWFRQAPGKEREFVAAIQWS SASASTYYYYADSVKGRFTISRDNARNTVSLQMNSLKPEDTAVYYCANLVFRVGALKE RDDYWGQGTQVTVSS

SEQ ID NO: 250 - hpIgR_D1

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYV SSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEVS

SEQ ID NO: 251 - mpIgR_D1

KSPIFGPQEVSSIEGDSVSITCYYPDTSVNRHTRKYWCRQGASGMCTTLISSNGYL SKEYSGRANLINFPENNTFVINIEQLTQDDTGSYKCGLGTSNRGLSFDVSLEVS

SEQ ID NO: 252 - консенсус

KSPIFGPX_1EVX_2SIEGX_3SVSITCYYPX_4TSVNRHTRKYWCRQGAX_5GX_6CX_7TLISS

X_8GYLSX_9X_{10}YAGRANLX$_{11}$NFPENX$_{12}$TFVINIX$_{13}$QLSQDDSGX$_{14}$YKCGLGX$_{15}X_{16}X_{17}$RGL SFDVSLEVS

X_1 представляет собой E или Q, X_2 представляет собой N или S, X_3 представляет собой N или D, X_4 представляет собой P или D, X_5 представляет собой R или S, X_6 представляет собой G или M, X_7 представляет собой I или T, X_8 представляет собой E или N, X_9 представляет собой S или K, X_{10} представляет собой K или E, X_{11} представляет собой T или I, X_{12} представляет собой G или N, X_{13} представляет собой A или E, X_{14} представляет собой R или S, X_{15} представляет собой I или T, X_{16} представляет собой N или S, X_{17} представляет собой S или N

SEQ ID NO: 253 - tpIgR_D1

RVTTVGDLAVLEGRSVMIPCHYGPQYASYVKYWCRGSVKDLCTSLVRSDAPRG PAAAGEDKVVMFDDPVQQVFTVTMTELQKEDSGWYWCGVEVGGVWSADVTASLHIN VIQG

SEQ ID NO: 254 - hpIgR_D1

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYV SSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEV

SEQ ID NO: 255 - hD1_tCDR1

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYGPQYASYRKYWCRQGARGGCITLISSEGYVSS KYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEV

SEQ ID NO: 256 - hD1_tCDR2

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSDAPV SSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEV

SEQ ID NO: 257 - hD1_tCDR3

KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYV SSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGVGGVWSADLSFDVSLEV

SEQ ID NO: 258 - CDR1 VHH9 (по Кабату)

FTTYRMG

SEQ ID NO: 259 - CDR1 VHH10 (по Кабату) - альтернативно

TYRMG

SEQ ID NO: 260 - CDR2 VHH1 и VHH2 (по Чотиа) - альтернативно

WNGRGTY

SEQ ID NO: 261 - CDR2 VHH3 (по Чотиа) - альтернативно

GGG

SEQ ID NO: 262 - CDR2 VHH4 (по Чотиа) - альтернативно

RIA

SEQ ID NO: 263 - CDR2 VHH5 (по Чотиа) - альтернативно

WNGG

SEQ ID NO: 264 - CDR2 VHH6 (по Чотиа) - альтернативно

GGG

SEQ ID NO: 265 - CDR2 VHH7 (по Чотиа) - альтернативно

GGG

SEQ ID NO: 266 - CDR2 VHH9 (по Чотиа) - альтернативно

WSGG

SEQ ID NO: 267 - CDR2 VHH10 (по Чотиа) - альтернативно

WSGS

SEQ ID NO: 268 - CDR2 VHH11 (по Чотиа) - альтернативно

WSGG

SEQ ID NO: 269 - CDR2 VHH12 (по Чотиа) - альтернативно

WNGG

SEQ ID NO: 270 - CDR2 VHH1 и VHH2 (по IMGT) - альтернативно

IDWNGRGTYYR

SEQ ID NO: 271 - CDR3 VHH9 (по Кабату) - альтернативно

QRGY

SEQ ID NO: 272 - CDR3 VHH1 (по Чотиа) - альтернативно

SIDLNWYGGMD

SEQ ID NO: 273 - CDR3 VHH2 (по Чотиа) - альтернативно

TVLTDPRVLNEYA

SEQ ID NO: 274 - CDR3 VHH3 (по Чотиа) - альтернативно

VFGSSGYVET

SEQ ID NO: 275 - CDR3 VHH4 (по Чотиа) - альтернативно

LTA

SEQ ID NO: 276 - CDR3 VHH5 (по Чотиа) - альтернативно

PFNQG

SEQ ID NO: 277 - CDR3 VHH6 (по Чотиа) - альтернативно

LTS

SEQ ID NO: 278 - CDR3 VHH7 (по Чотиа) - альтернативно

VNPIITAWGTIGVREIPDYD

SEQ ID NO: 279 - CDR3 VHH9 (по Чотиа) - альтернативно

RG

SEQ ID NO: 280 - CDR3 VHH10 (по Чотиа) - альтернативно

PFNQG

SEQ ID NO: 281 - CDR3 VHH11 (по Чотиа) - альтернативно

LAEYSGTYSSPADSPAGYD

SEQ ID NO: 282 - CDR3 VHH12 (по Чотиа) - альтернативно

RYYVSGTYFPAN

SEQ ID NO: 283 - CDR3 VHH1 (по IMGT) - альтернативно

AAGSIDLNWYGGMDY

SEQ ID NO: 284 - CDR3 VHH2 (по IMGT) - альтернативно

AATTVLTDPRVLNEYAT

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ доставки однодоменного антитела или терапевтической молекулы от апикальной поверхности клетки, экспрессирующей рецептор полимерного иммуноглобулина (pIgR), к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки, включающий приведение pIgR-экспрессирующей клетки в контакт с однодоменным антителом или терапевтической молекулой, причем однодоменное антитело связывается с pIgR, а терапевтическая молекула содержит агент и однодоменное антитело.

2. Способ транспорта терапевтической молекулы к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки субъекта, включающий введение субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, которое связывается с pIgR.

3. Способ по п. 2, в котором терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки.

4. Способ транспорта терапевтической молекулы в большой круг кровообращения субъекта, включающий введение субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, причем терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки.

5. Способ транспорта терапевтической молекулы в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника или в желудочно-кишечный тракт субъекта, включающий введение субъекту терапевтической молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, причем терапевтическую молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки.

6. Способ по любому из пп. 2-5, в котором терапевтический агент транспортируют от апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки к базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки в организме субъекта.

7. Способ по п. 1 или п. 6, в котором однодоменное антитело или терапевтическая молекула, содержащая агент и однодоменное антитело, могут транспортироваться от базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки к апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки.

8. Способ по любому из пп. 1-7, в котором pIgR-экспрессирующая клетка представляет собой эпителиальную клетку.

9. Способ по п. 8, в котором эпителиальная клетка представляет собой клетку просвета кишечника или эпителиальную клетку дыхательных путей.

10. Способ по любому из пп. 1-9, в котором агент представляет собой лекарственное средство для лечения диабета.

11. Способ по п. 10, в котором лекарственное средство для лечения диабета выбрано из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1, пептидов-

миметиков инсулина и пептидов-миметиков глюкагоноподобного пептида-1.

12. Способ по любому из пп. 1-9, в котором агент представляет собой пептид, или антитело, или его фрагмент.

13. Способ по п. 12, в котором антитело или его фрагмент выбраны из группы, состоящей из антитела к TNF-альфа или его фрагмента, антитела к IL23 или его фрагмента, антитела, которое связывается с рецептором IL23, или его фрагмента, или ингибитора рецептора IL23.

14. Способ по любому из пп. 1-9, в котором агент представляет собой вакцину.

15. Способ по п. 14, в котором вакцина предназначена для профилактики инфекции, выбранной из группы, состоящей из вибриона, холеры, тифа, ротавируса, туберкулеза, ВИЧ, гриппа, Эболы и Сендай.

16. Способ по любому из пп. 1-15, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1, внеклеточным доменом 2, внеклеточным доменом 1-2, внеклеточным доменом 3, внеклеточным доменом 2-3, внеклеточным доменом 4-5 или внеклеточным доменом 5 pIgR.

17. Способ по любому из пп. 1-15, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1 pIgR.

18. Способ по любому из пп. 1-15, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 2 pIgR.

19. Способ по любому из пп. 1-15, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1-2 pIgR.

20. Способ по любому из пп. 1-15, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 3 pIgR.

21. Способ по любому из пп. 1-15, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 2-3 pIgR.

22. Способ по любому из пп. 1-15, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 4-5 pIgR.

23. Способ по любому из пп. 1-15, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 5 pIgR.

24. Способ по любому из пп. 1-23, в котором однодоменное антитело конкурирует со связыванием IgA с pIgR.

25. Способ по любому из пп. 1-23, в котором однодоменное антитело стимулирует связывание IgA с pIgR.

26. Способ по любому из пп. 1-25, в котором K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет от около 4 до около 525 нМ.

27. Способ по любому из пп. 1-25, в котором K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет менее около 50 нМ.

28. Способ по любому из пп. 1-25, в котором K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет от около 4 до около 34 нМ.

29. Способ по любому из пп. 1-28, в котором T_m однодоменного антитела

составляет от около 53 до около 77 °C.

30. Способ по любому из пп. 1-28, в котором T_m однодоменного антитела составляет от 53,9 до 76,4 °C.

31. Способ по любому из пп. 1-30, в котором pIgR представляет собой человеческий pIgR.

32. Способ по любому из пп. 1-30, в котором pIgR представляет собой мышиный pIgR.

33. Способ по любому из пп. 1-30, в котором однодоменное антитело не связывается со стволовой последовательностью человеческого pIgR и/или со стволовой последовательностью мышиного pIgR.

34. Способ по любому из пп. 1-33, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62), PLTAR (SEQ ID NO: 63), DPFNQGY (SEQ ID NO: 64), PLTSR (SEQ ID NO: 65), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66), DQRGY (SEQ ID NO: 67), QRGY (SEQ ID NO: 271), DPFNQGY (SEQ ID NO: 68), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71), SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72), TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73), VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274), PLTAR (SEQ ID NO: 74), LTA (SEQ ID NO: 275), DPFNQGY (SEQ ID NO: 75), PFNQG (SEQ ID NO: 276), PLTSR (SEQ ID NO: 76), LTS (SEQ ID NO: 277), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77), VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278), DQRGY (SEQ ID NO: 78), RG (SEQ ID NO: 279), DPFNQGY (SEQ ID NO: 79), PFNQG (SEQ ID NO: 280), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80), LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81), RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282), CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82), AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283), CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83), AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284), KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84), NHPLTAR (SEQ ID NO: 85), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86), NHPLTSR (SEQ ID NO: 87), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88), NDQRGY (SEQ ID NO: 89), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91), AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216), PLTAR (SEQ ID NO: 217), DPFNQGY (SEQ ID NO: 218), PLTSR (SEQ ID NO: 219), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220), QRGY (SEQ ID NO: 221), DPFNQGY (SEQ ID NO: 222), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224), AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225), AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226), KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227), NHPLTA (SEQ ID NO: 228), AADPFNQG (SEQ ID NO: 229), NHPLTS (SEQ ID NO: 230), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231), NDQRG (SEQ ID NO: 232), AADPFNQG (SEQ ID NO: 233), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234),

AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238), PLTAR (SEQ ID NO: 239), DPFNQGY (SEQ ID NO: 240), PLTSR (SEQ ID NO: 241), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242), QRGY (SEQ ID NO: 243), DPFNQGY (SEQ ID NO: 244), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245) или ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

35. Способ по любому из пп. 1-34, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39), DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40), WNGRGTY (SEQ ID NO: 260), NGGGI (SEQ ID NO: 41), GGG (SEQ ID NO: 261), DRIAT (SEQ ID NO: 42), RIA (SEQ ID NO: 262), TWNGGT (SEQ ID NO: 43), WNGG (SEQ ID NO: 263), SGGGT (SEQ ID NO: 44), GGG (SEQ ID NO: 264), TGGGS (SEQ ID NO: 45), GGG (SEQ ID NO: 265), SWSGGS (SEQ ID NO: 46), WSGG (SEQ ID NO: 266), SWSGSS (SEQ ID NO: 47), WSGS (SEQ ID NO: 267), RWSGGR (SEQ ID NO: 48), WSGG (SEQ ID NO: 268), TWNGGS (SEQ ID NO: 49), WNGG (SEQ ID NO: 269), IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50), IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270), INGGGIT (SEQ ID NO: 51), IDRIATT (SEQ ID NO: 52), ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53), ISGGGTT (SEQ ID NO: 54), ITGGGST (SEQ ID NO: 55), ISWSGGST (SEQ ID NO: 56), ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57), IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58), ITWNGGST (SEQ ID NO: 59), AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193), FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194), LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195), WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196), FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197), WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198), LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199), FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200), FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201), FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202), FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203), AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204), RINGGGITH (SEQ ID NO: 205), FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206), AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207), FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208), RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209), AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210), AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211), AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) или SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213).

36. Способ по любому из пп. 1-35, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), INVMG (SEQ ID NO: 2), SNAMG (SEQ ID NO: 3), SYAMG (SEQ ID NO: 4), SDAMG (SEQ ID NO: 5), INVMG (SEQ ID NO:

6), TYRMG (SEQ ID NO: 7), RYAMG (SEQ ID NO: 8), FTTYRMG (SEQ ID NO: 258), TYRMG (SEQ ID NO: 259), FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), SSYRMG (SEQ ID NO: 164), SINVMG (SEQ ID NO: 165), SSNAMG (SEQ ID NO: 166), SSYAMG (SEQ ID NO: 167), SSDAMG (SEQ ID NO: 168), SINVMG (SEQ ID NO: 169), STYRMG (SEQ ID NO: 170), TRYAMG (SEQ ID NO: 171), TTYRMG (SEQ ID NO: 172), SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182) или GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183).

37. Способ по любому из пп. 1-36, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из:

a) VHH1:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71) или SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82) или AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR 2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3

AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236);

b) VHH2:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72) или TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83) или AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237);

c) VHH3:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 2), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62);

ii) последовательность CDR1 GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), последовательность CDR2 NGGGI (SEQ ID NO: 41) или GGG (SEQ ID NO: 261) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73) или VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274);

iii) последовательность CDR1 GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), последовательность CDR2 INGGGIT (SEQ ID NO: 51) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84);

iv) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 165), последовательность CDR2 LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195) и последовательность CDR3

KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227); или

vi) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), последовательность CDR2 RINGGGITH (SEQ ID NO: 205) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238);

d) VHH4:

i) последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63);

ii) последовательность CDR1 GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), последовательность CDR2 DRIAT (SEQ ID NO: 42) или RIA (SEQ ID NO: 262) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 74) или LTA (SEQ ID NO: 275);

iii) последовательность CDR1 GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), последовательность CDR2 IDRIATT (SEQ ID NO: 52) и последовательность CDR3 NHPLTAR (SEQ ID NO: 85);

iv) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 217);

v) последовательность CDR1 SSNAMG (SEQ ID NO: 166), последовательность CDR2 WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196) и последовательность CDR3 NHPLTA (SEQ ID NO: 228); или

vi) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), последовательность CDR2 FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 239);

e) VHH5:

i) последовательность CDR1 SYAMG (SEQ ID NO: 4), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 64);

ii) последовательность CDR1 GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), последовательность CDR2 TWNGGT (SEQ ID NO: 43) или WNGG (SEQ ID NO: 263) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 75) или PFNQG (SEQ ID NO: 276);

iii) последовательность CDR1 GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), последовательность CDR2 ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86);

iv) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 218);

v) последовательность CDR1 SSYAMG (SEQ ID NO: 167), последовательность CDR2 FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 229); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177),

последовательность CDR2 AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 240);

f) VHH6:

i) последовательность CDR1 SDAMG (SEQ ID NO: 5), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 65);

ii) последовательность CDR1 GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), последовательность CDR2 SGGGT (SEQ ID NO: 44) или GGG (SEQ ID NO: 264) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 76) или LTS (SEQ ID NO: 277);

iii) последовательность CDR1 GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), последовательность CDR2 ISGGGTT (SEQ ID NO: 54) и последовательность CDR3 NHPLTSR (SEQ ID NO: 87);

iv) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 219);

v) последовательность CDR1 SSDAMG (SEQ ID NO: 168), последовательность CDR2 WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198) и последовательность CDR3 NHPLTS (SEQ ID NO: 230); или

vi) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), последовательность CDR2 FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 241);

g) VHH7:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 6), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66);

ii) последовательность CDR1 RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), последовательность CDR2 TGGGS (SEQ ID NO: 45) или GGG (SEQ ID NO: 265) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77) или VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278);

iii) последовательность CDR1 RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), последовательность CDR2 ITGGGST (SEQ ID NO: 55) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88);

iv) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 169), последовательность CDR2 LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231); или

vi) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), последовательность CDR2 RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209) и последовательность CDR3

MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242);

h) VHH9:

i) последовательность CDR1 TYRMG (SEQ ID NO: 7), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 67) или QRGY (SEQ ID NO: 271);

ii) последовательность CDR1 GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), последовательность CDR2 SWSGGS (SEQ ID NO: 46) или WSGG (SEQ ID NO: 266) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 78) или RG (SEQ ID NO: 279);

iii) последовательность CDR1 GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), последовательность CDR2 ISWSGGST (SEQ ID NO: 56) и последовательность CDR3 NDQRGY (SEQ ID NO: 89);

iv) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 221);

v) последовательность CDR1 STYRMG (SEQ ID NO: 170), последовательность CDR2 FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200) и последовательность CDR3 NDQRG (SEQ ID NO: 232); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), последовательность CDR2 AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 243);

i) VHH10:

i) последовательность CDR1 RYAMG (SEQ ID NO: 8), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 68);

ii) последовательность CDR1 GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), последовательность CDR2 SWSGSS (SEQ ID NO: 47) или WSGS (SEQ ID NO: 267) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 79) или PFNQG (SEQ ID NO: 280);

iii) последовательность CDR1 GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), последовательность CDR2 ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90);

iv) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 222);

v) последовательность CDR1 TRYAMG (SEQ ID NO: 171), последовательность CDR2 FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 233); или

vi) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), последовательность CDR2 AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 244);

j) VHH11:

i) последовательность CDR1 FTTYRMG (SEQ ID NO: 258) или TYRMG (SEQ ID NO: 259), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69);

ii) последовательность CDR1 GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), последовательность CDR2 RWSGGR (SEQ ID NO: 48) или WSGG (SEQ ID NO: 268) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80) или LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281);

iii) последовательность CDR1 GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), последовательность CDR2 IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91);

iv) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223);

v) последовательность CDR1 TTYRMG (SEQ ID NO: 172), последовательность CDR2 FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234); или

vi) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182), последовательность CDR2 AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245); и

k) VHH12:

i) последовательность CDR1 FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70);

ii) последовательность CDR1 GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), последовательность CDR2 TWNGGS (SEQ ID NO: 49) или WNGG (SEQ ID NO: 269) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81) или RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282);

iii) последовательность CDR1 GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), последовательность CDR2 ITWNGGST (SEQ ID NO: 59) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92);

iv) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224);

v) последовательность CDR1 SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), последовательность CDR2 FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235); или

vi) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183), последовательность CDR2 SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

38. Способ по любому из пп. 1-37, в котором однодоменное антитело содержит каркас, полученный из каркаса любого из однодоменных антител, содержащих

последовательности
QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD
YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),
EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA
TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY
AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 96),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT
YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 97),
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT
TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 98),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH
YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY
DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST
TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 100),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA
GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 101),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT
LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG
YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или
QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG
GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY
WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

39. Способ по любому из пп. 1-37, в котором однодоменное антитело содержит каркас, содержащий последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности
QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD
YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),

EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA
TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY
AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 96),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT
YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 97),
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT
TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 98),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH
YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY
DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST
TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 100),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA
GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 101),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT
LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG
YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или
QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG
GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY
WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

40. Способ по любому из пп. 1-39, в котором однодоменное антитело состоит из последовательности, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности
QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD
YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),
EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA
TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY

AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 96),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT
YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 97),
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT
TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 98),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH
YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY
DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST
TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 100),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA
GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 101),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT
LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG
YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или
QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG
GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY
WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

41. Способ по любому из пп. 1-40, в котором однодоменное антитело генетически слито или химически конъюгировано с агентом.

42. Способ по п. 41, дополнительно включающий линкер между однодоменным антителом и агентом.

43. Способ по п. 42, в котором линкер представляет собой полипептид.

44. Способ по п. 43, в котором линкер представляет собой гибкий линкер, содержащий последовательность, выбранную из группы, состоящей из EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK (SEQ ID NO: 130), (EAAAK)n (SEQ ID NO: 147), (GGGGS)n (SEQ ID NO: 148) и (GGGS)n (SEQ ID NO: 149), где n представляет собой целое число от 1 до 20.

45. Способ по любому из пп. 41-44, в котором однодоменное антитело химически конъюгировано с агентом.

46. Способ по любому из пп. 41-44, в котором однодоменное антитело нековалентно связано с агентом.

47. Способ по любому из пп. 1-46, не ингибирующий опосредованный pIgR трансцитоз IgA.

48. Способ по п. 47, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), INVMG (SEQ ID NO: 6), TYRMG (SEQ ID NO: 7), RYAMG (SEQ ID NO: 8), FTTYRMG (SEQ ID NO: 258), TYRMG (SEQ ID NO: 259), FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), SSNAMG (SEQ ID NO: 166), SINVMG (SEQ ID NO: 169), STYRMG (SEQ ID NO: 170), TRYAMG (SEQ ID NO: 171), TTYRMG (SEQ ID NO: 172), SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182) или GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183).

49. Способ по п. 47 или п. 48, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39), DRIAT (SEQ ID NO: 42), RIA (SEQ ID NO: 262), TGGGS (SEQ ID NO: 45), GGG (SEQ ID NO: 265), SWSGGS (SEQ ID NO: 46), WSGG (SEQ ID NO: 266), SWSGSS (SEQ ID NO: 47), WSGS (SEQ ID NO: 267), RWSGGR (SEQ ID NO: 48), WSGG (SEQ ID NO: 268), TWNGGS (SEQ ID NO: 49), WNGG (SEQ ID NO: 269), IDRIATT (SEQ ID NO: 52), ITGGGST (SEQ ID NO: 55), ISWSGGST (SEQ ID NO: 56), ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57), IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58), ITWNGGST (SEQ ID NO: 59), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193), WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196), LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199), FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200), FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201), FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202), FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203), FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206), RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209), AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210), AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211), AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) или SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213).

50. Способ по любому из пп. 47-49, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66), DQRGY (SEQ ID NO: 67), QRGY (SEQ ID NO: 271), DPFNQGY (SEQ ID NO: 68), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID

NO: 70), PLTAR (SEQ ID NO: 74), LTA (SEQ ID NO: 275), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77), VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278), DQRGY (SEQ ID NO: 78), RG (SEQ ID NO: 279), DPFNQGY (SEQ ID NO: 79), PFNQG (SEQ ID NO: 280), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80), LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81), RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282), NHPLTAR (SEQ ID NO: 85), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88), NDQRGY (SEQ ID NO: 89), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91), AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92), PLTAR (SEQ ID NO: 217), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220), QRGY (SEQ ID NO: 221), DPFNQGY (SEQ ID NO: 222), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224), NHPLTA (SEQ ID NO: 228), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231), NDQRG (SEQ ID NO: 232), AADPFNQG (SEQ ID NO: 233), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234), AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235), PLTAR (SEQ ID NO: 239), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242), QRGY (SEQ ID NO: 243), DPFNQGY (SEQ ID NO: 244), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245) или ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

51. Процесс предоставления молекулы субъекту, включающий введение субъекту молекулы, содержащей агент и однодоменное антитело, которое связывается с рецептором полимерного иммуноглобулина (pIgR), причем молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки.

52. Процесс по п. 51, в котором молекула может быть обеспечена на базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки с апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки в организме субъекта.

53. Процесс по п. 51 или п. 52, в котором молекула может быть обеспечена на апикальной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки с базолатеральной поверхности pIgR-экспрессирующей клетки в организме субъекта.

54. Процесс по любому из пп. 51-53, в котором pIgR-экспрессирующая клетка представляет собой эпителиальную клетку.

55. Процесс по п. 54, в котором эпителиальная клетка представляет собой клетку просвета кишечника или эпителиальную клетку дыхательных путей.

56. Процесс по любому из пп. 51-55, в котором агент представляет собой лекарственное средство для лечения диабета.

57. Процесс по п. 56, в котором лекарственное средство для лечения диабета выбрано из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1, пептидов-миметиков инсулина и пептидов-миметиков глюкагоноподобного пептида-1.

58. Процесс по любому из пп. 51-55, в котором агент представляет собой пептид, или антитело, или его фрагмент.

59. Процесс по п. 58, в котором антитело или его фрагмент выбраны из группы, состоящей из антитела к TNF-альфа или его фрагмента, антитела к IL23 или его фрагмента и антитела, которое связывается с рецептором IL23, или его фрагмента.

60. Процесс по любому из пп. 51-55, в котором агент представляет собой вакцину.

61. Процесс по п. 60, в котором вакцина предназначена для профилактики инфекции, выбранной из группы, состоящей из вибриона, холеры, тифа, ротавируса, туберкулеза, ВИЧ, гриппа, Эболы и Сендай.

62. Процесс по любому из пп. 51-61, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1, внеклеточным доменом 2, внеклеточным доменом 1-2, внеклеточным доменом 3, внеклеточным доменом 2-3, внеклеточным доменом 4-5 или внеклеточным доменом 5 pIgR.

63. Процесс по любому из пп. 51-61, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1 pIgR.

64. Процесс по любому из пп. 51-61, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 2 pIgR.

65. Процесс по любому из пп. 51-61, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1-2 pIgR.

66. Процесс по любому из пп. 51-61, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 3 pIgR.

67. Процесс по любому из пп. 51-61, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 2-3 pIgR.

68. Процесс по любому из пп. 51-61, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 4-5 pIgR.

69. Процесс по любому из пп. 51-61, в котором однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 5 pIgR.

70. Процесс по любому из пп. 51-69, в котором однодоменное антитело конкурирует со связыванием IgA с pIgR.

71. Процесс по любому из пп. 51-69, в котором однодоменное антитело стимулирует связывание IgA с pIgR.

72. Процесс по любому из пп. 51-71, в котором K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет от около 4 до около 525 нМ.

73. Процесс по любому из пп. 51-71, в котором K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет менее около 50 нМ.

74. Процесс по любому из пп. 51-71, в котором K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет от около 4 до около 34 нМ.

75. Процесс по любому из пп. 51-74, в котором T_m однодоменного антитела составляет от около 53 до около 77 °С.

76. Процесс по любому из пп. 51-74, в котором T_m однодоменного антитела составляет от 53,9 до 76,4 °С.

77. Процесс по любому из пп. 51-76, в котором pIgR представляет собой

человеческий pIgR.

78. Процесс по любому из пп. 51-76, в котором pIgR представляет собой мышиный pIgR.

79. Процесс по любому из пп. 51-76, в котором однодоменное антитело не связывается со стволовой последовательностью человеческого pIgR и/или со стволовой последовательностью мышиного pIgR.

80. Процесс по любому из пп. 51-79, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62), PLTAR (SEQ ID NO: 63), DPFNQGY (SEQ ID NO: 64), PLTSR (SEQ ID NO: 65), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66), DQRGY (SEQ ID NO: 67), QRGY (SEQ ID NO: 271), DPFNQGY (SEQ ID NO: 68), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71), SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72), TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73), VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274), PLTAR (SEQ ID NO: 74), LTA (SEQ ID NO: 275), DPFNQGY (SEQ ID NO: 75), PFNQG (SEQ ID NO: 276), PLTSR (SEQ ID NO: 76), LTS (SEQ ID NO: 277), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77), VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278), DQRGY (SEQ ID NO: 78), RG (SEQ ID NO: 279), DPFNQGY (SEQ ID NO: 79), PFNQG (SEQ ID NO: 280), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80), LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81), RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282), CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82), AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283), CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83), AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284), KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84), NHPLTAR (SEQ ID NO: 85), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86), NHPLTSR (SEQ ID NO: 87), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88), NDQRGY (SEQ ID NO: 89), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91), AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216), PLTAR (SEQ ID NO: 217), DPFNQGY (SEQ ID NO: 218), PLTSR (SEQ ID NO: 219), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220), QRGY (SEQ ID NO: 221), DPFNQGY (SEQ ID NO: 222), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224), AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225), AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226), KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227), NHPLTA (SEQ ID NO: 228), AADPFNQG (SEQ ID NO: 229), NHPLTS (SEQ ID NO: 230), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231), NDQRG (SEQ ID NO: 232), AADPFNQG (SEQ ID NO: 233), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234), AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238), PLTAR (SEQ ID NO: 239), DPFNQGY (SEQ ID NO: 240), PLTSR (SEQ ID NO: 241), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242), QRGY (SEQ ID NO: 243), DPFNQGY

(SEQ ID NO: 244), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245) или ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

81. Процесс по любому из пп. 51-80, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39), DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40), WNGRGTY (SEQ ID NO: 260), NGGGI (SEQ ID NO: 41), GGG (SEQ ID NO: 261), DRIAT (SEQ ID NO: 42), RIA (SEQ ID NO: 262), TWNGGT (SEQ ID NO: 43), WNGG (SEQ ID NO: 263), SGGGT (SEQ ID NO: 44), GGG (SEQ ID NO: 264), TGGGS (SEQ ID NO: 45), GGG (SEQ ID NO: 265), SWSGGS (SEQ ID NO: 46), WSGG (SEQ ID NO: 266), SWSGSS (SEQ ID NO: 47), WSGS (SEQ ID NO: 267), RWSGGR (SEQ ID NO: 48), WSGG (SEQ ID NO: 268), TWNGGS (SEQ ID NO: 49), WNGG (SEQ ID NO: 269), IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50), IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270), INGGGIT (SEQ ID NO: 51), IDRIATT (SEQ ID NO: 52), ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53), ISGGGTT (SEQ ID NO: 54), ITGGGST (SEQ ID NO: 55), ISWSGGST (SEQ ID NO: 56), ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57), IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58), ITWNGGST (SEQ ID NO: 59), AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193), FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194), LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195), WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196), FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197), WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198), LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199), FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200), FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201), FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202), FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203), AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204), RINGGGITH (SEQ ID NO: 205), FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206), AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207), FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208), RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209), AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210), AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211), AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) или SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213).

82. Процесс по любому из пп. 51-81, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), INVMG (SEQ ID NO: 2), SNAMG (SEQ ID NO: 3), SYAMG (SEQ ID NO: 4), SDAMG (SEQ ID NO: 5), INVMG (SEQ ID NO: 6), TYRMG (SEQ ID NO: 7), RYAMG (SEQ ID NO: 8), FTTYRMG (SEQ ID NO: 258), TYRMG (SEQ ID NO: 259), FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), GRTFSTY (SEQ ID NO: 16),

GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), SSYRMG (SEQ ID NO: 164), SINVMG (SEQ ID NO: 165), SSNAMG (SEQ ID NO: 166), SSYAMG (SEQ ID NO: 167), SSDAMG (SEQ ID NO: 168), SINVMG (SEQ ID NO: 169), STYRMG (SEQ ID NO: 170), TRYAMG (SEQ ID NO: 171), TTYRMG (SEQ ID NO: 172), SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182) или GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183).

83. Процесс по любому из пп. 51-82, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из:

a) VHH1:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71) или SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82) или AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR 2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236);

b) VHH2:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72) или TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83) или AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237);

c) VHH3:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 2), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62);

ii) последовательность CDR1 GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), последовательность CDR2 NGGGI (SEQ ID NO: 41) или GGG (SEQ ID NO: 261) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73) или VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274);

iii) последовательность CDR1 GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), последовательность CDR2 INGGGIT (SEQ ID NO: 51) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84);

iv) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 165), последовательность CDR2 LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227); или

vi) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), последовательность CDR2 RINGGGITH (SEQ ID NO: 205) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238);

d) VHH4:

i) последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63);

ii) последовательность CDR1 GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), последовательность CDR2 DRIAT (SEQ ID NO: 42) или RIA (SEQ ID NO: 262) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 74) или LTA (SEQ ID NO: 275);

iii) последовательность CDR1 GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), последовательность CDR2 IDRIATT (SEQ ID NO: 52) и последовательность CDR3 NHPLTAR (SEQ ID NO: 85);

iv) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 217);

v) последовательность CDR1 SSNAMG (SEQ ID NO: 166), последовательность CDR2 WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196) и последовательность CDR3 NHPLTA (SEQ ID NO: 228); или

vi) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), последовательность CDR2 FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 239);

e) VHH5:

i) последовательность CDR1 SYAMG (SEQ ID NO: 4), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 64);

ii) последовательность CDR1 GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), последовательность CDR2 TWNGGT (SEQ ID NO: 43) или WNGG (SEQ ID NO: 263) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 75) или PFNQG (SEQ ID NO: 276);

iii) последовательность CDR1 GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), последовательность CDR2 ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86);

iv) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 218);

v) последовательность CDR1 SSYAMG (SEQ ID NO: 167), последовательность CDR2 FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 229); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), последовательность CDR2 AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 240);

f) VHH6:

i) последовательность CDR1 SDAMG (SEQ ID NO: 5), последовательность CDR2

FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 65);

ii) последовательность CDR1 GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), последовательность CDR2 SGGGT (SEQ ID NO: 44) или GGG (SEQ ID NO: 264) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 76) или LTS (SEQ ID NO: 277);

iii) последовательность CDR1 GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), последовательность CDR2 ISGGGTT (SEQ ID NO: 54) и последовательность CDR3 NHPLTSR (SEQ ID NO: 87);

iv) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 219);

v) последовательность CDR1 SSDAMG (SEQ ID NO: 168), последовательность CDR2 WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198) и последовательность CDR3 NHPLTS (SEQ ID NO: 230); или

vi) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), последовательность CDR2 FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 241);

g) VHH7:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 6), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66);

ii) последовательность CDR1 RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), последовательность CDR2 TGGGS (SEQ ID NO: 45) или GGG (SEQ ID NO: 265) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77) или VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278);

iii) последовательность CDR1 RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), последовательность CDR2 ITGGGST (SEQ ID NO: 55) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88);

iv) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 169), последовательность CDR2 LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231); или

vi) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), последовательность CDR2 RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242);

h) VHH9:

i) последовательность CDR1 TYRMG (SEQ ID NO: 7), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID

NO: 67) или QRGY (SEQ ID NO: 271);

ii) последовательность CDR1 GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), последовательность CDR2 SWSGGS (SEQ ID NO: 46) или WSGG (SEQ ID NO: 266) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 78) или RG (SEQ ID NO: 279);

iii) последовательность CDR1 GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), последовательность CDR2 ISWSGGST (SEQ ID NO: 56) и последовательность CDR3 NDQRGY (SEQ ID NO: 89);

iv) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 221);

v) последовательность CDR1 STYRMG (SEQ ID NO: 170), последовательность CDR2 FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200) и последовательность CDR3 NDQRG (SEQ ID NO: 232); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), последовательность CDR2 AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 243);

i) VHH10:

i) последовательность CDR1 RYAMG (SEQ ID NO: 8), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 68);

ii) последовательность CDR1 GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), последовательность CDR2 SWSGSS (SEQ ID NO: 47) или WSGS (SEQ ID NO: 267) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 79) или PFNQG (SEQ ID NO: 280);

iii) последовательность CDR1 GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), последовательность CDR2 ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90);

iv) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 222);

v) последовательность CDR1 TRYAMG (SEQ ID NO: 171), последовательность CDR2 FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 233); или

vi) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), последовательность CDR2 AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 244);

j) VHH11:

i) последовательность CDR1 FTTYRMG (SEQ ID NO: 258) или TYRMG (SEQ ID NO: 259), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69);

ii) последовательность CDR1 GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), последовательность

CDR2 RWSGGR (SEQ ID NO: 48) или WSGG (SEQ ID NO: 268) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80) или LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281);

iii) последовательность CDR1 GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), последовательность CDR2 IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91);

iv) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223);

v) последовательность CDR1 TTYRMG (SEQ ID NO: 172), последовательность CDR2 FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234); или

vi) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182), последовательность CDR2 AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245); и

k) VHH12:

i) последовательность CDR1 FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70);

ii) последовательность CDR1 GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), последовательность CDR2 TWNGGS (SEQ ID NO: 49) или WNGG (SEQ ID NO: 269) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81) или RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282);

iii) последовательность CDR1 GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), последовательность CDR2 ITWNGGST (SEQ ID NO: 59) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92);

iv) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224);

v) последовательность CDR1 SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), последовательность CDR2 FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235); или

vi) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183), последовательность CDR2 SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

84. Процесс по любому из пп. 51-83, в котором однодоменное антитело содержит каркас, полученный из каркаса любого из однодоменных антител, содержащих последовательности

QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),

EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA
TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY
AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 96),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT
YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 97),
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT
TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 98),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH
YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY
DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST
TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 100),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA
GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 101),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT
LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG
YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или
QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG
GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY
WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

85. Процесс по любому из пп. 51-83, в котором однодоменное антитело содержит каркас, содержащий последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD
YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),
EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA
TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY

AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 96),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT
YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 97),
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT
TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 98),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH
YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY
DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST
TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 100),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA
GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 101),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT
LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG
YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или
QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG
GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY
WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

86. Процесс по любому из пп. 51-85, в котором однодоменное антитело состоит из последовательности, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности
QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD
YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),
EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA
TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY
AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS

(SEQ ID NO: 96), QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 97), EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 98), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99), QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 100), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS S (SEQ ID NO: 101), EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

87. Процесс по любому из пп. 51-86, в котором однодоменное антитело генетически слито или химически конъюгировано с агентом.

88. Процесс по п. 87, дополнительно включающий линкер между однодоменным антителом и агентом.

89. Процесс по п. 88, в котором линкер представляет собой полипептид.

90. Процесс по п. 89, в котором линкер представляет собой гибкий линкер, содержащий последовательность, выбранную из группы, состоящей из EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK (SEQ ID NO: 130), (EAAAK)n (SEQ ID NO: 147), (GGGGS)n (SEQ ID NO: 148) и (GGGS)n (SEQ ID NO: 149), где n представляет собой целое число от 1 до 20.

91. Процесс по любому из пп. 87-90, в котором однодоменное антитело химически конъюгировано с агентом.

92. Процесс по любому из пп. 87-90, в котором однодоменное антитело нековалентно связано с агентом.

93. Процесс по любому из пп. 51-92, не ингибирующий опосредованный pIgR трансцитоз IgA.

94. Процесс по п. 93, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), INVMG (SEQ ID NO: 6), TYRMG

(SEQ ID NO: 7), RYAMG (SEQ ID NO: 8), FTTYRMG (SEQ ID NO: 258), TYRMG (SEQ ID NO: 259), FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), SSNAMG (SEQ ID NO: 166), SINVMG (SEQ ID NO: 169), STYRMG (SEQ ID NO: 170), TRYAMG (SEQ ID NO: 171), TTYRMG (SEQ ID NO: 172), SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182) или GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183).

95. Процесс по п. 93 или п. 94, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39), DRIAT (SEQ ID NO: 42), RIA (SEQ ID NO: 262), TGGGS (SEQ ID NO: 45), GGG (SEQ ID NO: 265), SWSGGS (SEQ ID NO: 46), WSGG (SEQ ID NO: 266), SWSGSS (SEQ ID NO: 47), WSGS (SEQ ID NO: 267), RWSGGR (SEQ ID NO: 48), WSGG (SEQ ID NO: 268), TWNGGS (SEQ ID NO: 49), WNGG (SEQ ID NO: 269), IDRIATT (SEQ ID NO: 52), ITGGGST (SEQ ID NO: 55), ISWSGGST (SEQ ID NO: 56), ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57), IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58), ITWNGGST (SEQ ID NO: 59), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193), WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196), LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199), FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200), FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201), FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202), FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203), FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206), RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209), AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210), AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211), AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212), SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213).

96. Процесс по любому из пп. 93-95, в котором однодоменное антитело содержит последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66), DQRGY (SEQ ID NO: 67), QRGY (SEQ ID NO: 271), DPFNQGY (SEQ ID NO: 68), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70), PLTAR (SEQ ID NO: 74), LTA (SEQ ID NO: 275), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77), VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278), DQRGY (SEQ ID NO: 78), RG (SEQ ID NO: 279), DPFNQGY (SEQ ID NO: 79), PFNQG (SEQ ID NO: 280), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80),

LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81), RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282), NHPLTAR (SEQ ID NO: 85), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88), NDQRGY (SEQ ID NO: 89), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91), AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92), PLTAR (SEQ ID NO: 217), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220), QRGY (SEQ ID NO: 221), DPFNQGY (SEQ ID NO: 222), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224), NHPLTA (SEQ ID NO: 228), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231), NDQRG (SEQ ID NO: 232), AADPFNQG (SEQ ID NO: 233), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234), AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235), PLTAR (SEQ ID NO: 239), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242), QRGY (SEQ ID NO: 243), DPFNQGY (SEQ ID NO: 244), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245) или ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

97. Процесс, включающий стадии предоставления молекулы субъекту.

98. Процесс по п. 97, в котором молекула содержит агент и однодоменное антитело, которое связывается с pIgR.

99. Процесс по п. 98, в котором агент представляет собой антитело или его фрагмент, пептид, вакцину, малую молекулу, полинуклеотид, радиоизотоп, токсин, фермент, антикоагулянт, гормон, цитокин, противовоспалительную молекулу, РНКи, антибиотик или конъюгат антитело-антибиотик.

100. Процесс по любому из пп. 97-99, в котором агент представляет собой антитело или его фрагмент, пептид или вакцину.

101. Процесс по любому из пп. 98-100, в котором однодоменное антитело генетически слито или химически конъюгировано с агентом.

102. Система введения молекулы в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника субъекта, содержащая молекулу, приемлемую для введения субъекту, причем молекула содержит агент и однодоменное антитело, которое связывается с pIgR, при этом молекулу вводят субъекту посредством пероральной доставки, буккальной доставки, назальной доставки или ингаляционной доставки, или их комбинации.

103. Система по п. 102, в которой агент представляет собой лекарственное средство для лечения диабета.

104. Система по п. 103, в которой лекарственное средство для лечения диабета выбрано из группы, состоящей из инсулина, глюкагоноподобного пептида-1, пептидов-миметиков инсулина и пептидов-миметиков глюкагоноподобного пептида-1.

105. Система по п. 102, в которой агент представляет собой пептид, или антитело, или его фрагмент.

106. Система по п. 105, в которой антитело или его фрагмент выбраны из группы, состоящей из антитела к TNF-альфа или его фрагмента, антитела к IL23 или его фрагмента и антитела, которое связывается с рецептором IL23, или его фрагмента.

107. Система по п. 102, в которой агент представляет собой вакцину.

108. Система по п. 107, в которой вакцина предназначена для профилактики инфекции, выбранной из группы, состоящей из вибриона, холеры, тифа, ротавируса, туберкулеза, ВИЧ, гриппа, Эболы и Сендай.

109. Система по любому из пп. 102-108, в которой однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1, внеклеточным доменом 2, внеклеточным доменом 1-2, внеклеточным доменом 3, внеклеточным доменом 2-3, внеклеточным доменом 4-5 или внеклеточным доменом 5 pIgR.

110. Система по любому из пп. 102-108, в которой однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1 pIgR.

111. Система по любому из пп. 102-108, в которой однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 2 pIgR.

112. Система по любому из пп. 102-108, в которой однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 1-2 pIgR.

113. Система по любому из пп. 102-108, в которой однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 3 pIgR.

114. Система по любому из пп. 102-108, в которой однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 2-3 pIgR.

115. Система по любому из пп. 102-108, в которой однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 4-5 pIgR.

116. Система по любому из пп. 102-108, в которой однодоменное антитело связывается с внеклеточным доменом 5 pIgR.

117. Система по любому из пп. 102-116, в которой однодоменное антитело конкурирует со связыванием IgA с pIgR.

118. Система по любому из пп. 102-116, в которой однодоменное антитело стимулирует связывание IgA с pIgR.

119. Система по любому из пп. 102-118, в которой K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет от около 4 до около 525 нМ.

120. Система по любому из пп. 102-118, в которой K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет менее около 50 нМ.

121. Система по любому из пп. 102-118, в которой K_D связывания однодоменного антитела с pIgR составляет от около 4 до около 34 нМ.

122. Система по любому из пп. 102-121, в которой T_m однодоменного антитела составляет от около 53 до около 77 °C.

123. Система по любому из пп. 102-121, в которой T_m однодоменного антитела составляет от 53,9 до 76,4 °C.

124. Система по любому из пп. 102-123, в которой pIgR представляет собой человеческий pIgR.

125. Система по любому из пп. 102-123, в которой pIgR представляет собой мышиный pIgR.

126. Система по любому из пп. 102-123, в которой однодоменное антитело не связывается со стволовой последовательностью человеческого pIgR и/или со стволовой последовательностью мышиного pIgR.

127. Система по любому из пп. 102-126, в которой однодоменное антитело содержит последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62), PLTAR (SEQ ID NO: 63), DPFNQGY (SEQ ID NO: 64), PLTSR (SEQ ID NO: 65), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66), DQRGY (SEQ ID NO: 67), QRGY (SEQ ID NO: 271), DPFNQGY (SEQ ID NO: 68), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71), SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72), TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73), VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274), PLTAR (SEQ ID NO: 74), LTA (SEQ ID NO: 275), DPFNQGY (SEQ ID NO: 75), PFNQG (SEQ ID NO: 276), PLTSR (SEQ ID NO: 76), LTS (SEQ ID NO: 277), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77), VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278), DQRGY (SEQ ID NO: 78), RG (SEQ ID NO: 279), DPFNQGY (SEQ ID NO: 79), PFNQG (SEQ ID NO: 280), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80), LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81), RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282), CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82), AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283), CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83), AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284), KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84), NHPLTAR (SEQ ID NO: 85), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86), NHPLTSR (SEQ ID NO: 87), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88), NDQRGY (SEQ ID NO: 89), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91), AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216), PLTAR (SEQ ID NO: 217), DPFNQGY (SEQ ID NO: 218), PLTSR (SEQ ID NO: 219), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220), QRGY (SEQ ID NO: 221), DPFNQGY (SEQ ID NO: 222), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224), AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225), AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226), KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227), NHPLTA (SEQ ID NO: 228), AADPFNQG (SEQ ID NO: 229), NHPLTS (SEQ ID NO: 230), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231), NDQRG (SEQ ID NO: 232), AADPFNQG (SEQ ID NO: 233), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234), AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235), GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236), TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237), DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238), PLTAR (SEQ ID NO: 239), DPFNQGY (SEQ ID NO: 240), PLTSR (SEQ ID NO: 241), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242), QRGY (SEQ ID NO: 243), DPFNQGY (SEQ ID NO: 244), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245) или ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

128. Система по любому из пп. 102-127, в которой однодоменное антитело содержит последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39), DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40), WNGRGTY (SEQ ID NO: 260), NGGGI (SEQ ID NO: 41), GGG (SEQ ID NO: 261), DRIAT (SEQ ID NO: 42), RIA (SEQ ID NO: 262), TWNGGT (SEQ ID NO: 43), WNGG (SEQ ID NO: 263), SGGGT (SEQ ID NO: 44), GGG (SEQ ID NO: 264), TGGGS (SEQ ID NO: 45), GGG (SEQ ID NO: 265), SWSGGS (SEQ ID NO: 46), WSGG (SEQ ID NO: 266), SWSGSS (SEQ ID NO: 47), WSGS (SEQ ID NO: 267), RWSGGR (SEQ ID NO: 48), WSGG (SEQ ID NO: 268), TWNGGS (SEQ ID NO: 49), WNGG (SEQ ID NO: 269), IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50), IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270), INGGGIT (SEQ ID NO: 51), IDRIATT (SEQ ID NO: 52), ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53), ISGGGTT (SEQ ID NO: 54), ITGGGST (SEQ ID NO: 55), ISWSGGST (SEQ ID NO: 56), ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57), IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58), ITWNGGST (SEQ ID NO: 59), AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184), RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186), AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187), FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193), FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194), LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195), WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196), FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197), WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198), LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199), FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200), FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201), FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202), FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203), AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204), RINGGGITH (SEQ ID NO: 205), FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206), AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207), FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208), RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209), AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210), AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211), AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) или SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213).

129. Система по любому из пп. 102-128, в которой однодоменное антитело содержит последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), INVMG (SEQ ID NO: 2), SNAMG (SEQ ID NO: 3), SYAMG (SEQ ID NO: 4), SDAMG (SEQ ID NO: 5), INVMG (SEQ ID NO: 6), TYRMG (SEQ ID NO: 7), RYAMG (SEQ ID NO: 8), FTTYRMG (SEQ ID NO: 258), TYRMG (SEQ ID NO: 259), FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22),

GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), SSYRMG (SEQ ID NO: 164), SINVMG (SEQ ID NO: 165), SSNAMG (SEQ ID NO: 166), SSYAMG (SEQ ID NO: 167), SSDAMG (SEQ ID NO: 168), SINVMG (SEQ ID NO: 169), STYRMG (SEQ ID NO: 170), TRYAMG (SEQ ID NO: 171), TTYRMG (SEQ ID NO: 172), SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182) или GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183).

130. Система по любому из пп. 102-129, в которой однодоменное антитело содержит последовательность CDR1, последовательность CDR2 и последовательность CDR3 однодоменного антитела, выбранные из группы, состоящей из:

a) VHH1:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 60);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 71) или SIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 272);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 82) или AAGSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 283);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR 2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 214);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AAGSIDLNWYGGMD (SEQ ID NO: 225); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 GSIDLNWYGGMDY (SEQ ID NO: 236);

b) VHH2:

i) последовательность CDR1 SYRMG (SEQ ID NO: 1), последовательность CDR2

AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 30) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 61);

ii) последовательность CDR1 GLTFSSY (SEQ ID NO: 10), последовательность CDR2 DWNGRGTYY (SEQ ID NO: 40) или WNGRGTY (SEQ ID NO: 260) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 72) или TVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 273);

iii) последовательность CDR1 GLTFSSYR (SEQ ID NO: 20), последовательность CDR2 IDWNGRGTYY (SEQ ID NO: 50) или IDWNGRGTYYR (SEQ ID NO: 270) и последовательность CDR3 CAATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 83) или AATTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 284);

iv) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 154), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRYYADSVKG (SEQ ID NO: 184) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 215);

v) последовательность CDR1 SSYRMG (SEQ ID NO: 164), последовательность CDR2 FVAAIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 194) и последовательность CDR3 AATTVLTDPRVLNEYA (SEQ ID NO: 226); или

vi) последовательность CDR1 GLTFSSYRMG (SEQ ID NO: 174), последовательность CDR2 AIDWNGRGTYYRY (SEQ ID NO: 204) и последовательность CDR3 TTVLTDPRVLNEYAT (SEQ ID NO: 237);

c) VHH3:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 2), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 31) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 62);

ii) последовательность CDR1 GSIFSIN (SEQ ID NO: 11), последовательность CDR2 NGGGI (SEQ ID NO: 41) или GGG (SEQ ID NO: 261) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 73) или VFGSSGYVET (SEQ ID NO: 274);

iii) последовательность CDR1 GSIFSINV (SEQ ID NO: 21), последовательность CDR2 INGGGIT (SEQ ID NO: 51) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 84);

iv) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 155), последовательность CDR2 RINGGGITHYAESVKG (SEQ ID NO: 185) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 216);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 165), последовательность CDR2 LVARINGGGITH (SEQ ID NO: 195) и последовательность CDR3 KADVFGSSGYVET (SEQ ID NO: 227); или

vi) последовательность CDR1 GSIFSINVMG (SEQ ID NO: 175), последовательность CDR2 RINGGGITH (SEQ ID NO: 205) и последовательность CDR3 DVFGSSGYVETY (SEQ ID NO: 238);

d) VHH4:

i) последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), последовательность CDR2

FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63);

ii) последовательность CDR1 GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), последовательность CDR2 DRIAT (SEQ ID NO: 42) или RIA (SEQ ID NO: 262) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 74) или LTA (SEQ ID NO: 275);

iii) последовательность CDR1 GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), последовательность CDR2 IDRIATT (SEQ ID NO: 52) и последовательность CDR3 NHPLTAR (SEQ ID NO: 85);

iv) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 217);

v) последовательность CDR1 SSNAMG (SEQ ID NO: 166), последовательность CDR2 WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196) и последовательность CDR3 NHPLTA (SEQ ID NO: 228); или

vi) последовательность CDR1 GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), последовательность CDR2 FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206) и последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 239);

e) VHH5:

i) последовательность CDR1 SYAMG (SEQ ID NO: 4), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 33) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 64);

ii) последовательность CDR1 GRTFSSY (SEQ ID NO: 13), последовательность CDR2 TWNGGT (SEQ ID NO: 43) или WNGG (SEQ ID NO: 263) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 75) или PFNQG (SEQ ID NO: 276);

iii) последовательность CDR1 GRTFSSYA (SEQ ID NO: 23), последовательность CDR2 ITWNGGTT (SEQ ID NO: 53) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 86);

iv) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 157), последовательность CDR2 AITWNGGTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 187) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 218);

v) последовательность CDR1 SSYAMG (SEQ ID NO: 167), последовательность CDR2 FVAAITWNGGTTY (SEQ ID NO: 197) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 229); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSSYAMG (SEQ ID NO: 177), последовательность CDR2 AITWNGGTTY (SEQ ID NO: 207) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 240);

f) VHH6:

i) последовательность CDR1 SDAMG (SEQ ID NO: 5), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 34) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 65);

ii) последовательность CDR1 GSSVSSD (SEQ ID NO: 14), последовательность CDR2 SGGGT (SEQ ID NO: 44) или GGG (SEQ ID NO: 264) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 76) или LTS (SEQ ID NO: 277);

iii) последовательность CDR1 GSSVSSDA (SEQ ID NO: 24), последовательность CDR2 ISGGGTT (SEQ ID NO: 54) и последовательность CDR3 NHPLTSR (SEQ ID NO: 87);

iv) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 158), последовательность CDR2 FISGGGTTTYADSVKG (SEQ ID NO: 188) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 219);

v) последовательность CDR1 SSDAMG (SEQ ID NO: 168), последовательность CDR2 WVAFISGGGTTT (SEQ ID NO: 198) и последовательность CDR3 NHPLTS (SEQ ID NO: 230); или

vi) последовательность CDR1 GSSVSSDAMG (SEQ ID NO: 178), последовательность CDR2 FISGGGTTT (SEQ ID NO: 208) и последовательность CDR3 PLTSR (SEQ ID NO: 241);

g) VHH7:

i) последовательность CDR1 INVMG (SEQ ID NO: 6), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66);

ii) последовательность CDR1 RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), последовательность CDR2 TGGGS (SEQ ID NO: 45) или GGG (SEQ ID NO: 265) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77) или VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278);

iii) последовательность CDR1 RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), последовательность CDR2 ITGGGST (SEQ ID NO: 55) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88);

iv) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), последовательность CDR2 RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220);

v) последовательность CDR1 SINVMG (SEQ ID NO: 169), последовательность CDR2 LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199) и последовательность CDR3 ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231); или

vi) последовательность CDR1 RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), последовательность CDR2 RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209) и последовательность CDR3 MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242);

h) VHH9:

i) последовательность CDR1 TYRMG (SEQ ID NO: 7), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 67) или QRGY (SEQ ID NO: 271);

ii) последовательность CDR1 GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), последовательность

CDR2 SWSGGS (SEQ ID NO: 46) или WSGG (SEQ ID NO: 266) и последовательность CDR3 DQRGY (SEQ ID NO: 78) или RG (SEQ ID NO: 279);

iii) последовательность CDR1 GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), последовательность CDR2 ISWSGGST (SEQ ID NO: 56) и последовательность CDR3 NDQRGY (SEQ ID NO: 89);

iv) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), последовательность CDR2 AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 221);

v) последовательность CDR1 STYRMG (SEQ ID NO: 170), последовательность CDR2 FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200) и последовательность CDR3 NDQRG (SEQ ID NO: 232); или

vi) последовательность CDR1 GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), последовательность CDR2 AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210) и последовательность CDR3 QRGY (SEQ ID NO: 243);

i) VHH10:

i) последовательность CDR1 RYAMG (SEQ ID NO: 8), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 68);

ii) последовательность CDR1 GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), последовательность CDR2 SWSGSS (SEQ ID NO: 47) или WSGS (SEQ ID NO: 267) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 79) или PFNQG (SEQ ID NO: 280);

iii) последовательность CDR1 GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), последовательность CDR2 ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57) и последовательность CDR3 AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90);

iv) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), последовательность CDR2 AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 222);

v) последовательность CDR1 TRYAMG (SEQ ID NO: 171), последовательность CDR2 FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201) и последовательность CDR3 AADPFNQG (SEQ ID NO: 233); или

vi) последовательность CDR1 GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), последовательность CDR2 AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211) и последовательность CDR3 DPFNQGY (SEQ ID NO: 244);

j) VHH11:

i) последовательность CDR1 FTTYRMG (SEQ ID NO: 258) или TYRMG (SEQ ID NO: 259), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69);

ii) последовательность CDR1 GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), последовательность CDR2 RWSGGR (SEQ ID NO: 48) или WSGG (SEQ ID NO: 268) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80) или LAEYSGTYSSPADSPAGYD

(SEQ ID NO: 281);

iii) последовательность CDR1 GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), последовательность CDR2 IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91);

iv) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), последовательность CDR2 AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223);

v) последовательность CDR1 TTYRMG (SEQ ID NO: 172), последовательность CDR2 FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202) и последовательность CDR3 AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234); или

vi) последовательность CDR1 GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182), последовательность CDR2 AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212) и последовательность CDR3 DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245); и

k) VHH12:

i) последовательность CDR1 FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70);

ii) последовательность CDR1 GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), последовательность CDR2 TWNGGS (SEQ ID NO: 49) или WNGG (SEQ ID NO: 269) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81) или RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282);

iii) последовательность CDR1 GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), последовательность CDR2 ITWNGGST (SEQ ID NO: 59) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92);

iv) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), последовательность CDR2 SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224);

v) последовательность CDR1 SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), последовательность CDR2 FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203) и последовательность CDR3 AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235); или

vi) последовательность CDR1 GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183), последовательность CDR2 SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213) и последовательность CDR3 ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

131. Система по любому из пп. 102-130, в которой однодоменное антитело содержит каркас, полученный из каркаса любого из однодоменных антител, содержащих последовательности
QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD
YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),
EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA

TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY
AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 96),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT
YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 97),
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT
TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 98),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH
YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY
DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST
TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 100),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA
GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 101),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT
LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG
YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или
QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG
GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY
WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

132. Система по любому из пп. 102-130, в которой однодоменное антитело содержит каркас, содержащий последовательность, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности
QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD
YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),
EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA
TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY
AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),

EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 96),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT
YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 97),
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT
TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 98),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH
YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY
DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST
TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 100),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA
GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 101),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT
LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG
YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или
QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG
GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY
WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

133. Система по любому из пп. 102-132, в которой однодоменное антитело состоит из последовательности, которая на по меньшей мере 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична последовательности
QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLNWYGGMD
YWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 93),
EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRG
TYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLNEYA
TWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 94),
QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGITHY
AESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADVFGSSGYVETYWGQGTQV
TVSS (SEQ ID NO: 95),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTSVSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIATTT
IATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCNHPLTARWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 96),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGGTT

YYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 97),
EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSSVSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGTT
TYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPLTSRWGQGTQVTVSS
(SEQ ID NO: 98),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSIGSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGSTH
YAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDY
DYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 99),
QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRTFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGGST
TYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQRGYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 100),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGSSA
GYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQGYWGQGTQVTVS
S (SEQ ID NO: 101),
EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGGRT
LYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPAG
YDYWGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 102) или
QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNG
GSTSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPANY
WGQGTQVTVSS (SEQ ID NO: 103).

134. Система по любому из пп. 102-133, в которой однодоменное антитело генетически слито или химически конъюгировано с агентом.

135. Система по п. 134, дополнительно содержащая линкер между однодоменным антителом и агентом.

136. Система по п. 135, в которой линкер представляет собой полипептид.

137. Система по п. 136, в которой линкер представляет собой гибкий линкер, содержащий последовательность, выбранную из группы, состоящей из EPKTPKPQPQPQLQPQPNPTTESKSPK (SEQ ID NO: 130), (EAAAK)n (SEQ ID NO: 147), (GGGGS)n (SEQ ID NO: 147) и (GGGS)n (SEQ ID NO: 149), где n представляет собой целое число от 1 до 20.

138. Система по любому из пп. 134-137, в которой однодоменное антитело химически конъюгировано с агентом.

139. Система по любому из пп. 134-137, в которой однодоменное антитело нековалентно связано с агентом.

140. Система по любому из пп. 102-139, не ингибирующая опосредованный pIgR трансцитоз IgA.

141. Система по п. 140, в которой однодоменное антитело содержит последовательность CDR1 SNAMG (SEQ ID NO: 3), INVMG (SEQ ID NO: 6), TYRMG (SEQ ID NO: 7), RYAMG (SEQ ID NO: 8), FTTYRMG (SEQ ID NO: 258), TYRMG (SEQ ID NO: 259), FNTYAMG (SEQ ID NO: 9), GTSVSSN (SEQ ID NO: 12), GRTFSSY (SEQ ID

NO: 13), RSIGSIN (SEQ ID NO: 15), GRTFSTY (SEQ ID NO: 16), GFTFTRY (SEQ ID NO: 17), GRTFTTY (SEQ ID NO: 18), GRTLSFNTY (SEQ ID NO: 19), GTSVSSNA (SEQ ID NO: 22), RSIGSINV (SEQ ID NO: 25), GRTFSTYR (SEQ ID NO: 26), GFTFTRYA (SEQ ID NO: 27), GRTFTTYR (SEQ ID NO: 28), GRTLSFNTYA (SEQ ID NO: 29), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 156), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 159), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 160), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 161), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 162), GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 163), SSNAMG (SEQ ID NO: 166), SINVMG (SEQ ID NO: 169), STYRMG (SEQ ID NO: 170), TRYAMG (SEQ ID NO: 171), TTYRMG (SEQ ID NO: 172), SFNTYAMG (SEQ ID NO: 173), GTSVSSNAMG (SEQ ID NO: 176), RSIGSINVMG (SEQ ID NO: 179), GRTFSTYRMG (SEQ ID NO: 180), GFTFTRYAMG (SEQ ID NO: 181), GRTFTTYRMG (SEQ ID NO: 182) или GRTLSFNTYAMG (SEQ ID NO: 183).

142. Система по п. 140 или п. 141, в которой однодоменное антитело содержит последовательность CDR2 FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 32), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 35), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 36), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 37), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 38), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 39), DRIAT (SEQ ID NO: 42), RIA (SEQ ID NO: 262), TGGGS (SEQ ID NO: 45), GGG (SEQ ID NO: 265), SWSGGS (SEQ ID NO: 46), WSGG (SEQ ID NO: 266), SWSGSS (SEQ ID NO: 47), WSGS (SEQ ID NO: 267), RWSGGR (SEQ ID NO: 48), WSGG (SEQ ID NO: 268), TWNGGS (SEQ ID NO: 49), WNGG (SEQ ID NO: 269), IDRIATT (SEQ ID NO: 52), ITGGGST (SEQ ID NO: 55), ISWSGGST (SEQ ID NO: 56), ISWSGSSA (SEQ ID NO: 57), IRWSGGRT (SEQ ID NO: 58), ITWNGGST (SEQ ID NO: 59), FIDRIATTTIATSVKG (SEQ ID NO: 186), RITGGGSTHYAESVKG (SEQ ID NO: 189), AISWSGGSTTYADPVKG (SEQ ID NO: 190), AISWSGSSAGYGDSVKG (SEQ ID NO: 191), AIRWSGGRTLYADSVKG (SEQ ID NO: 192), SITWNGGSTSYADSVKG (SEQ ID NO: 193), WVGFIDRIATTT (SEQ ID NO: 196), LVARITGGGSTH (SEQ ID NO: 199), FVAAISWSGGSTT (SEQ ID NO: 200), FVAAISWSGSSAG (SEQ ID NO: 201), FVAAIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 202), FVASITWNGGSTS (SEQ ID NO: 203), FIDRIATTT (SEQ ID NO: 206), RITGGGSTH (SEQ ID NO: 209), AISWSGGSTT (SEQ ID NO: 210), AISWSGSSAG (SEQ ID NO: 211), AIRWSGGRTL (SEQ ID NO: 212), SITWNGGSTS (SEQ ID NO: 213).

143. Система по любому из пп. 140-142, в которой однодоменное антитело содержит последовательность CDR3 PLTAR (SEQ ID NO: 63), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 66), DQRGY (SEQ ID NO: 67), QRGY (SEQ ID NO: 271), DPFNQGY (SEQ ID NO: 68), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 69), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 70), PLTAR (SEQ ID NO: 74), LTA (SEQ ID NO: 275), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 77), VNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 278), DQRGY (SEQ ID NO: 78), RG (SEQ ID NO: 279), DPFNQGY (SEQ ID NO: 79), PFNQG (SEQ ID NO: 280), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 80), LAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 281), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 81), RYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 282), NHPLTAR (SEQ ID NO: 85),

ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 88), NDQRGY (SEQ ID NO: 89), AADPFNQGY (SEQ ID NO: 90), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 91), AAARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 92), PLTAR (SEQ ID NO: 217), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 220), QRGY (SEQ ID NO: 221), DPFNQGY (SEQ ID NO: 222), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 223), ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 224), NHPLTA (SEQ ID NO: 228), ASMVNPIITAWGTIGVREIPDYD (SEQ ID NO: 231), NDQRG (SEQ ID NO: 232), AADPFNQG (SEQ ID NO: 233), AADLAEYSGTYSSPADSPAGYD (SEQ ID NO: 234), AAARYYVSGTYFPAN (SEQ ID NO: 235), PLTAR (SEQ ID NO: 239), MVNPIITAWGTIGVREIPDYDY (SEQ ID NO: 242), QRGY (SEQ ID NO: 243), DPFNQGY (SEQ ID NO: 244), DLAEYSGTYSSPADSPAGYDY (SEQ ID NO: 245) или ARYYVSGTYFPANY (SEQ ID NO: 246).

144. Система, содержащая средство введения молекулы в собственную пластинку слизистой оболочки кишечника субъекта.

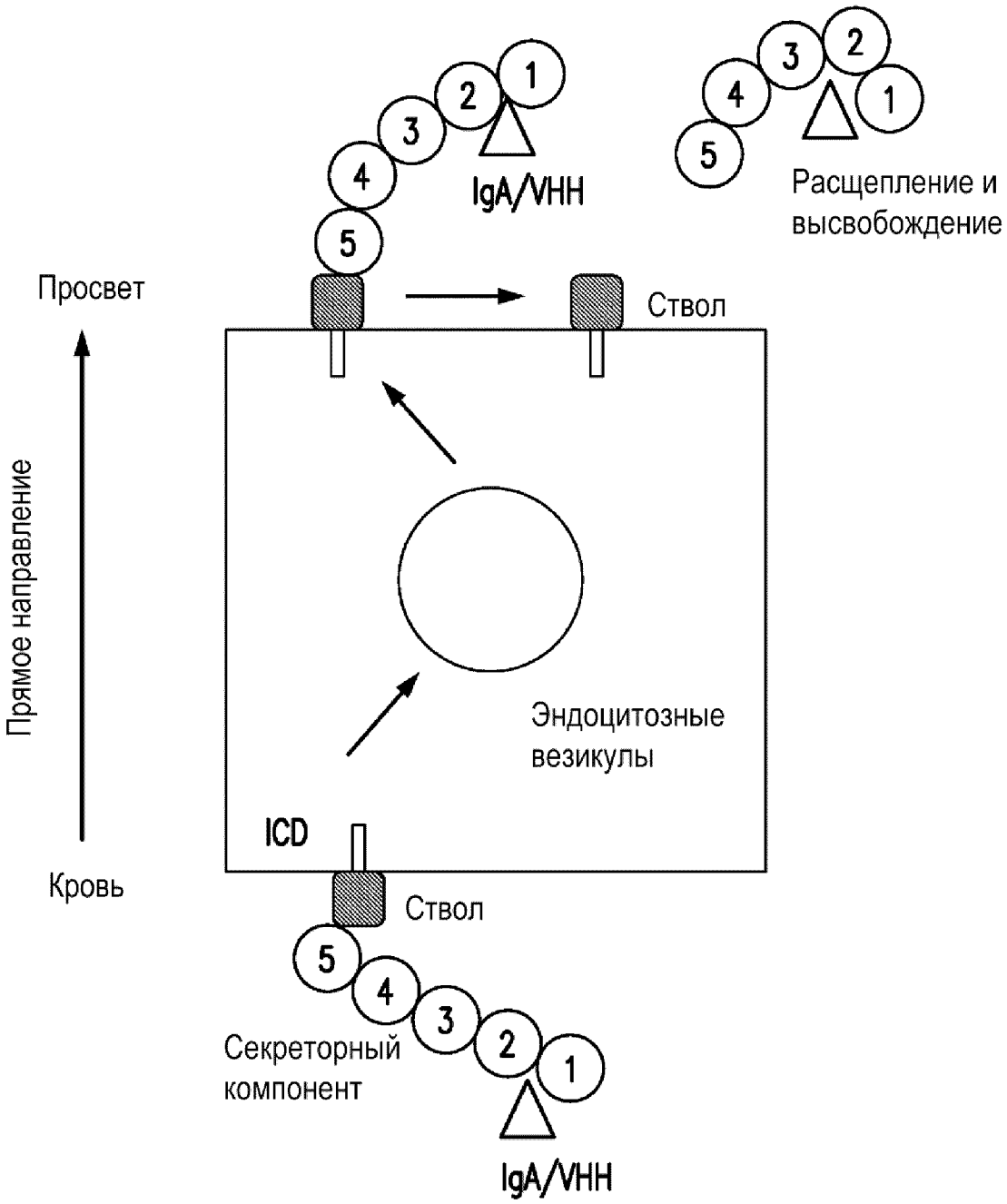
145. Система по п. 144, в которой молекула содержит агент и однодоменное антитело, которое связывается с pIgR.

146. Система по п. 145, в которой агент представляет собой антитело или его фрагмент, пептид, вакцину, малую молекулу, полинуклеотид, радиоизотоп, токсин, фермент, антикоагулянт, гормон, цитокин, противовоспалительную молекулу, РНКи, антибиотик или конъюгат антитело-антибиотик.

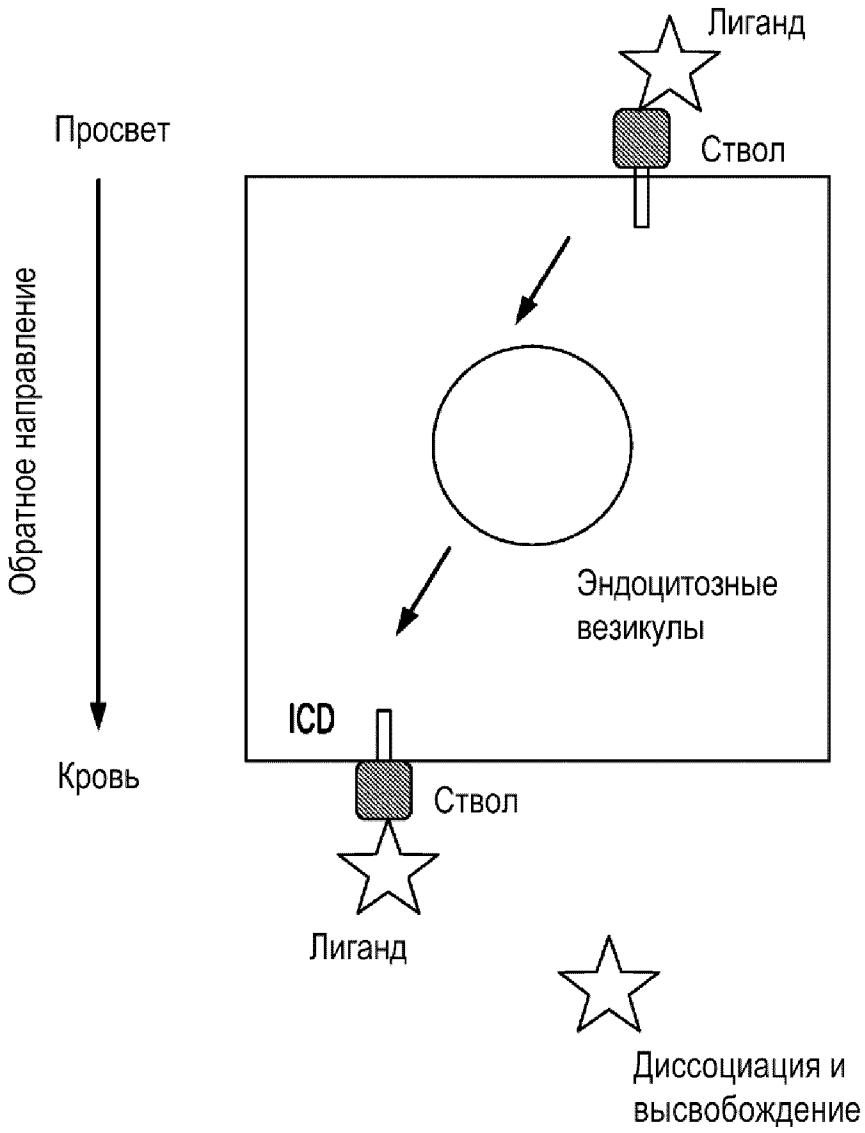
147. Система по любому из пп. 144-146, в которой агент представляет собой антитело или его фрагмент, пептид или вакцину.

148. Система по любому из пп. 145-147, в которой однодоменное антитело генетически слито или химически конъюгировано с агентом.

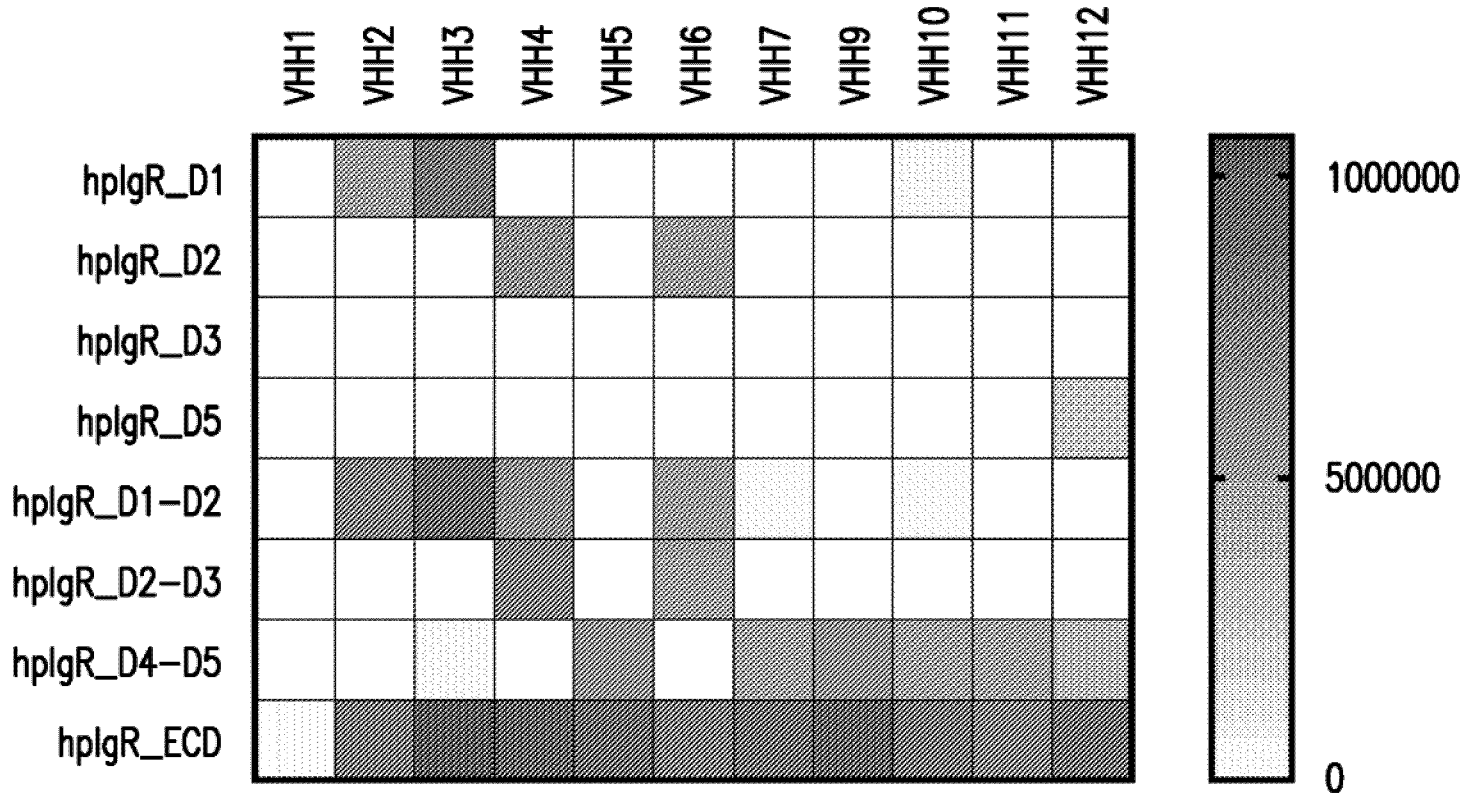
По доверенности


1
2
3
4
5
IgA/VHH
Расщепление и
высвобождение
Просвет
Ствол
Прямое направление
Эндоцитозные
везикулы
ICD
Кровь
Ствол
Секреторный
компонент
IgA/VHH

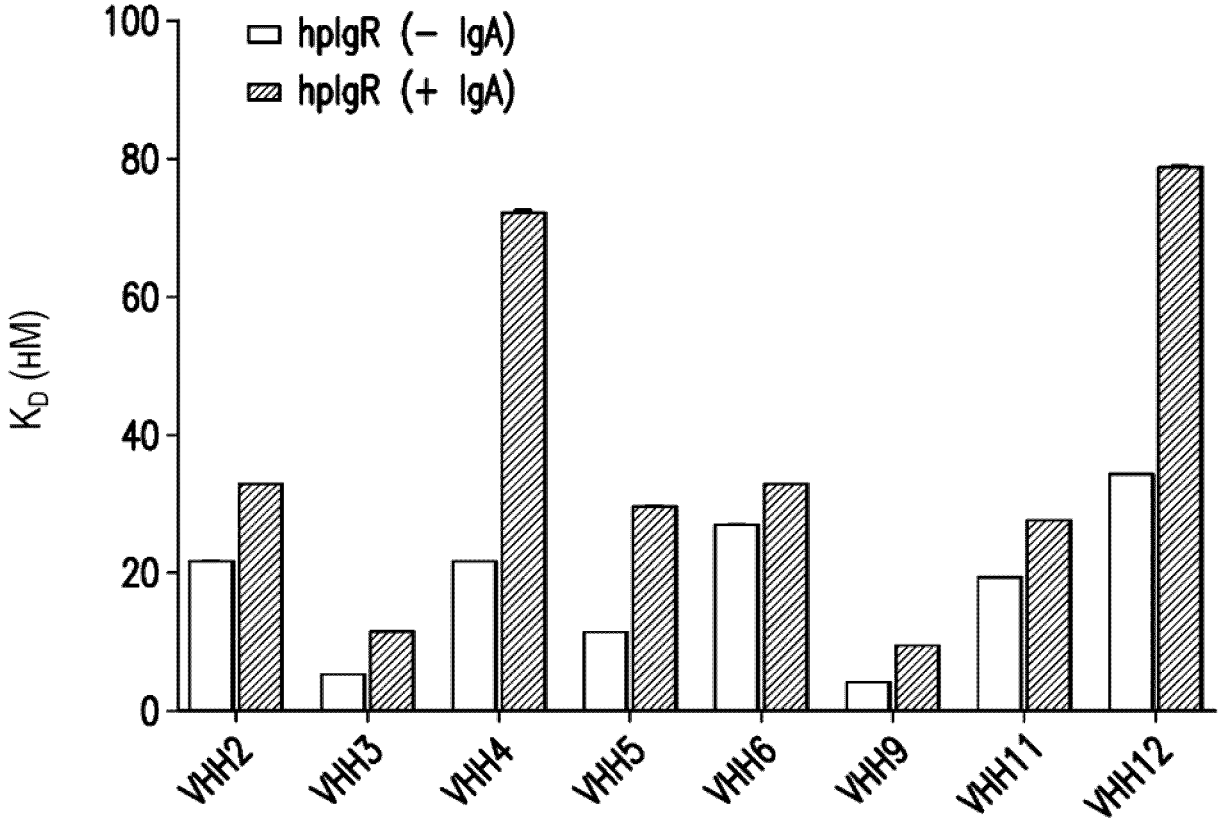
ФИГ. 1А


Лиганд
Ствол
Просвет
Обратное направление
Эндоцитозные
везикулы
ICD
Кровь
Ствол
Лиганд
Диссоциация и
высвобождение

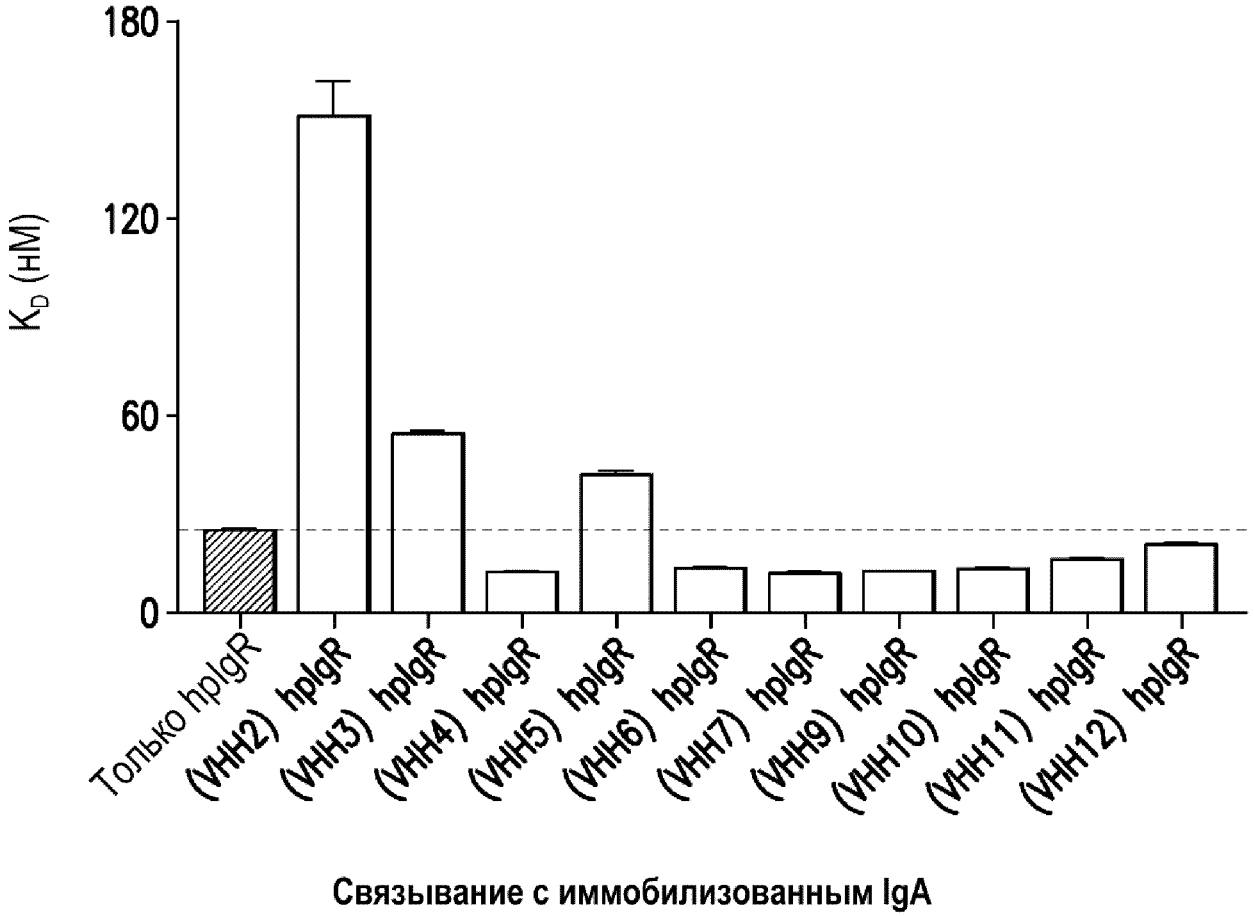
ФИГ. 1В


VHH1
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
hpIgR_D1
hpIgR_D2
hpIgR_D3
hpIgR_D5
hpIgR_D1-D2
hpIgR_D2-D3
hpIgR_D4-D5
hpIgR_ECD
1000000
500000
0

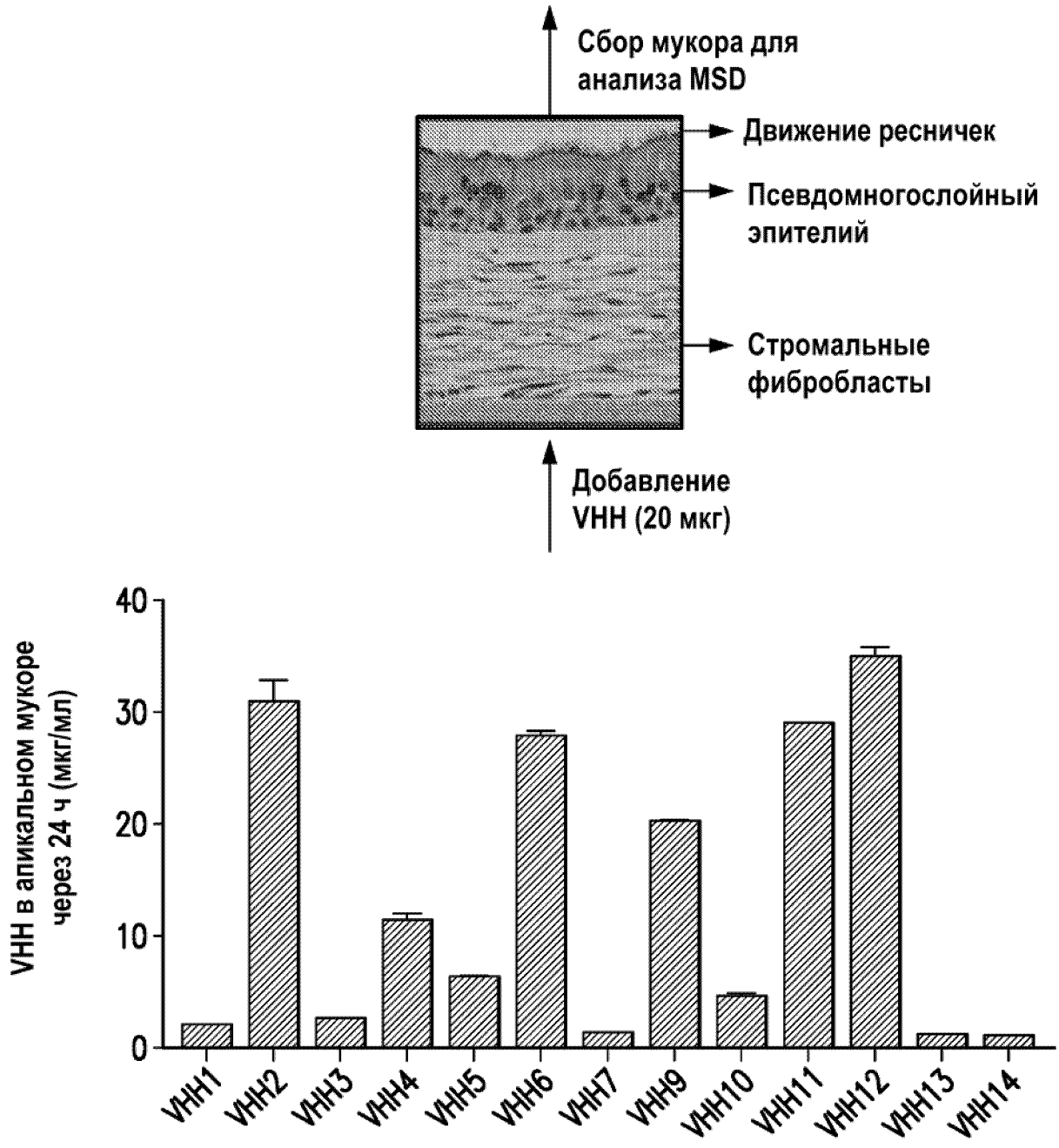
ФИГ. 2


hplgR (– IgA)
hplgR (+ IgA)
K_D (нМ)
100
80
60
40
20
0
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH9
VHH11
VHH12

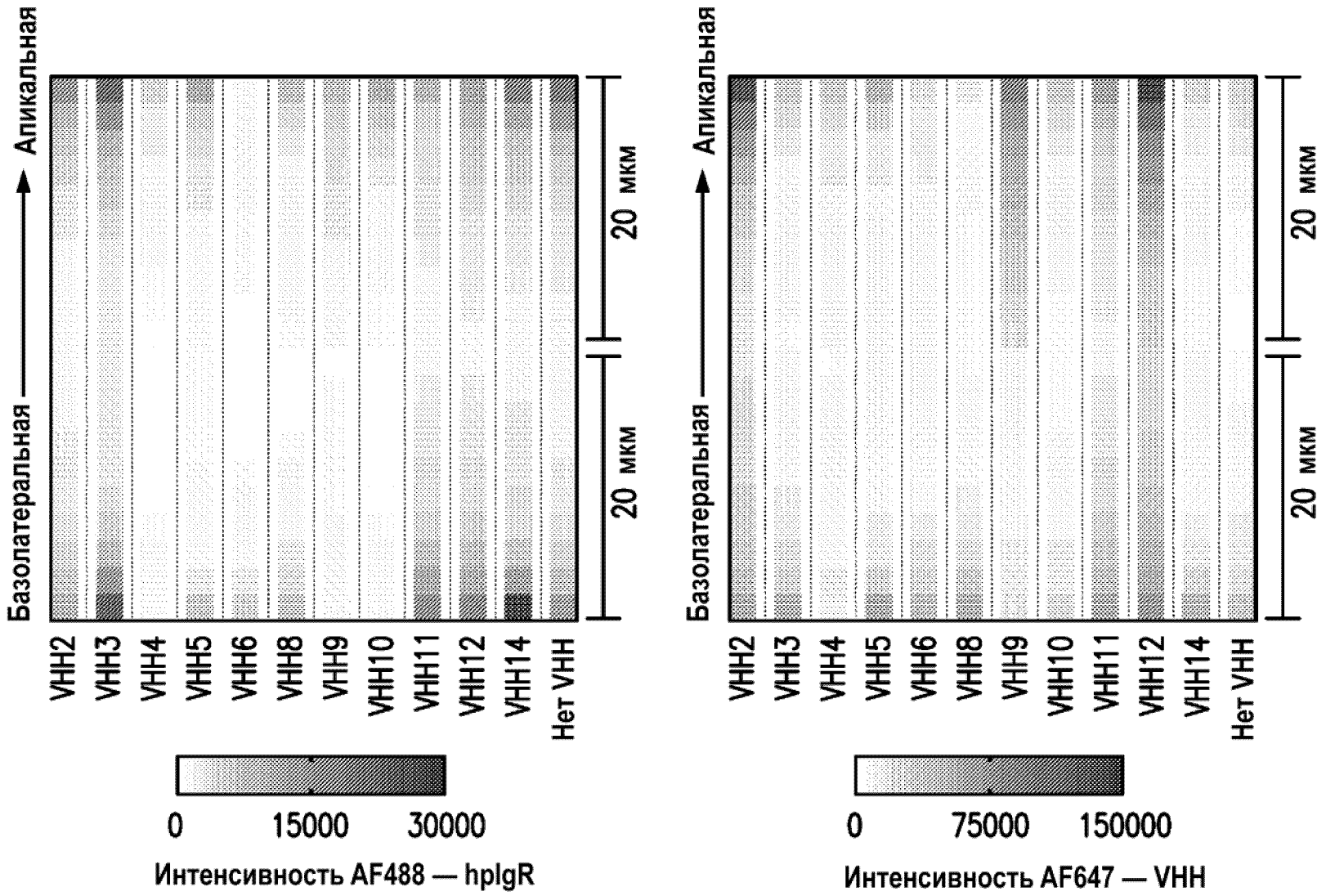
ФИГ. 3А


180
120
60
0
K_D (нМ)
Только hplgR
(VHH2) hplgR
(VHH3) hplgR
(VHH4) hplgR
(VHH5) hplgR
(VHH6) hplgR
(VHH7) hplgR
(VHH9) hplgR
(VHH10) hplgR
(VHH11) hplgR
(VHH12) hplgR
Связывание с иммобилизованным IgA

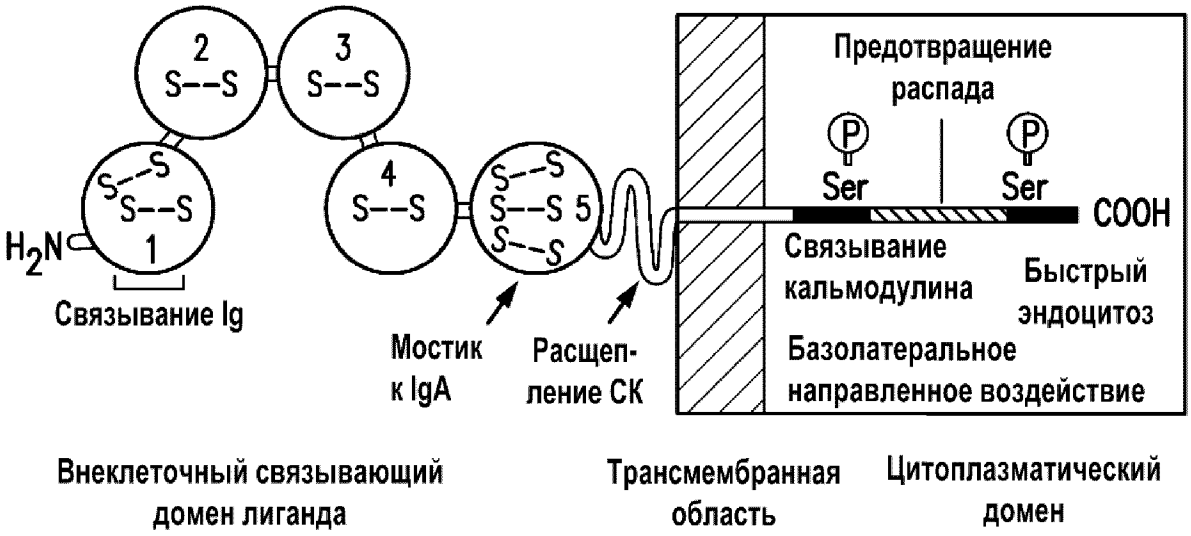
ФИГ. 3В


Сбор мукора для анализа MSD
Движение ресничек
Псевдомногослойный эпителий
Стромальные фибробласты
Добавление VHH (20 мкг)
VHH в апикальном мукоре через 24 ч (мкг/мл)
40
30
20
10
0
VHH1
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
VHH13
VHH14

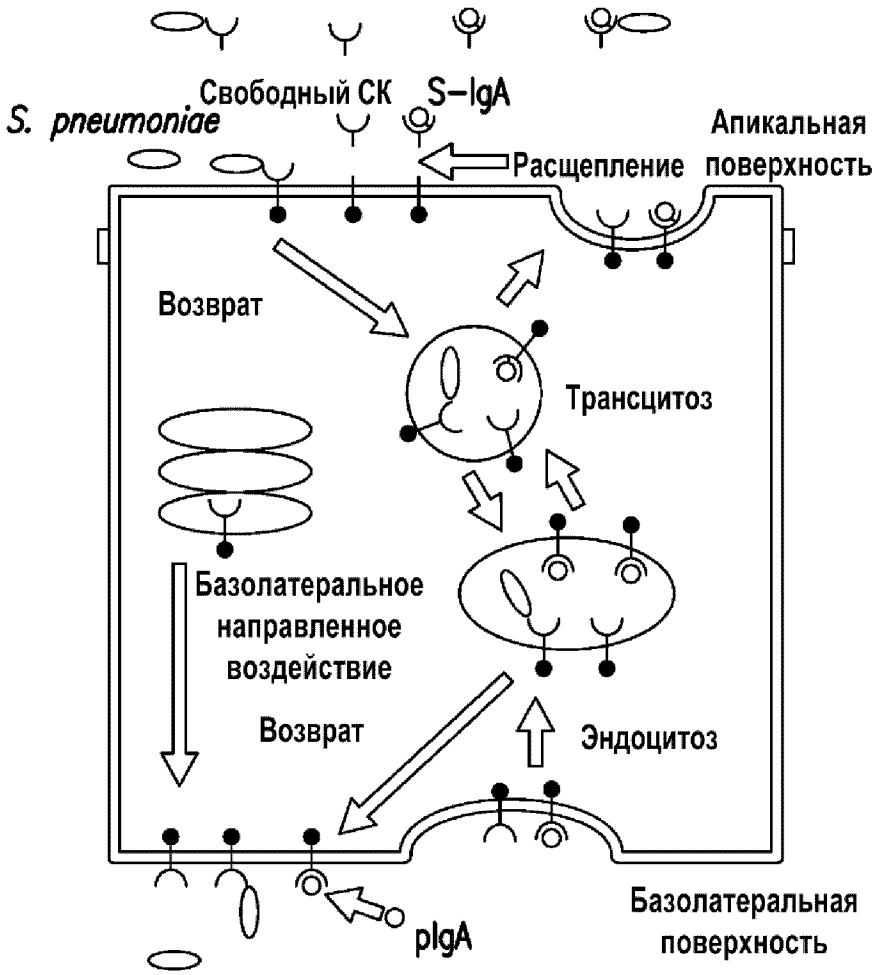
ФИГ. 4


Апикальная
Базолатеральная
20 мкм
20 мкм
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH8
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
VHH14
Нет VHH
0
15000
30000
Интенсивность AF488 — hplgR
Апикальная
Базолатеральная
20 мкм
20 мкм
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH8
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
VHH14
Нет VHH
0
75000
150000
Интенсивность AF647 — VHH

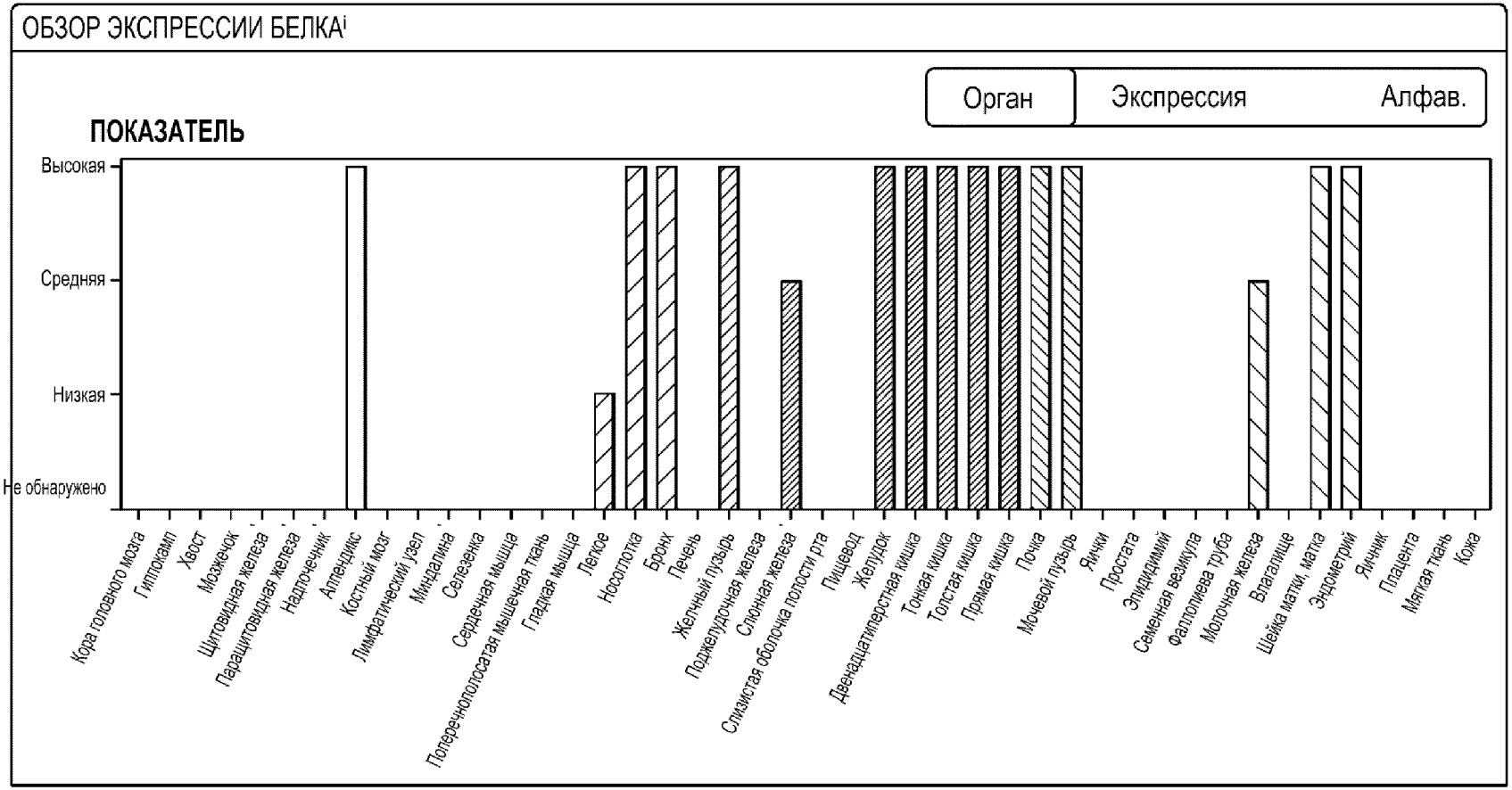
ФИГ. 5


2
S--S
3
S--S
4
S--S
5
H_2N
1
Связывание Ig
Мостик к IgA
Расщеп-ление СК
Предотвращение распада
P
Ser
P
Ser
COOH
Связывание кальмодулина
Быстрый эндоцитоз
Базолатеральное направленное воздействие
Внеклеточный связывающий домен лиганда
Трансмембранная область
Цитоплазматический домен

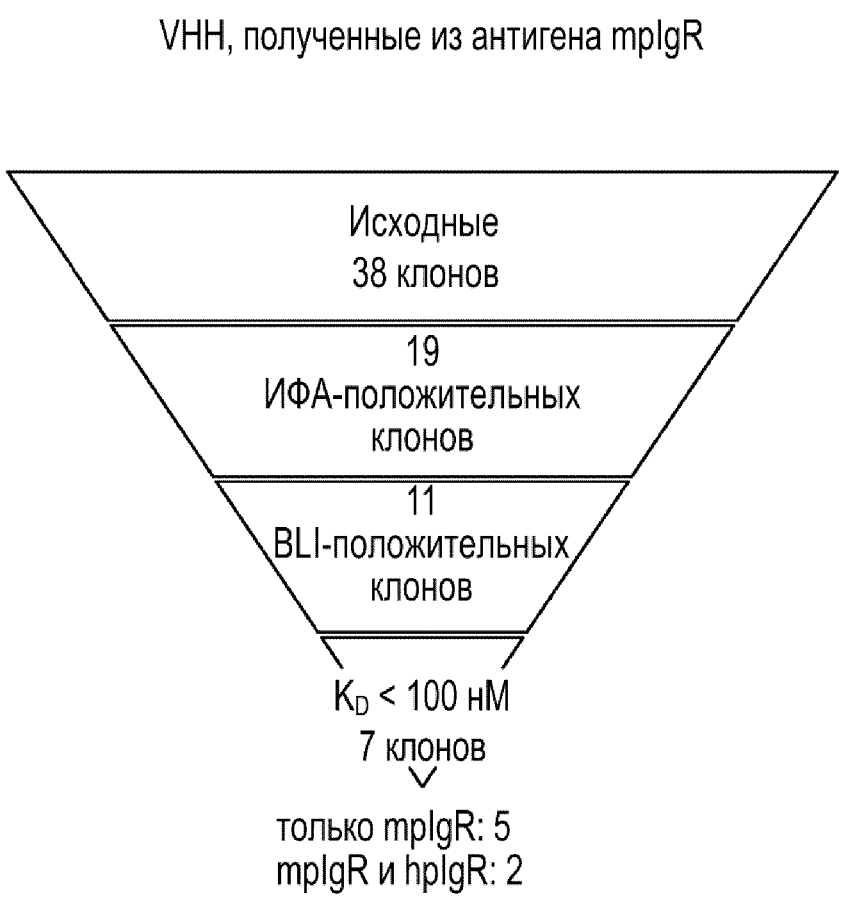
ФИГ. 6A


Свободный СК
S-IgA
S. pneumoniae
Расщепление
Апикальная поверхность
Возврат
Трансцитоз
Базолатеральное направленное воздействие
Возврат
Эндоцитоз
pIgA
Базолатеральная поверхность

ФИГ. 6B


ОБЗОР ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА
Орган
Экспрессия
Алфав.
ПОКАЗАТЕЛЬ
Высокая
Средняя
Низкая
Не обнаружено
Кора головного мозга
Гиппокамп
Хвост
Мозжечок
Щитовидная железа
Паращитовидная железа
Надпочечник
Аппендикс
Костный мозг
Лимфатический узел
Миндалина
Селезенка
Сердечная мышца
Поперечнополосатая мышечная ткань
Гладкая мышца
Легкое
Носоглотка
Бронх
Печень
Желчный пузырь
Поджелудочная железа
Слюнная железа
Слизистая оболочка полости рта
Пищевод
Желудок
Двенадцатиперстная кишка
Тонкая кишка
Толстая кишка
Прямая кишка
Почка
Мочевой пузырь
Яички
Простата
Эпидидимий
Семенная везикула
Фаллопиева труба
Молочная железа
Влагалище
Шейка матки, матка
Эндометрий
Яичник
Плацента
Мягкая ткань
Кожа

ФИГ. 7

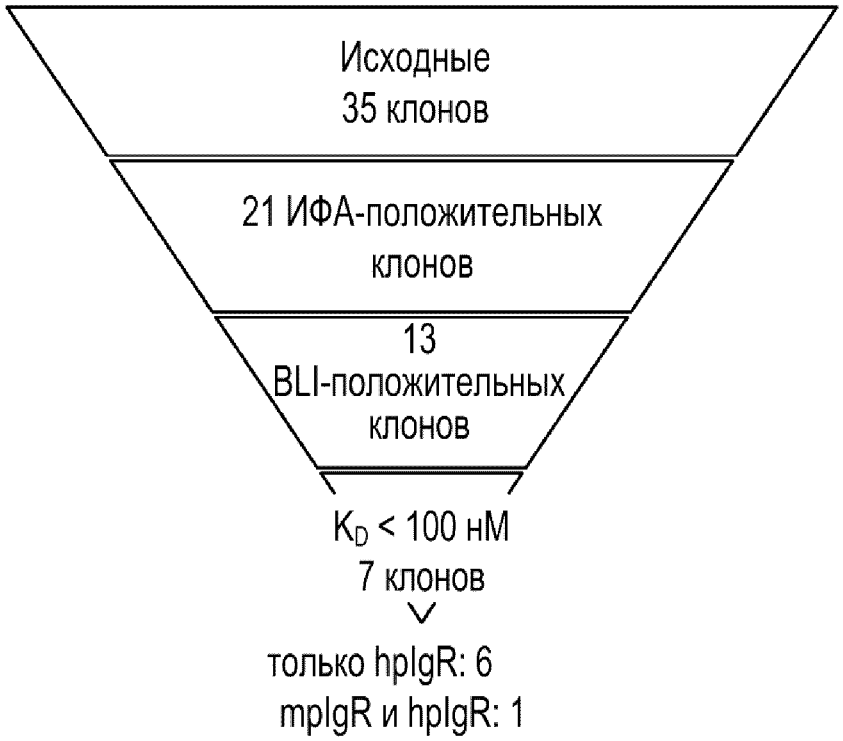


Значения K_D (нМ)

№ VHH	mplgR	hplgR
072	13	75
089	2	–
140	7	–
167	58	–
220	1	–
338	1	22
428	70	–

ФИГ. 8

VHH, полученные из антигена hpIgR

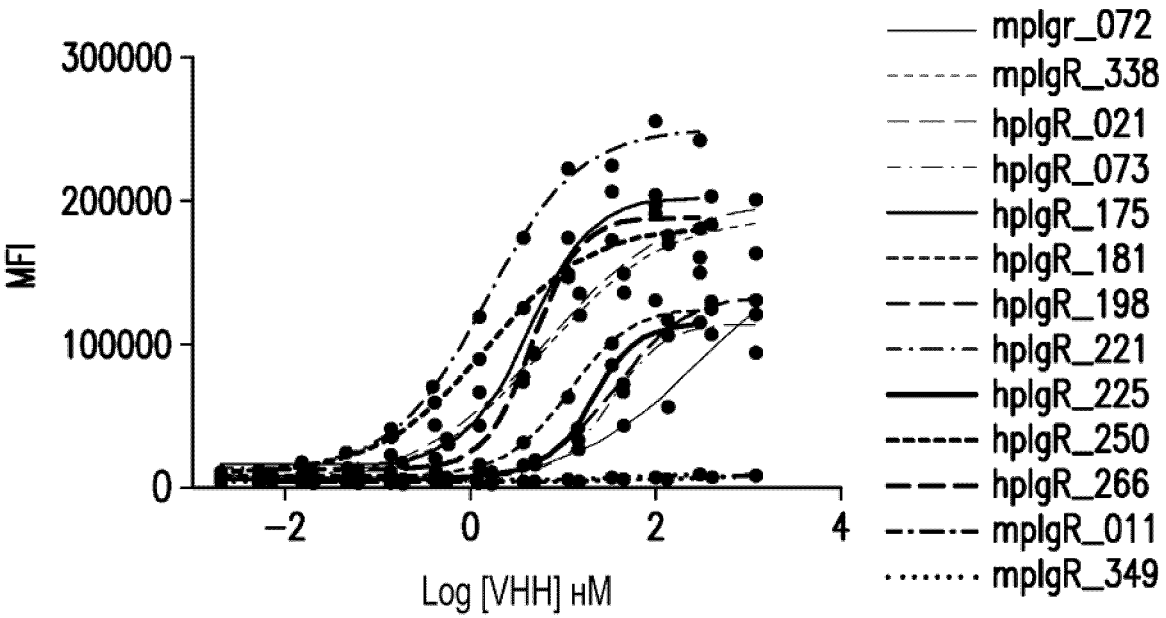


Значения K_D (нМ)

№ VHH	hpIgR	mpIgR
021	5	40
073	22	–
175	11	–
181	27	–
221	4	–
250	19	–
266	34	–

ФИГ. 9

Связывание молекул VHH с клетками MDCK-hpIgR

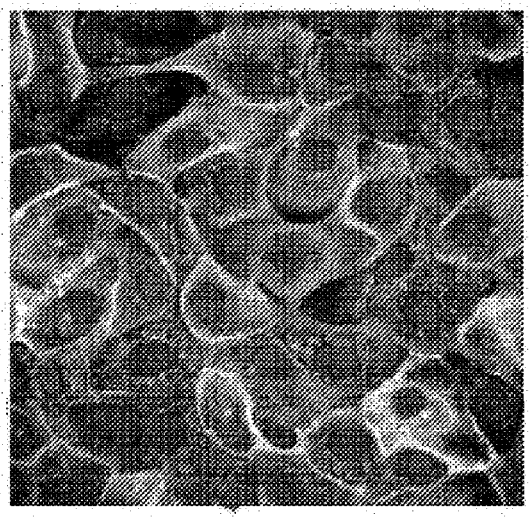


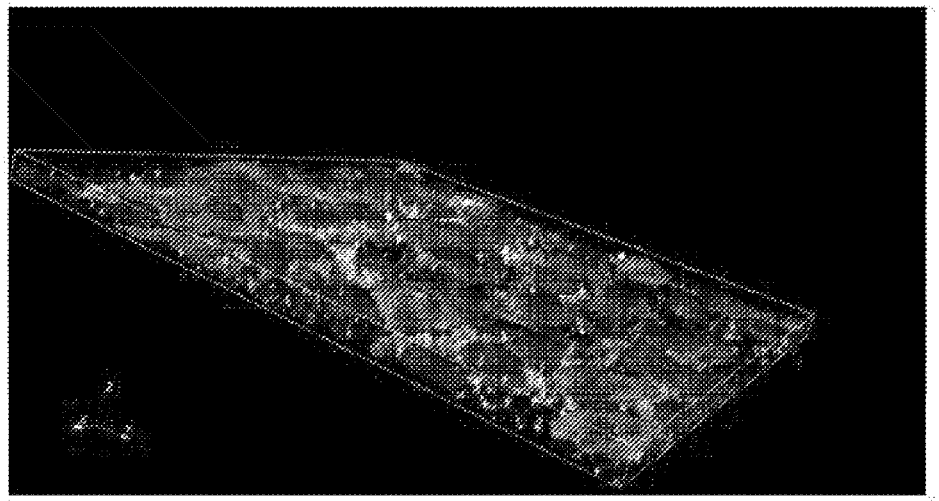
VHH	EC_{50} (нМ)
mplgr_072	298,8
mplgr_338	6,3
hplgR_021	6,4
hplgR_073	32,9
hplgR_175	4,3
hplgR_181	11,5
hplgR_198	36,4
hplgR_221	1,5
hplgR_225	20,4
hplgR_250	1,5
hplgR_266	4,6

ФИГ. 10

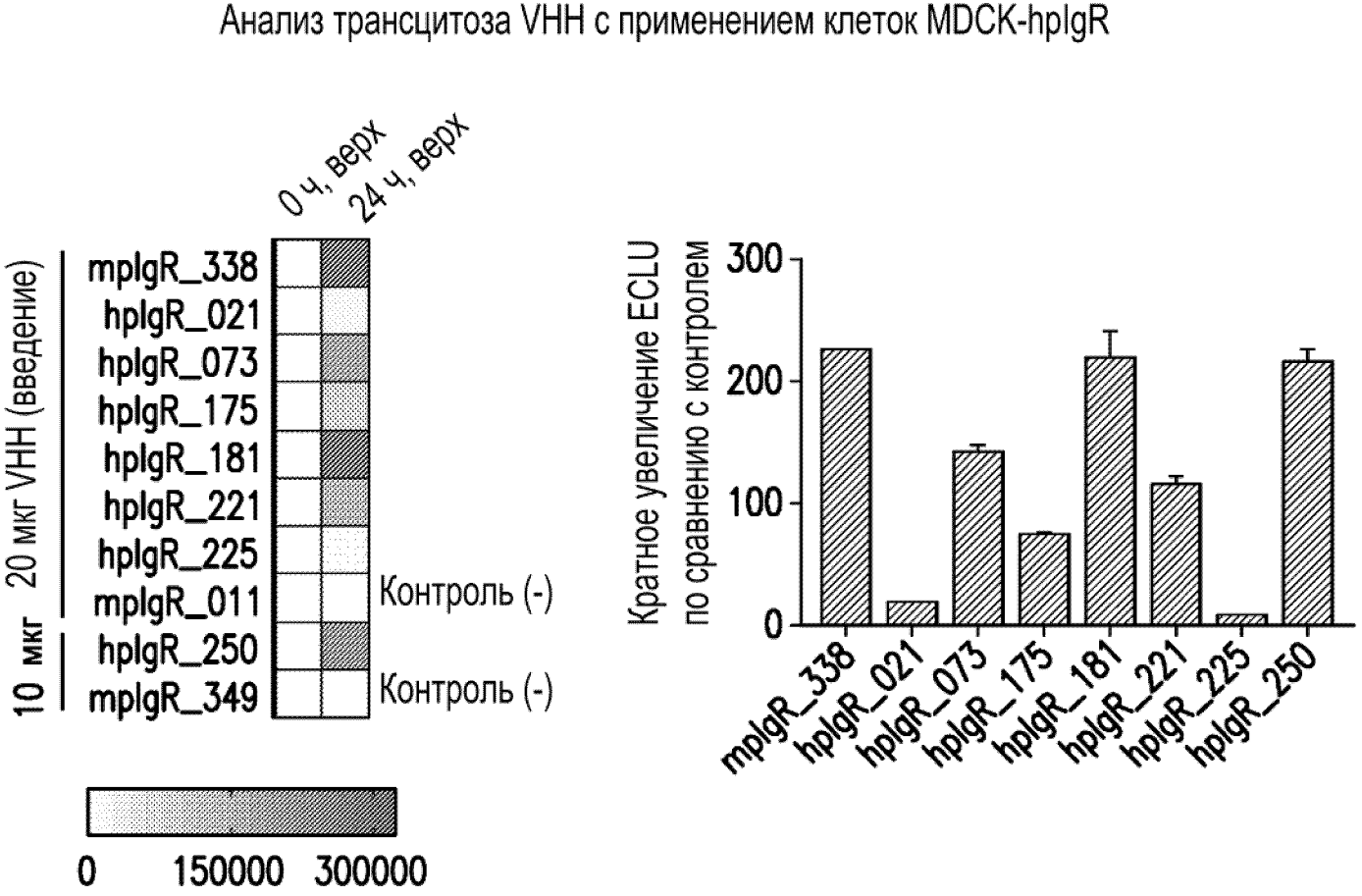
Клетки MDCK-hpIgR образуют поляризованные монослои

- Окрашивание указывает на hpIgR, локализованный на поверхности и внутренней части монослоя клеток
- Неоднородное распределение окрашивания hpIgR в пределах монослоя
- Первоначальные эксперименты показывают, что плотность рецептора hpIgR составляла ~6000 на одну клетку
- Blue-Hoechst
- Зеленое антитело к PIGR
- Красное антитело к Rab5

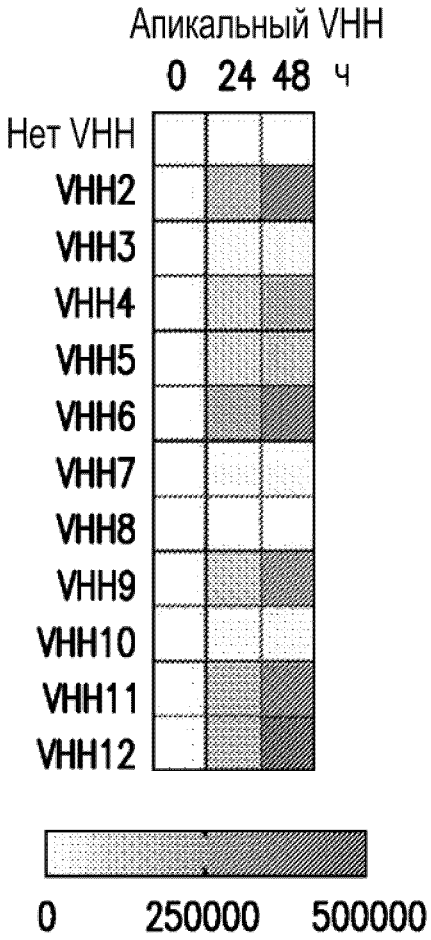


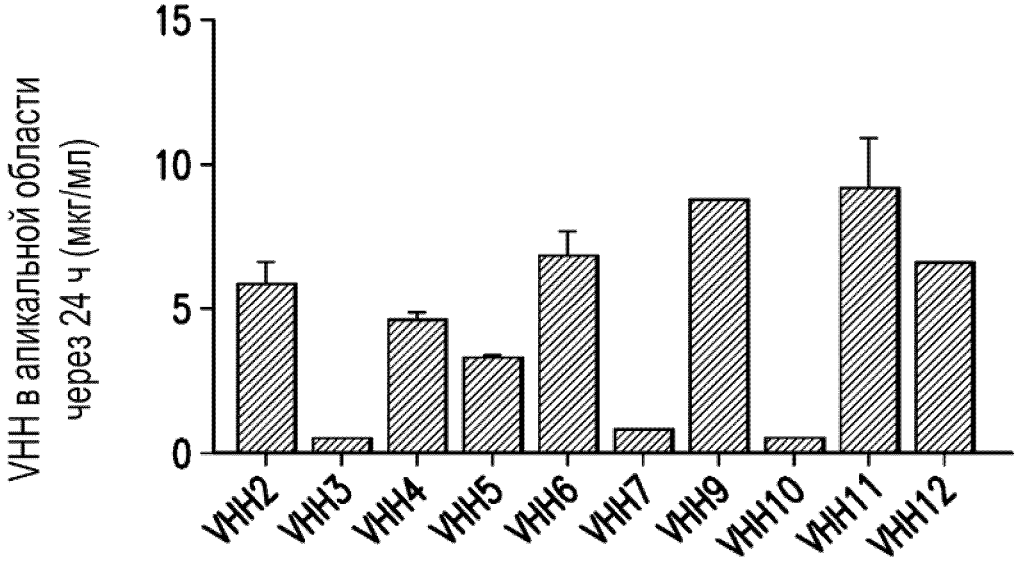


ФИГ. 11

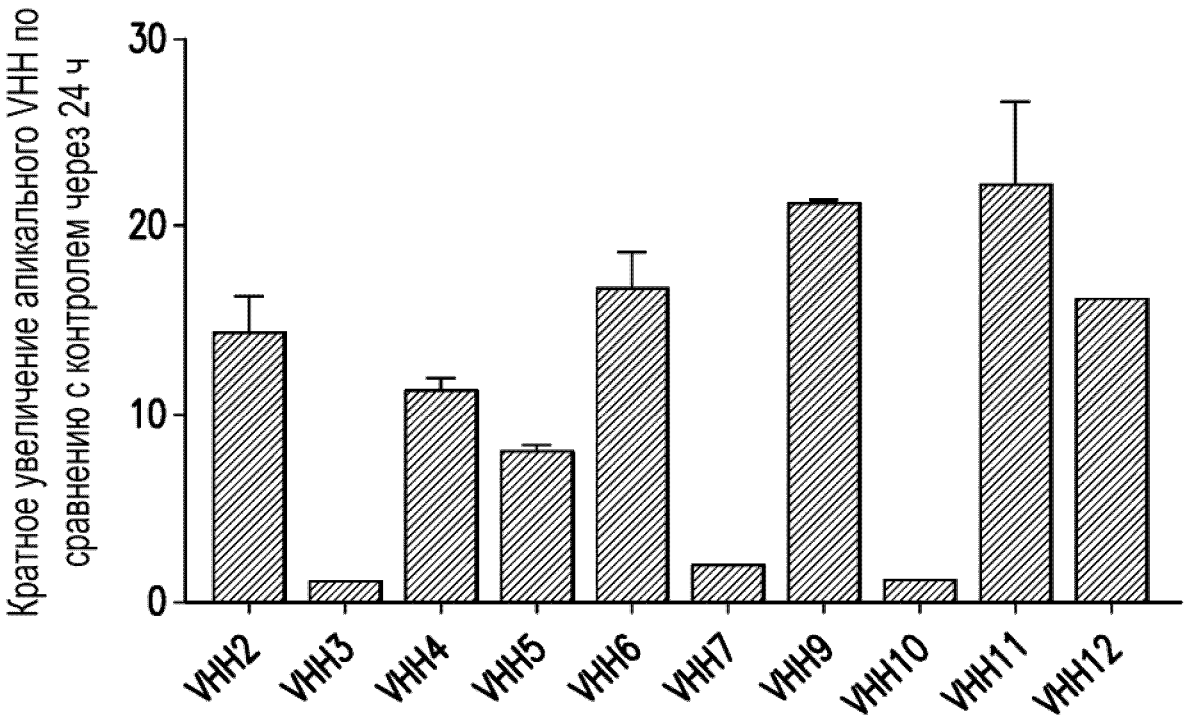

Анализ трансцитоза VHH с применением клеток MDCK-hpIgR
0 ч, верх
24 ч, верх
10 мкг
20 мкг VHH (введение)
mpIgR_338
hpIgR_021
hpIgR_073
hpIgR_175
hpIgR_181
hpIgR_221
hpIgR_225
mpIgR_011
hpIgR_250
mpIgR_349
Контроль (-)
Контроль (-)
0
150000
300000
Кратное увеличение ECLU
по сравнению с контролем
300
200
100
0
mpIgR_338
hpIgR_021
hpIgR_073
hpIgR_175
hpIgR_181
hpIgR_221
hpIgR_225
hpIgR_250

ФИГ. 12А

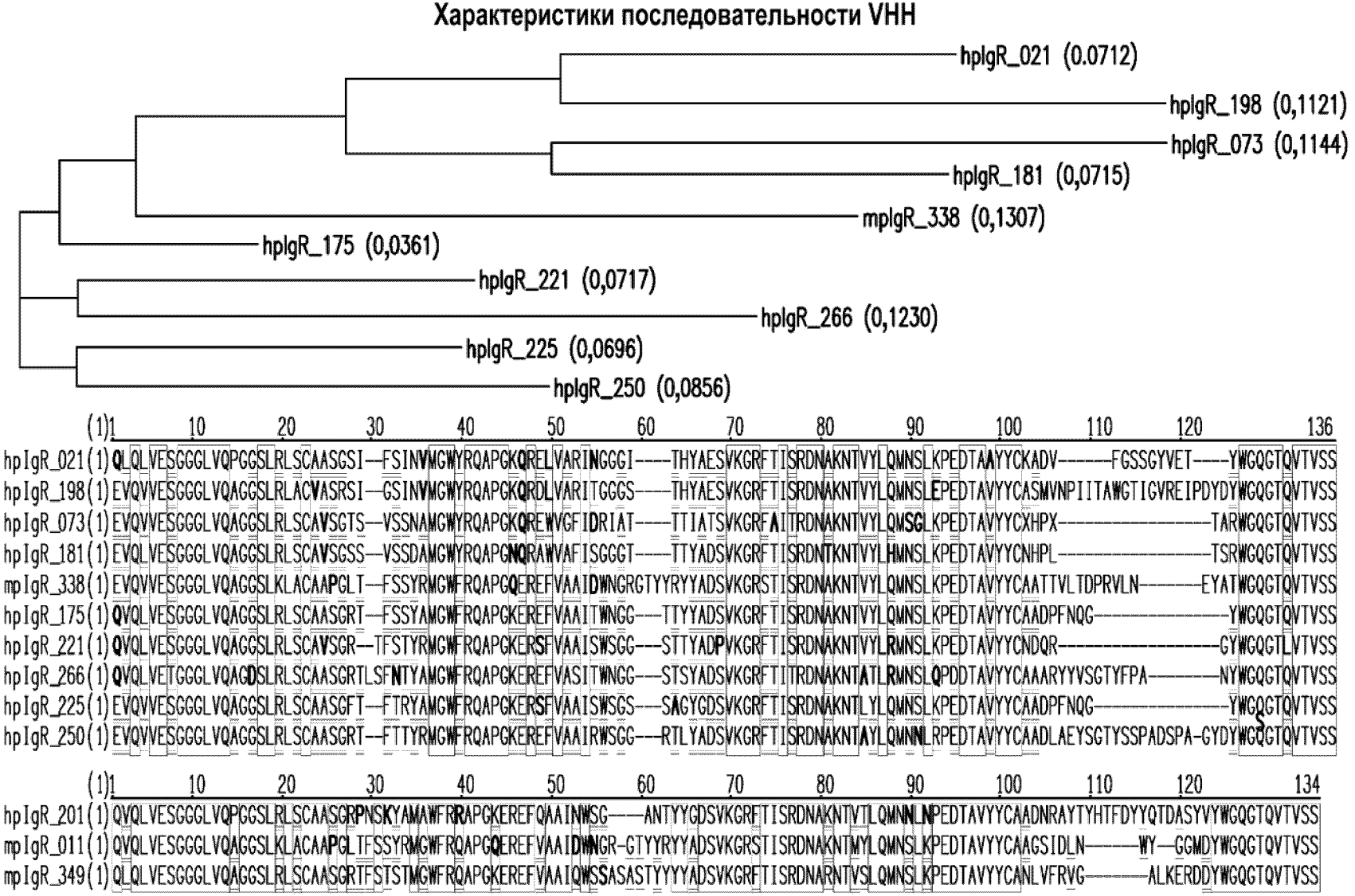

Апикальный VHH
0 24 48 ч
Нет VHH
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH8
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
0
250000
500000


VHH в апикальной области через 24 ч (мкг/мл)
15
10
5
0
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12

ФИГ. 12B


Кратное увеличение апикального VHH по сравнению с контролем через 24 ч
30
20
10
0
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12

ФИГ. 12C

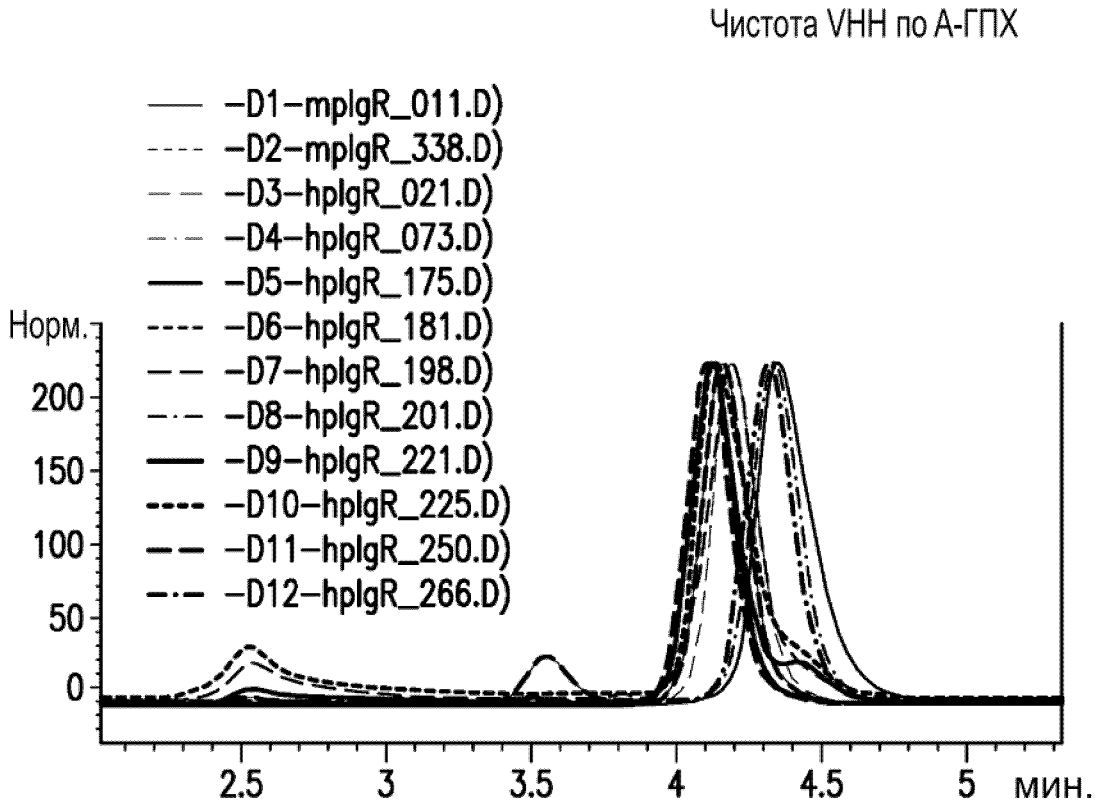

Характеристики последовательности VHH
hplgR_021 (0.0712)
hplgR_198 (0,1121)
hplgR_073 (0,1144)
hplgR_181 (0,0715)
mplgR_338 (0,1307)
hplgR_175 (0,0361)
hplgR_221 (0,0717)
hplgR_266 (0,1230)
hplgR_225 (0,0696)
hplgR_250 (0,0856)
(1)1 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 136
hplgR_021(1)QLQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSI--FSINVMGWYRQAPGKQRELVARINGGGI----THYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAAYYCKADV------FGSSGYVET----YWGQGTQVTVSS
hplgR_198(1)EVQVVESGGGLVQAGGSLRLACVASRSI--GSINVMGWYRQAPGKQRDLVARITGGGS----THYAESVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLEPEDTAVYYCASMVNPIITAWGTIGVREIPDYDYWGQGTQVTVSS
hplgR_073(1)EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGTS--VSSNAMGWYRQAPGKQREWVGFIDRIAT----TTIATSVKGRFAITRDNAKNTVYLQMSGLKPEDTAVYYCXHPX----------TARWGQGTQVTVSS
hplgR_181(1)EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSS--VSSDAMGWYRQAPGNQRAWVAFISGGGT----TTYADSVKGRFTISRDNTKNTVYLHMNSLKPEDTAVYYCNHPL----------TSRWGQGTQVTVSS
mplgR_338(1)EVQVVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLT--FSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGRGTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATTVLTDPRVLN------EYATWGQGTQVTVSS
hplgR_175(1)QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRT--FSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAITWNGG---TTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQG----------YWGQGTQVTVSS
hplgR_221(1)QVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGR--TFSTYRMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGG---STTYADPVKGRFTISRDNAKNTVYLRMNSLKPEDTAVYYCNDQR----------GYWGQGTLVTVSS
hplgR_266(1)QVQLVETGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTLSFNTYAMGWFRQAPGKEREFVASITWNGG---STSYADSVKGRFTITRDNAKNTATLRMNSLQPDDTAVYYCAAARYYVSGTYFPA------NYWGQGTQVTVSS
hplgR_225(1)EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFT--FTRYAMGWFRQAPGKERSFVAAISWSGS---SAGYGDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCAADPFNQG----------YWGQGTQVTVSS
hplgR_250(1)EVQVVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRT--FTTYRMGWFRQAPGKEREFVAAIRWSGG---RTLYADSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNNLRPEDTAVYYCAADLAEYSGTYSSPADSPA-GYDYWGQGTQVTVSS
(1)1 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 134
hplgR_201(1)QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRPNSKYAMAWFRRAPGKEREFQAAINWSG----ANTYYGDSVKGRFTISRDNAKNTVTLQMNNLNPEDTAVYYCAADNRAYTYHTFDYYQTDASYVYWGQGTQVTVSS
mplgR_011(1)QVQLVESGGGLVQAGGSLKLACAAPGLTFSSYRMGWFRQAPGQEREFVAAIDWNGR-GTYYRYYADSVKGRSTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGSIDLN------WY--GGMDYWGQGTQVTVSS
mplgR_349(1)QLQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSTSTMGWFRQAPGKEREFVAAIQWSSASASTYYYYADSVKGRFTISRDNARNTVSLQMNSLKPEDTAVYYCANLVFRVG------ALKERDDYWGQGTQVTVSS

ФИГ. 13

Результаты очистки

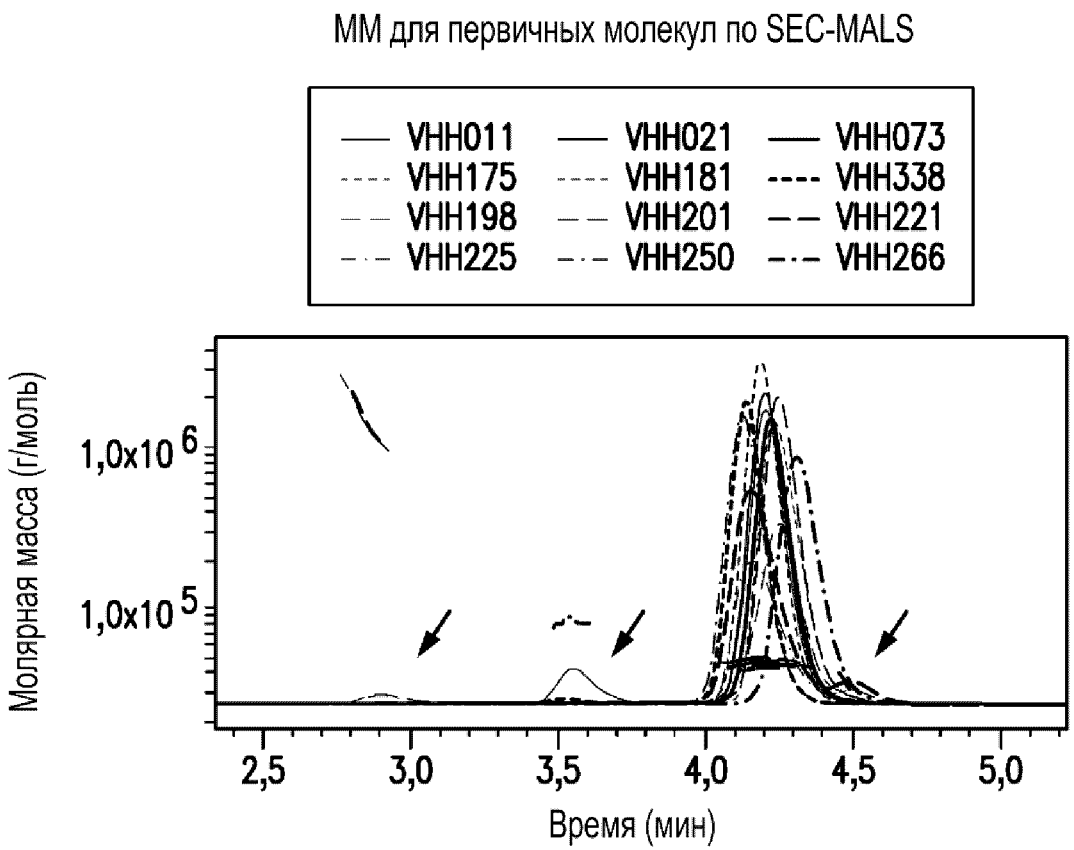
№ VHH	Наименование VHH	Объем эксп. CHO	Способ очис.	Концентрация, мг/мл	Выход, мг	Буфер
VHH1	mplgR_011	35	MabSelect	2,5	8,4	PBS, pH 7,2
VHH2	mplgR_338	35	MabSelect	1,8	6,1	PBS, pH 7,2
VHH3	hplgR_021	35	MabSelect	2,5	8,5	PBS, pH 7,2
VHH4	hplgR_073	35	MabSelect	1.8	6,0	PBS, pH 7,2
VHH5	hplgR_175	35	MabSelect	2,3	7,8	PBS, pH 7,2
VHH6	hplgR_181	35	MabSelect	2,4	8,2	PBS, pH 7,2
VHH7	hplgR_198	35	MabSelect	0,9	3,0	PBS, pH 7,2
VHH8	hplgR_201	35	MabSelect	2,0	6,9	PBS, pH 7,2
VHH9	hplgR_221	35	MabSelect	1.5	5.0	PBS, pH 7,2
VHH10	hplgR_225	35	MabSelect	0,8	2,6	PBS, pH 7,2
VHH11	hplgR_250	35	MabSelect	1.6	5,4	PBS, pH 7,2
VHH12	hplgR_266	35	MabSelect	1,1	3,8	PBS, pH 7,2

ФИГ. 14



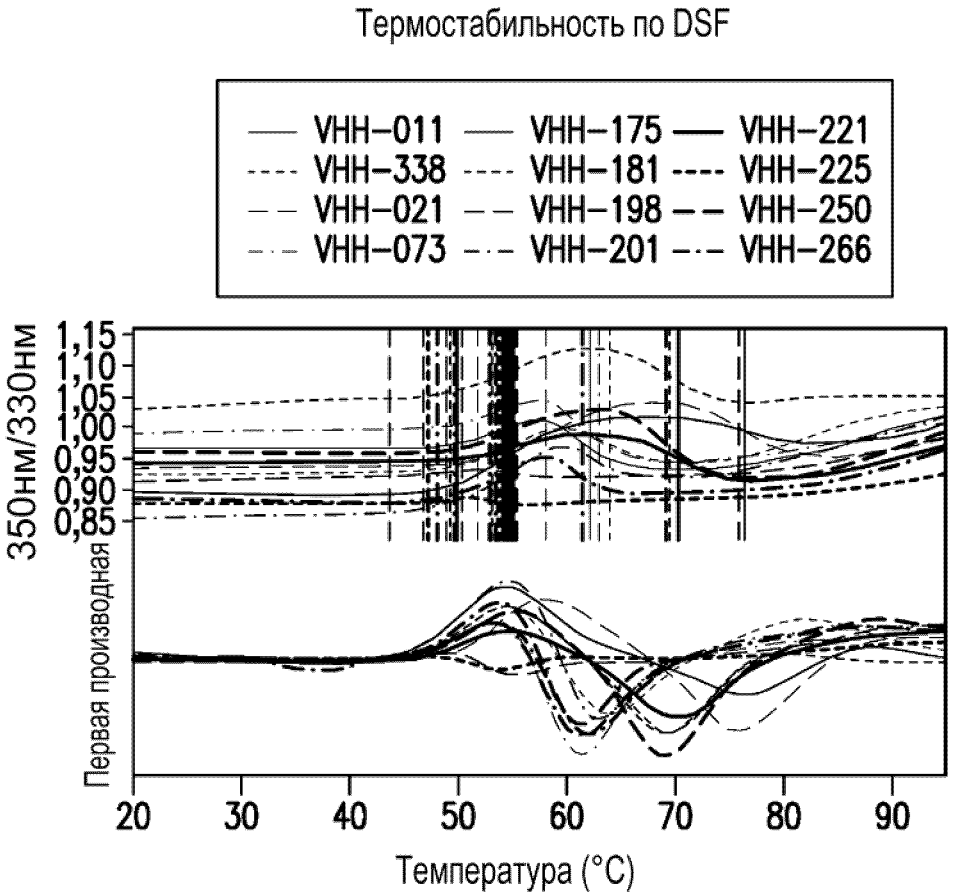
№ VHH	Наименование VHH	Мономер, %
VHH1	mplgR_011	86,2
VHH2	mplgR_338	96,5
VHH3	hplgR_021	95,5
VHH4	hplgR_073	98,8
VHH5	hplgR_175	98,7
VHH6	hplgR_181	99,3
VHH7	hplgR_198	84,7
VHH8	hplgR_201	99,2
VHH9	hplgR_221	89,1
VHH10	hplgR_225	80,2
VHH11	hplgR_250	99,6
VHH12	hplgR_266	99,2

ФИГ. 15



№ VHH	Наименование VHH	ММ пика 1 (кДа)
VHH1	mplgR_011	45,3
VHH2	mplgR_338	43,6
VHH3	hplgR_021	44,7
VHH4	hplgR_073	43,3
VHH5	hplgR_175	43,6
VHH6	hplgR_181	41,3
VHH7	hplgR_198	44,4
VHH8	hplgR_201	47,0
VHH9	hplgR_221	45,3
VHH10	hplgR_225	48,7
VHH11	hplgR_250	46,5
VHH12	hplgR_266	43,1

ФИГ. 16

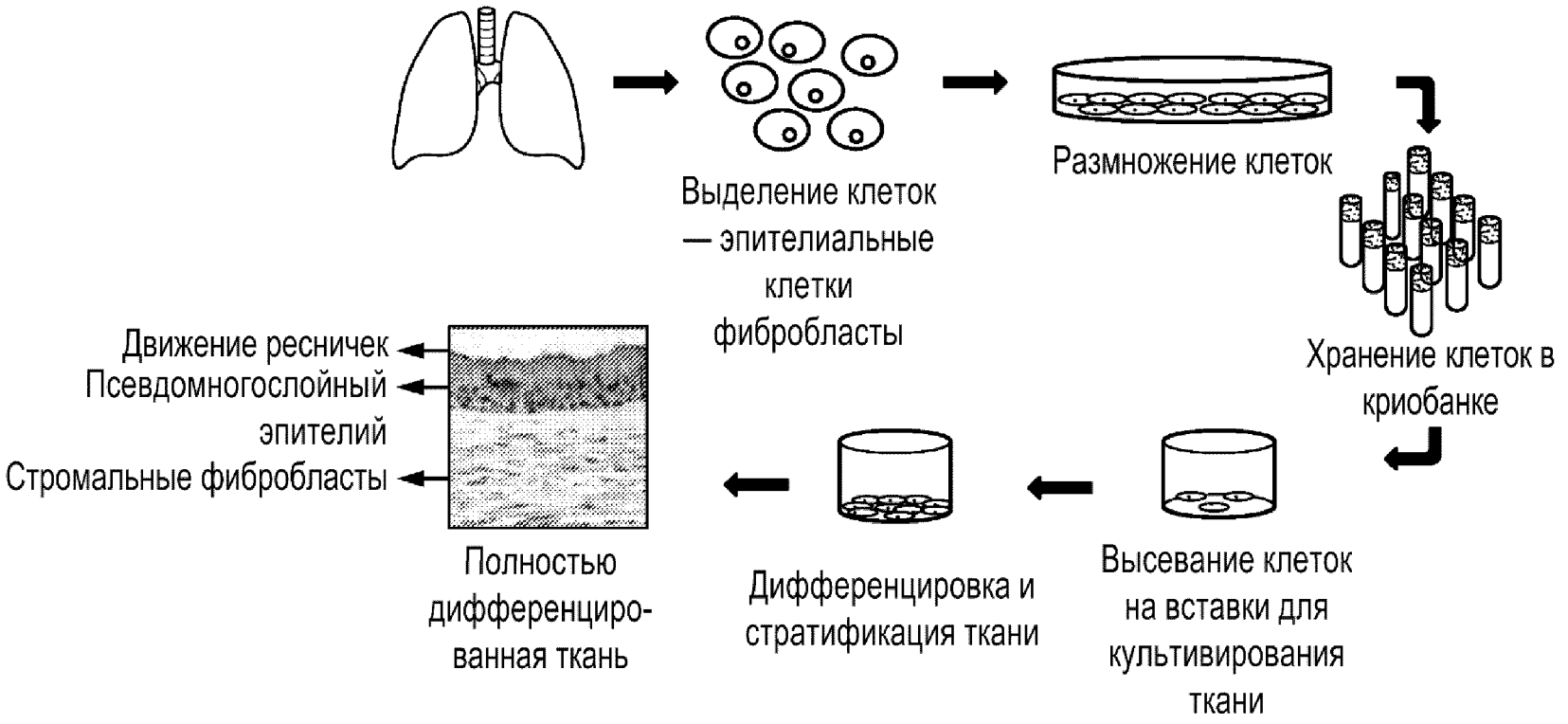


№ VHH	Наименование VHH	T_{ON} (°C)	T_m1 (°C) Fc	T_m2 (°C) VHH
VHH1	mplgR_011	48,4	53,1	61,8
VHH2	mplgR_338	48,9	54,4	64,1
VHH3	hplgR_021	51,7	58.1	75,9
VHH4	hplgR_073	49,0	53,1	61,5
VHH5	hplgR_175	48,8	54,4	76,4
VHH6	hplgR_181	49,3	54,7	69,3
VHH7	hplgR_198	46,8	48,8	55,3
VHH8	hplgR_201	49,6	54,5	63,0
VHH9	hplgR_221	49,8	54,6	70,3
VHH10	hplgR_225	43,6	47,2	53,9
VHH11	hplgR_250	50,4	55,2	69,2
VHH12	hplgR_266	48,4	53,7	61,5

ФИГ. 17

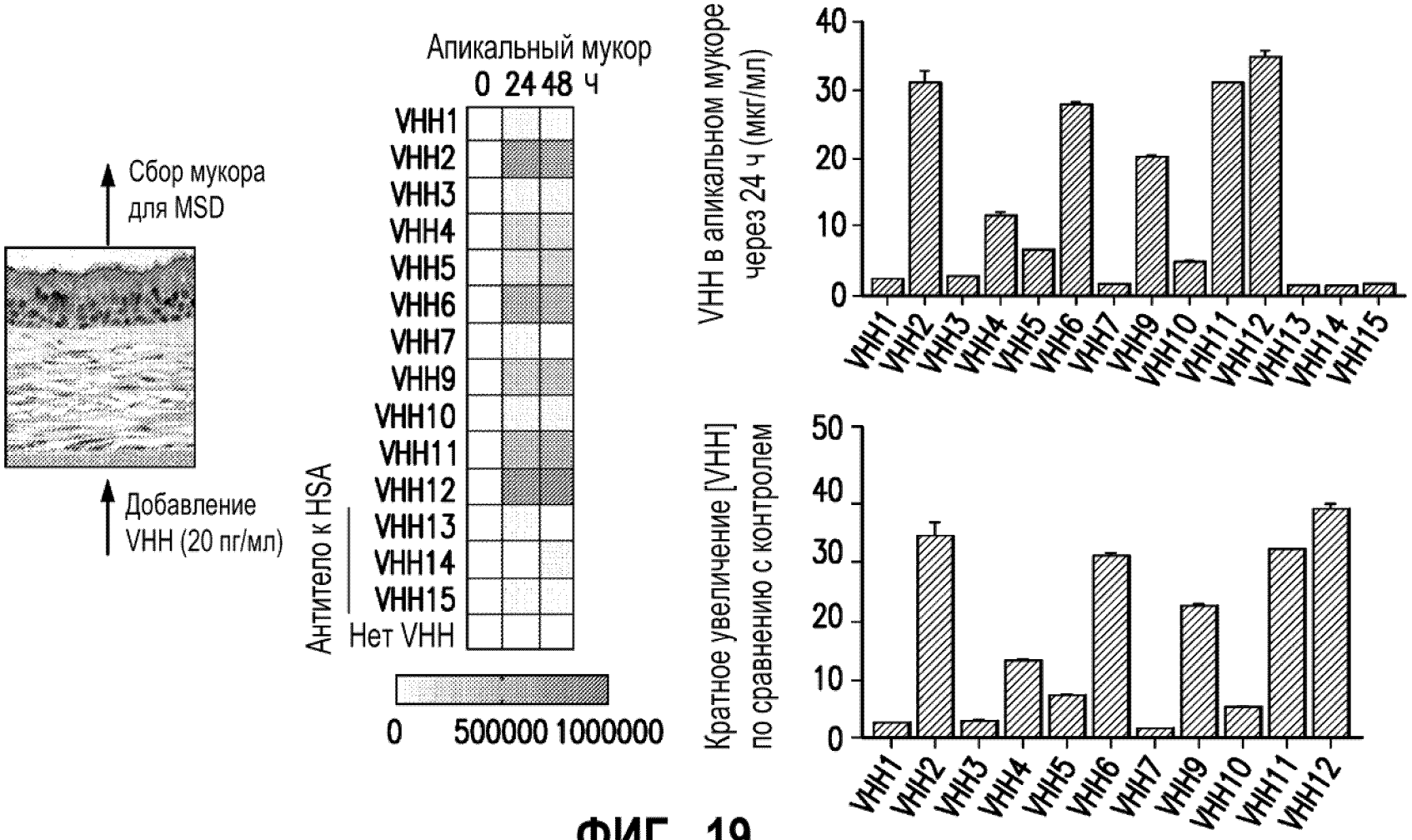
Модель ткани человека EpiAirway

- Полностью дифференцированный мукоцилиарный эпителий
- Сконструированный из первичных бронхиальных эпителиальных клеток человека
- *In vivo* подобные структуры и функции



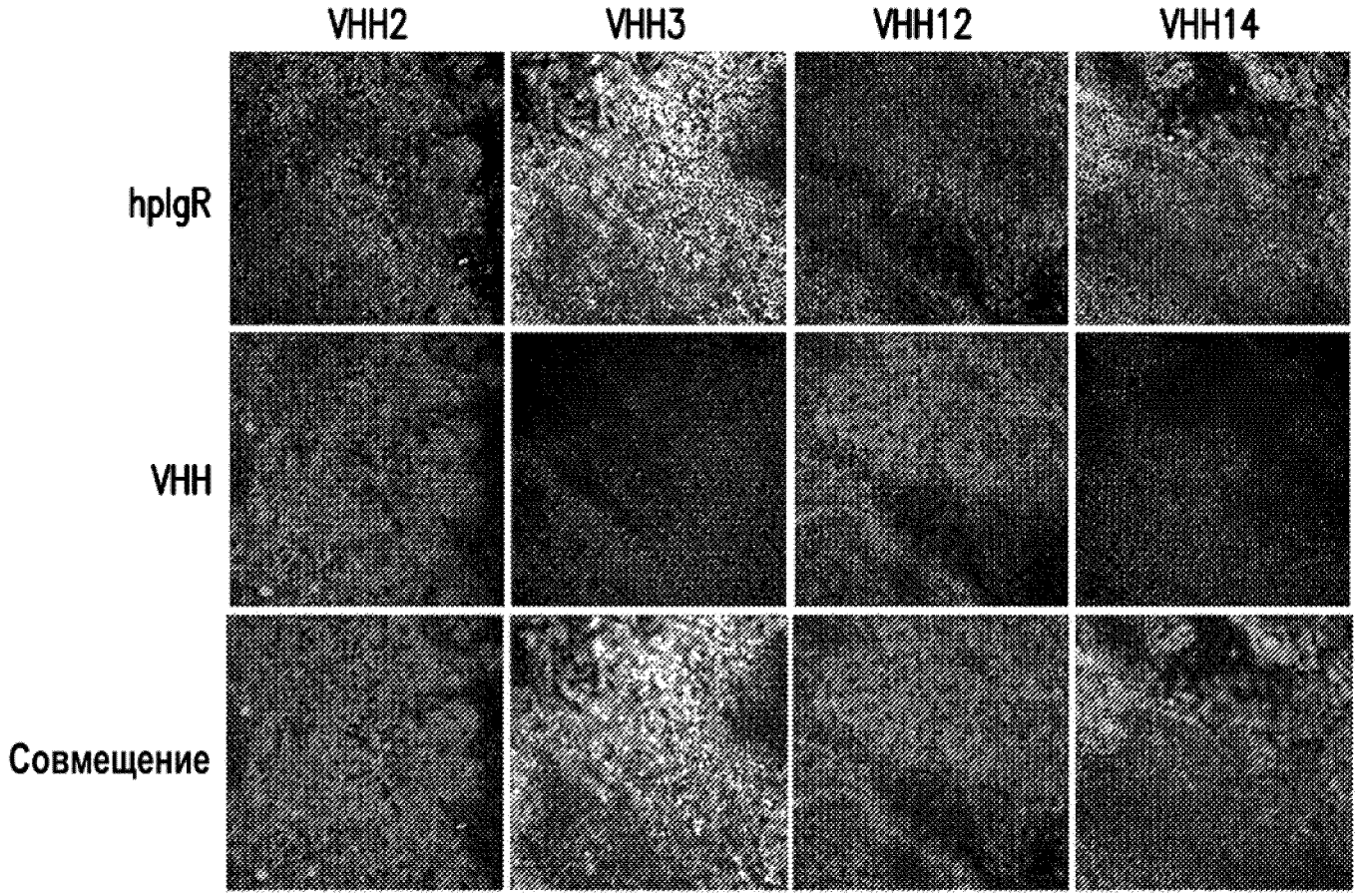
ФИГ. 18

Анализ трансцитоза VHH с применением модели EpiAirway



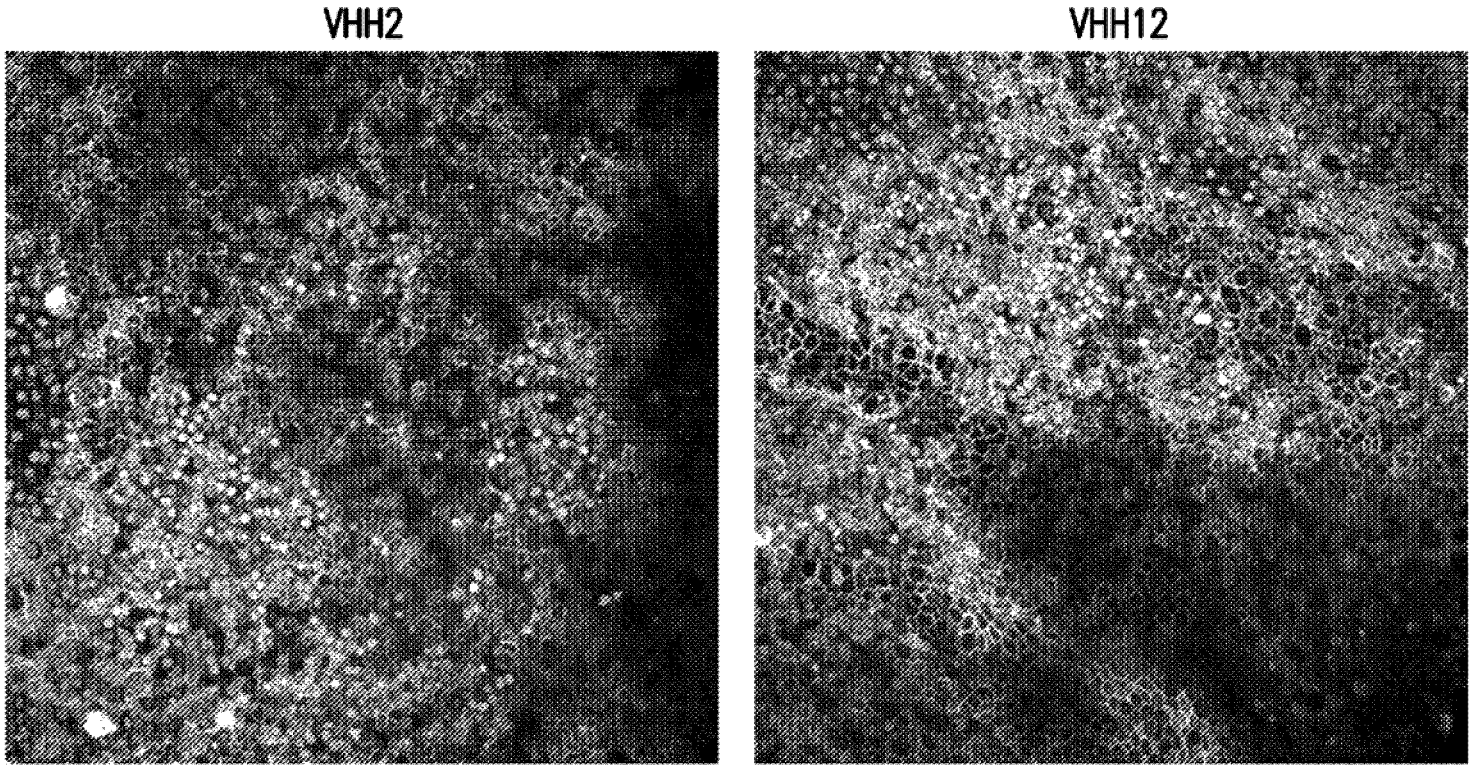
ФИГ. 19

Микрофотографии фиксированных и окрашенных для выявления hpIgR и VHH гистологических срезов через 2 дня после воздействия



ФИГ. 20

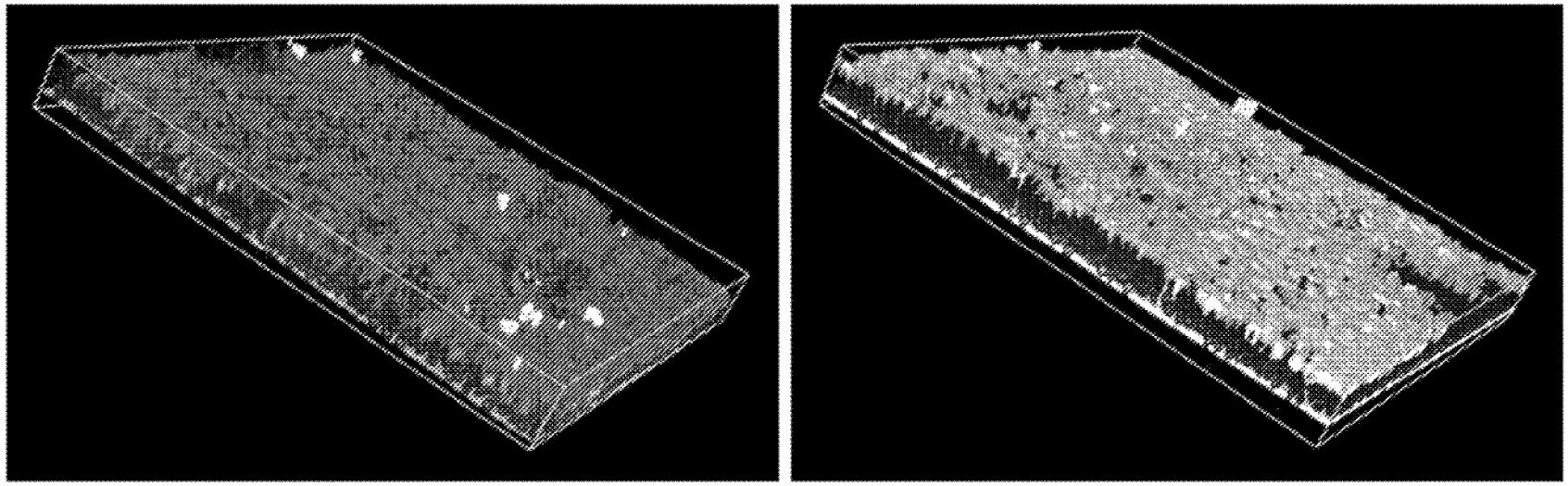
Колокализация hpIgR и VHH



Синий: ядро (Hoechst), зеленый: hpIgR (AF488) и красный: VHH (AF647)

ФИГ. 21

3D-реконструкция демонстрирует локализацию hpIgR и VHH на апикальной поверхности в модели EpiAirway

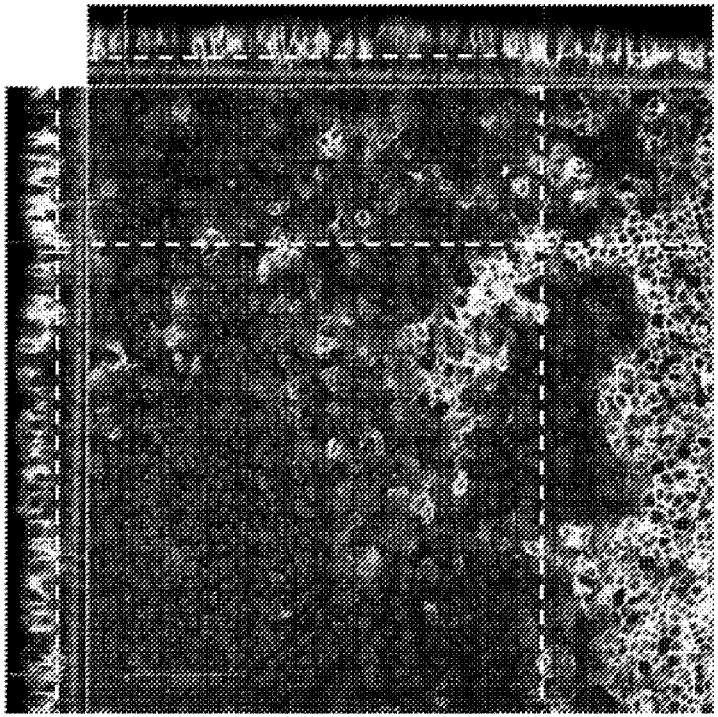


VHH2 VHH3

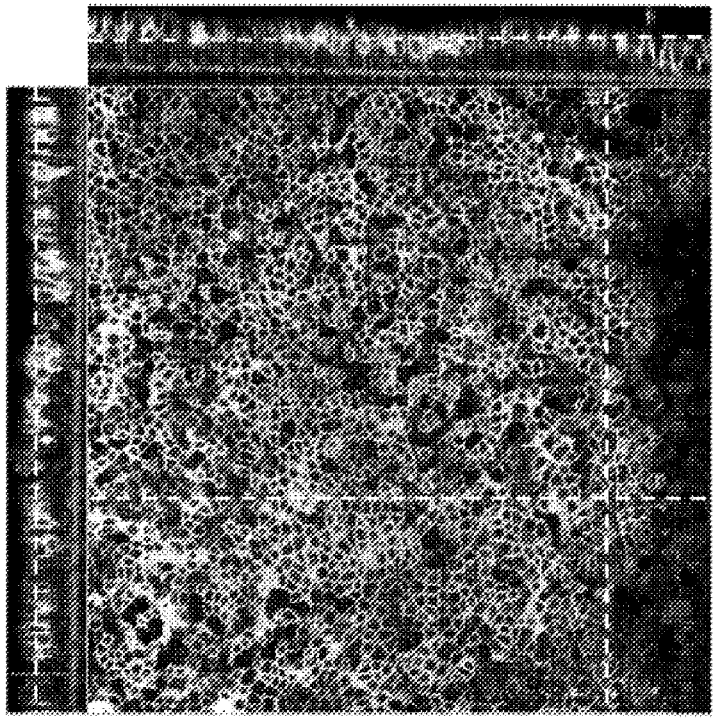
ФИГ. 22

Модель ткани EpiAirway образована на скошенной мембране,
которая не является идеальной для анализа изображений

Срез вблизи базолатеральной стороны



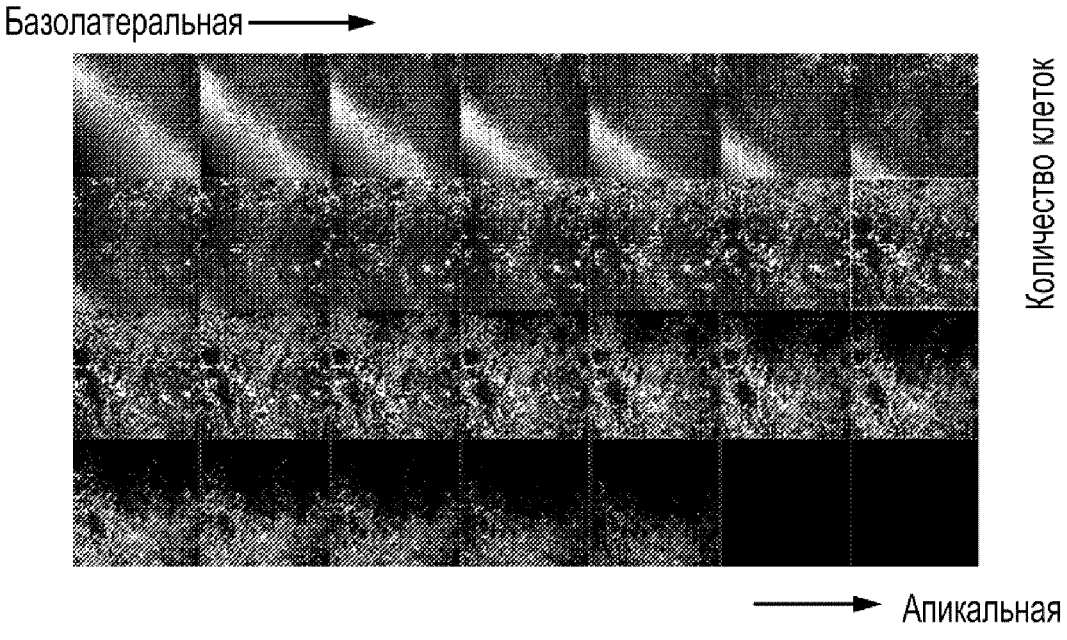
Срез вблизи апикальной стороны

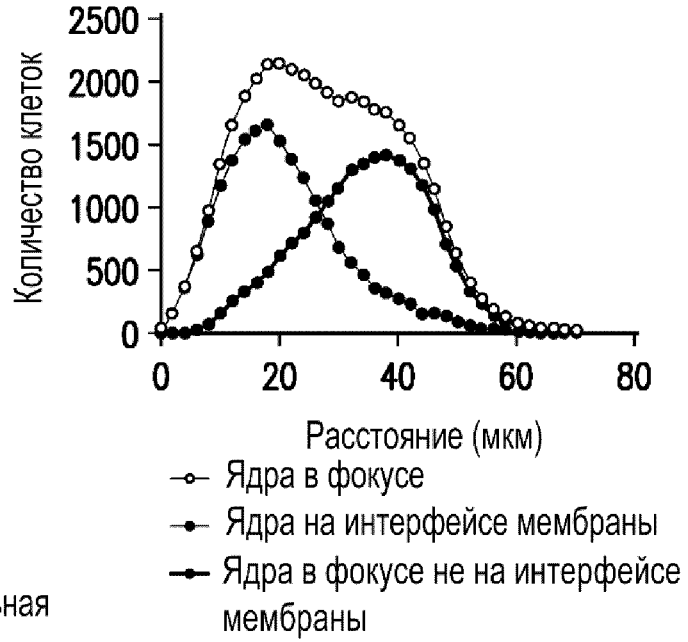


Синий: ядро (Hoechst), зеленый: hpIgR (AF488) и красный: VHH2 (AF647)

ФИГ. 23

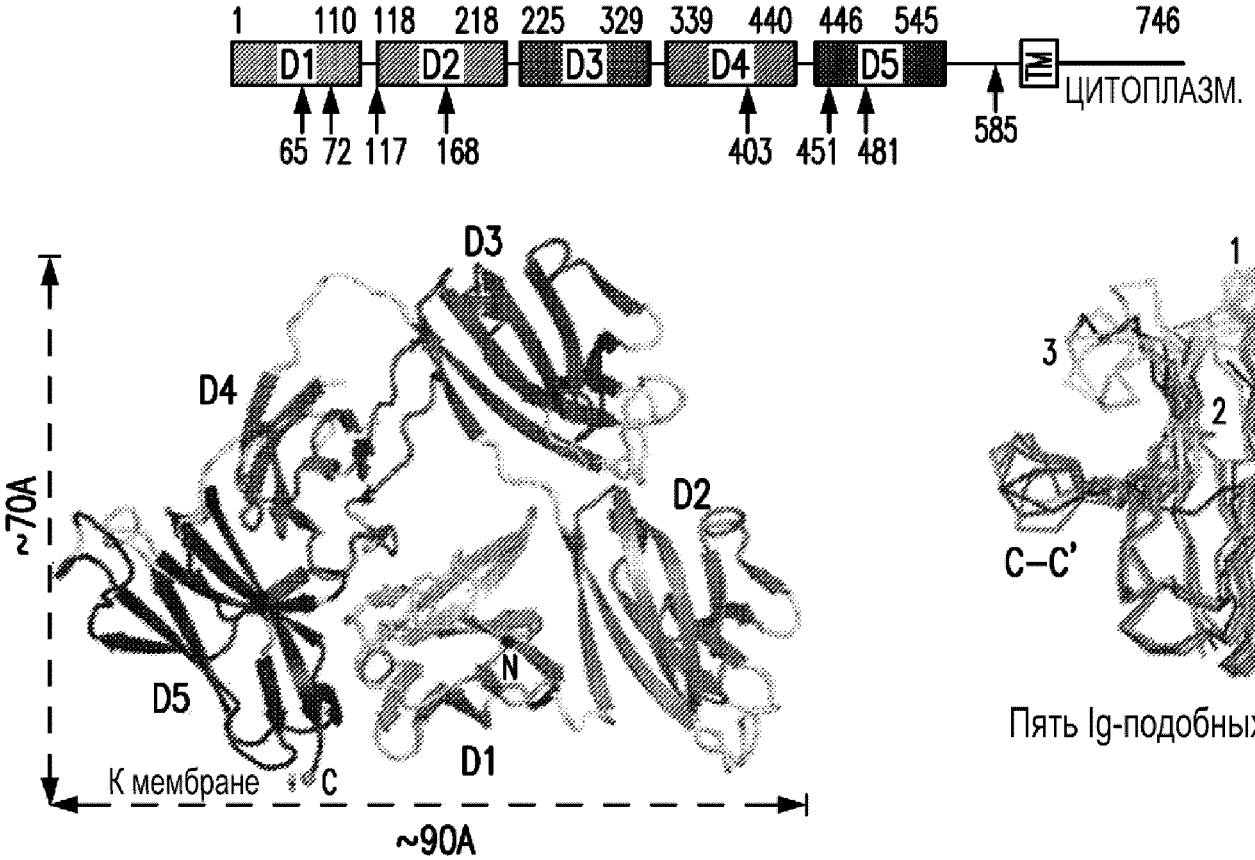
Стратегия визуализации и анализа для Opera Phenix, чтобы исключить артефакты из-за наклонной ткани





ФИГ. 24

Кристаллическая структура hpIgR без лиганда в неактивной конформации



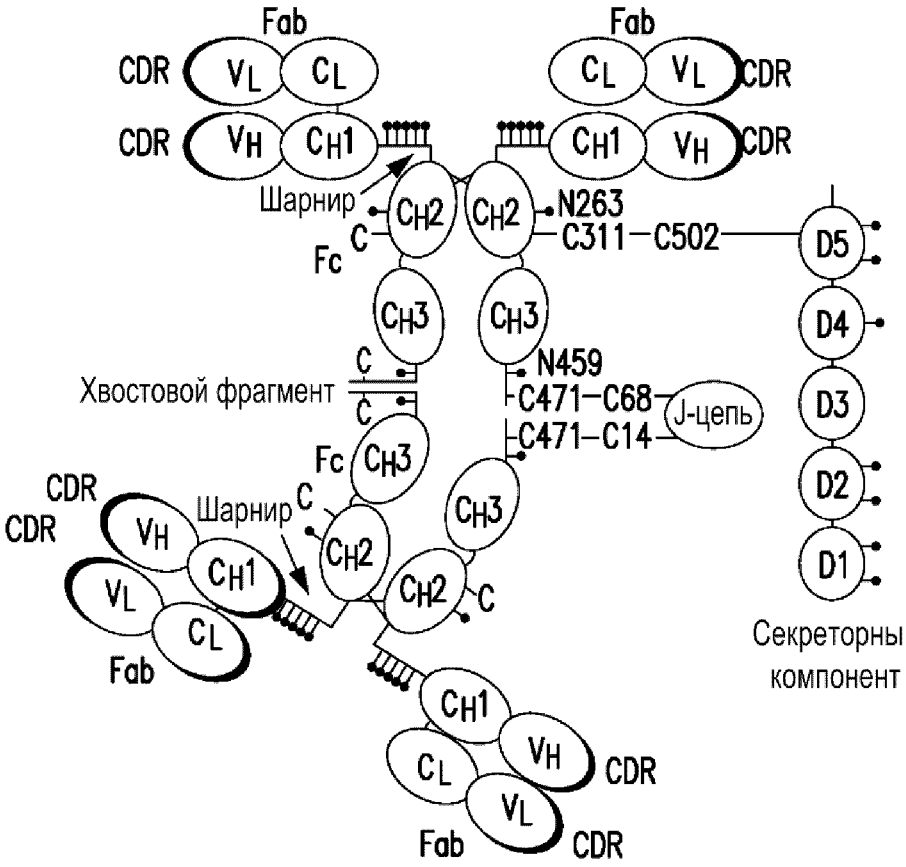
Пять Ig-подобных доменов

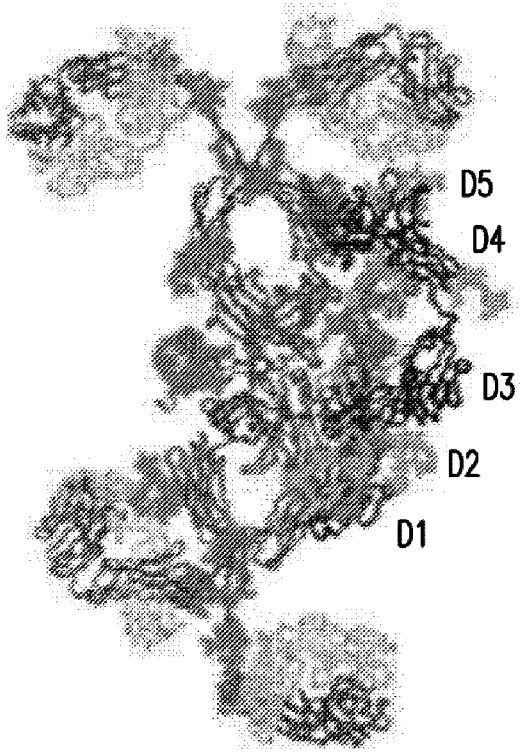
- Пять Ig-подобных внеклеточных доменов организованы в форме треугольника, при этом интерфейс располагается между лиганд-связывающими доменами DI и D5. При связывании лиганда происходит разрыв интерфейса D1–D5.

ФИГ. 25

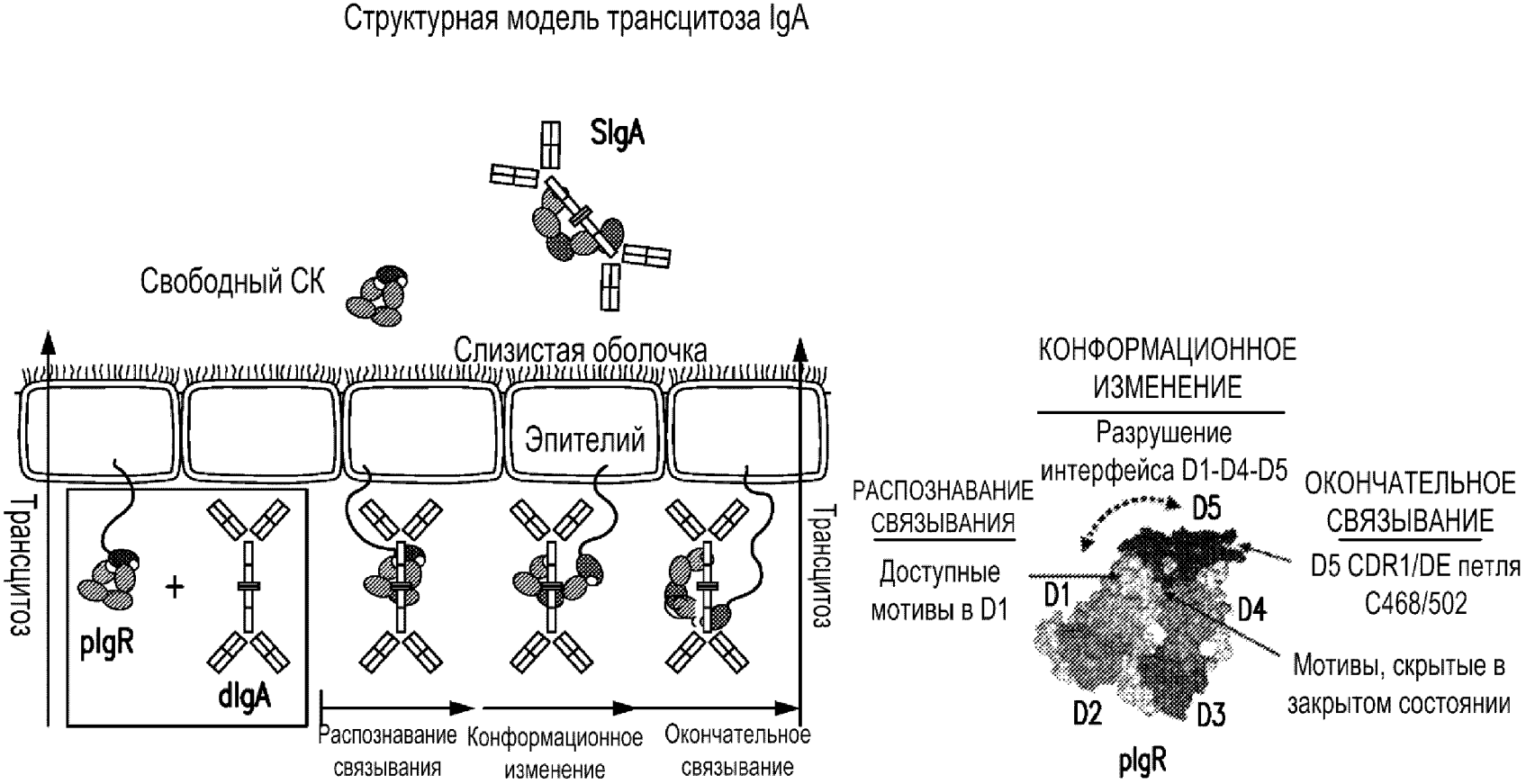
Структура комплекса pIgR:IgA по результатам рассеяния с применением ограниченных моделей

- К настоящему времени нет данных о кристаллической структуре комплекса pIgR:IgA
- Данные молекулы VHH можно использовать в качестве шаперонов кристаллизации для установления структуры комплекса pIgR:IgA

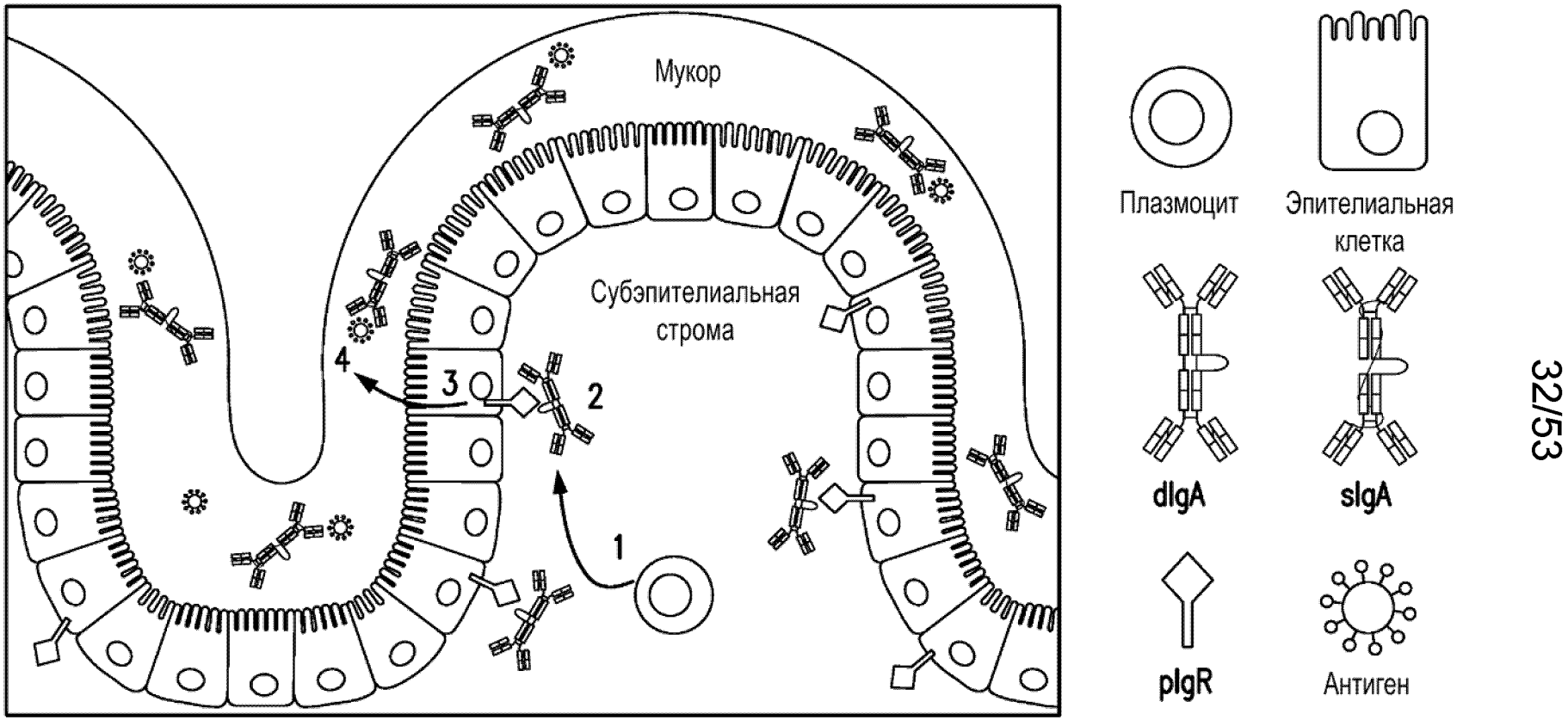




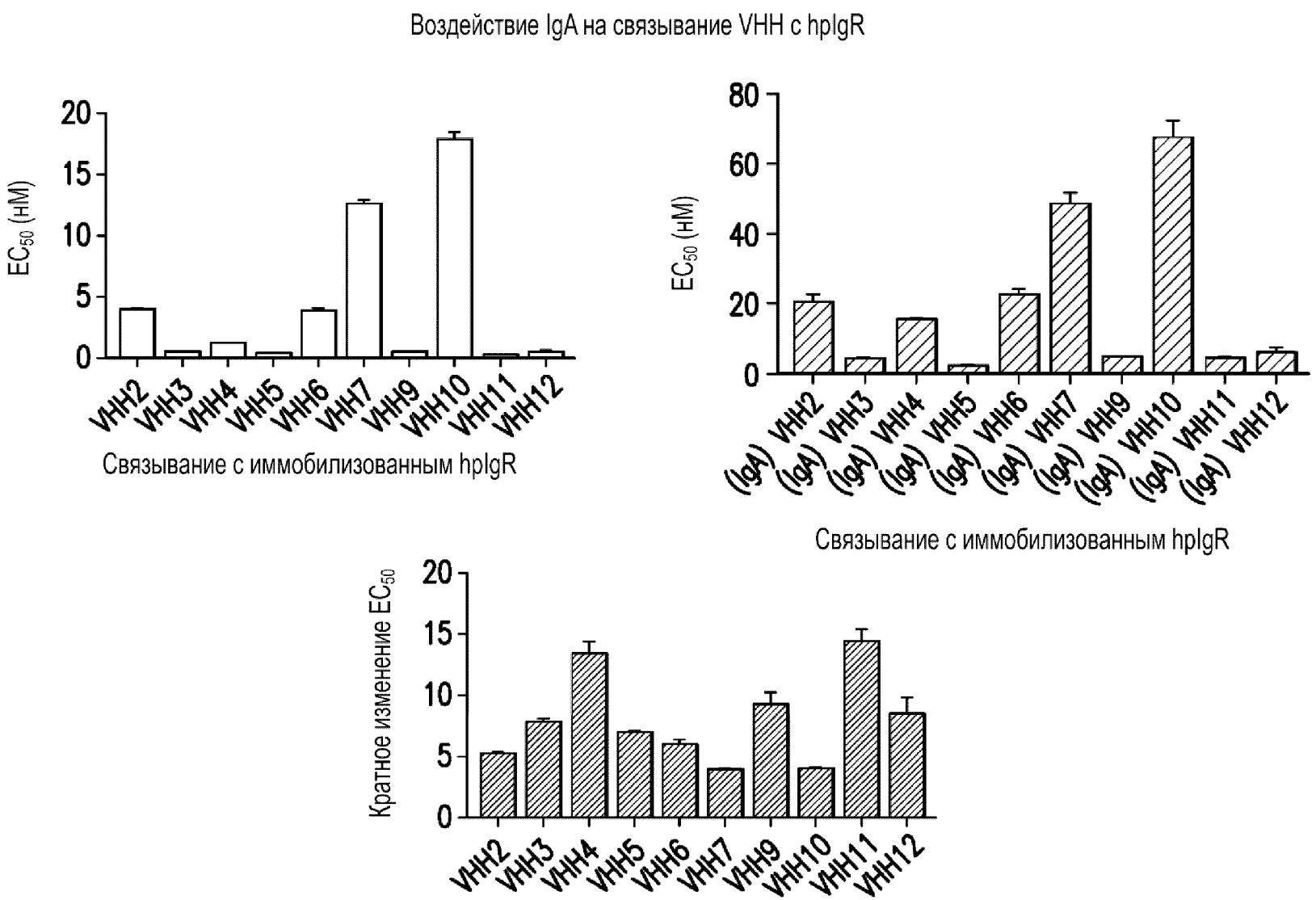
ФИГ. 26


Структурная модель трансцитоза IgA
SIgA
Свободный СК
Слизистая оболочка
Эпителий
Трансцитоз
pIgR
dIgA
Распознавание связывания
Конформационное изменение
Окончательное связывание
КОНФОРМАЦИОННОЕ ИЗМЕНЕНИЕ
Разрушение интерфейса D1-D4-D5
РАСПОЗНАВАНИЕ СВЯЗЫВАНИЯ
Доступные мотивы в D1
ОКОНЧАТЕЛЬНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ
D5 CDR1/DE петля C468/502
D1
D2
D3
D4
D5
Мотивы, скрытые в закрытом состоянии
pIgR

ФИГ. 27А

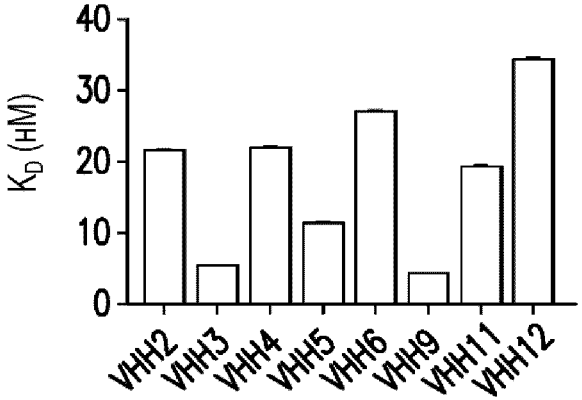

Мукор
Субэпителиальная строма
1
2
3
4
Плазмоцит
Эпителиальная клетка
dIgA
sIgA
pIgR
Антиген

ФИГ. 27B

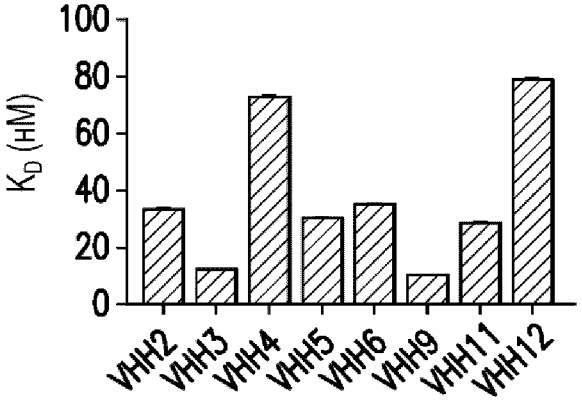

Воздействие IgA на связывание VHH с hpIgR
EC50 (нМ)
20
15
10
5
0
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
Связывание с иммобилизованным hpIgR
EC50 (нМ)
80
60
40
20
0
VHH2 (IgA)
VHH3 (IgA)
VHH4 (IgA)
VHH5 (IgA)
VHH6 (IgA)
VHH7 (IgA)
VHH9 (IgA)
VHH10 (IgA)
VHH11 (IgA)
VHH12 (IgA)
Связывание с иммобилизованным hpIgR
Кратное изменение EC50
20
15
10
5
0
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12

ФИГ. 28А

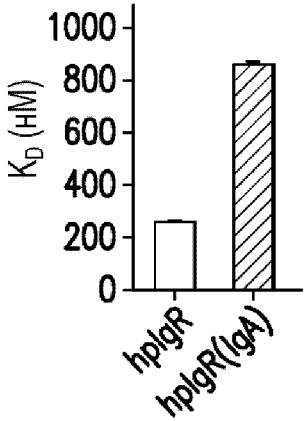
Воздействие IgA на связывание VHH с hpIgR (продолжение)



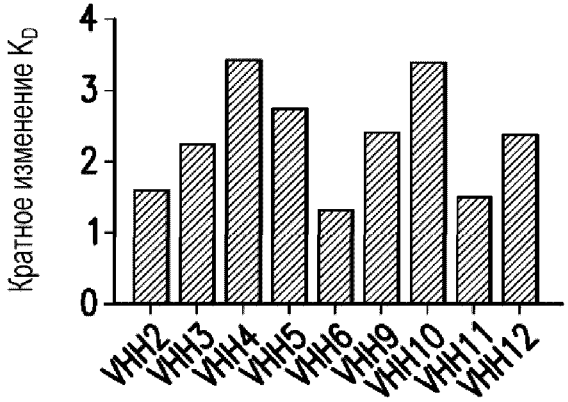
Связывание hpIgR с иммобилизованным VHH



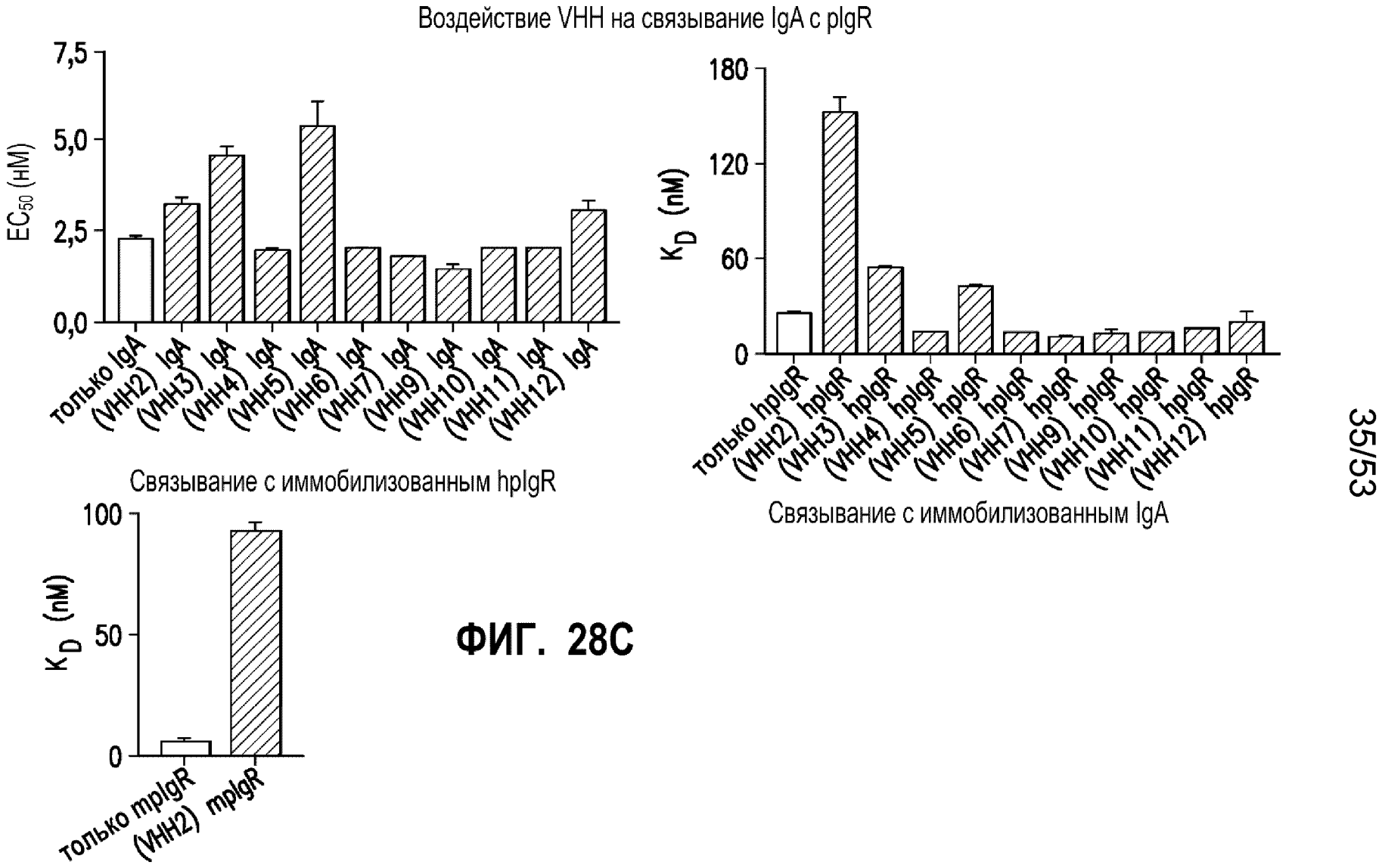
Связывание hpIgR(IgA) с иммобилизованным VHH



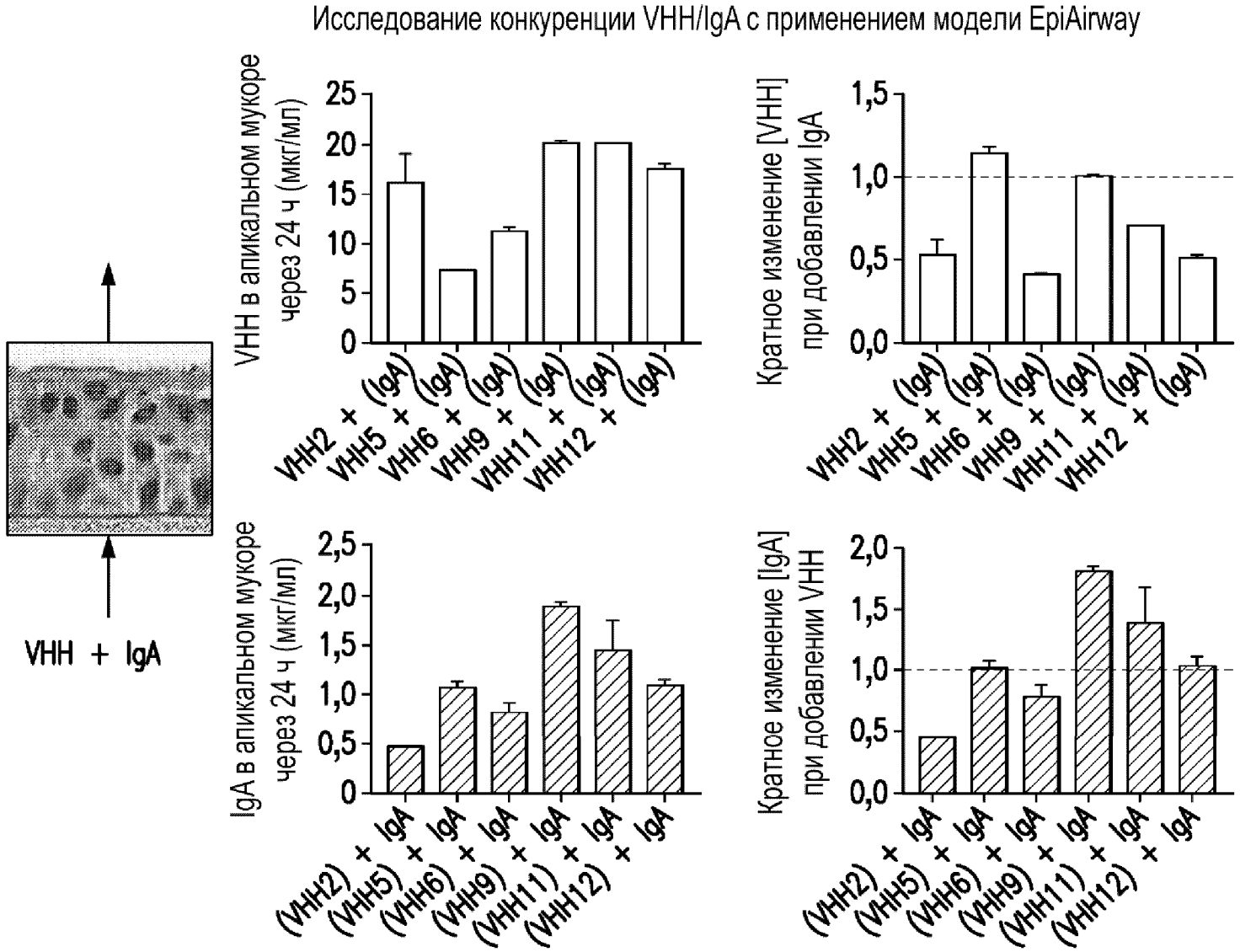
Связывание VHH10 с иммобилизованным hpIgR



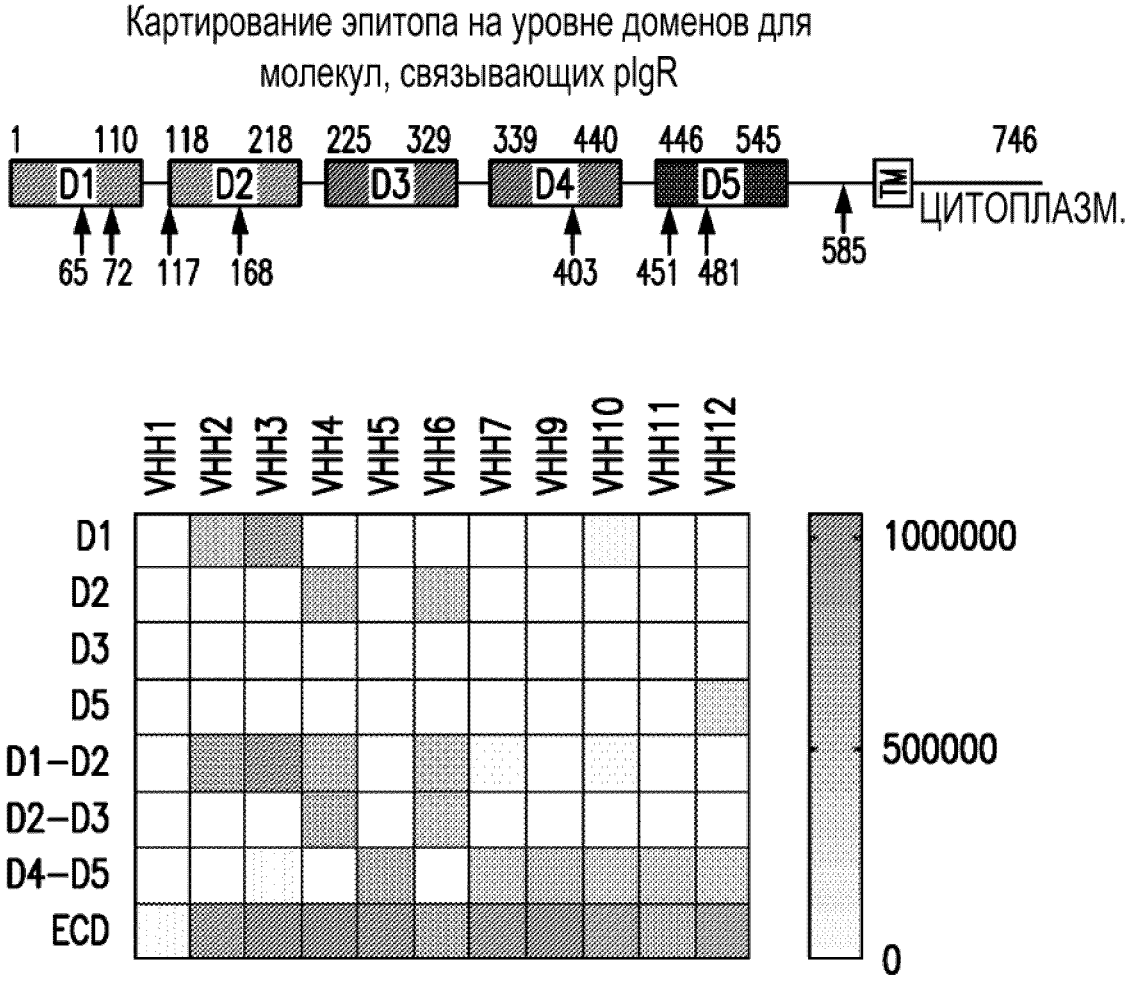
ФИГ. 28В


Воздействие VHH на связывание IgA с pIgR
EC50 (HM)
7,5
5,0
2,5
0,0
только IgA
(VHH2) IgA
(VHH3) IgA
(VHH4) IgA
(VHH5) IgA
(VHH6) IgA
(VHH7) IgA
(VHH9) IgA
(VHH10) IgA
(VHH11) IgA
(VHH12) IgA
Связывание с иммобилизованным hpIgR
KD (nM)
180
120
60
0
только hpIgR
(VHH2) hpIgR
(VHH3) hpIgR
(VHH4) hpIgR
(VHH5) hpIgR
(VHH6) hpIgR
(VHH7) hpIgR
(VHH9) hpIgR
(VHH10) hpIgR
(VHH11) hpIgR
(VHH12) hpIgR
Связывание с иммобилизованным IgA
KD (nM)
100
50
0
только mpIgR
(VHH2) mpIgR
Связывание с иммобилизованным IgA

ФИГ. 28C


Исследование конкуренции VHH/IgA с применением модели EpiAirway
VHH + IgA
VHH в апикальном мукоре через 24 ч (мкг/мл)
25
20
15
10
5
0
VHH2 + (IgA)
VHH5 + (IgA)
VHH6 + (IgA)
VHH9 + (IgA)
VHH11 + (IgA)
VHH12 + (IgA)
Кратное изменение [VHH] при добавлении IgA
1,5
1,0
0,5
0,0
IgA в апикальном мукоре через 24 ч (мкг/мл)
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0
(VHH2) + IgA
(VHH5) + IgA
(VHH6) + IgA
(VHH9) + IgA
(VHH11) + IgA
(VHH12) + IgA
Кратное изменение [IgA] при добавлении VHH
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0

ФИГ. 28D


Картирование эпитопа на уровне доменов для молекул, связывающих plgR
1
110
118
218
225
329
339
440
446
545
746
D1
D2
D3
D4
D5
TM
ЦИТОПЛАЗМ.
65
72
117
168
403
451
481
585
VHH1
VHH2
VHH3
VHH4
VHH5
VHH6
VHH7
VHH9
VHH10
VHH11
VHH12
D1
D2
D3
D5
D1–D2
D2–D3
D4–D5
ECD
1000000
500000
0

ФИГ. 29

Кинетика связывания для молекул, связывающих домен-2 hpIgR

Антиген	VHH	KD (M)	Ошибка KD	kon (1/мсек)	Ошибка kon	kdis (1/сек)	Ошибка kdis
hpIgR ECD	4	7,60E-08	4,56E-10	1,44E+04	5,53E+01	1,10E-03	5,05E-06
hD2	4	8,38E-08	8,53E-10	1,91E+04	1,44E+02	1,60E-03	1,08E-05
hD1-D2	4	7,73E-08	8,70E-10	1,92E+04	1,56E+02	1,49E-03	1,16E-05
hD2-D3	4	8,61E-08	8,15E-10	1,40E+04	8,95E+01	1,20E-03	8,37E-06

Антиген	VHH	KD (M)	Ошибка KD	kon (1/мсек)	Ошибка kon	kdis (1/сек)	Ошибка kdis
hpIgR ECD	6	4,89E-08	2,02E-10	4,47E+04	1,51E+02	2,19E-03	5,16E-06
hD2	6	6,81E-08	4,41E-10	3,95E+04	2,19E+02	2,69E-03	8,94E-06
hD1-D2	6	6,32E-08	5,09E-10	4,00E+04	2,72E+02	2,53E-03	1,09E-05
hD2-D3	6	7,15E-08	4,90E-10	3,48E+04	2,01E+02	2,49E-03	9,17E-06

ФИГ. 30А

Кинетика связывания для молекул, связывающих hplgR D4–D5

Антиген	VHH	KD (M)	Ошибка KD	kon (1/мсек)	Ошибка kon	kdis (1/сек)	Ошибка kdis
hplgR ECD	5	1,00E–08	8,26E–11	1,45E+05	9,66E+02	1,45E–03	7,04E–06
hplgR ECD	9	1,96E–08	1.71E–10	7.93E+04	5,31E+02	1,56E–03	8,69E–06
hplgR ECD	10	2,56E–07	1,31E–08	2,00E+04	9,41E+02	5,13E–03	1,02E–04
hplgR ECD	11	2,79E–08	2,25E–10	1,13E+05	8,31E+02	3,14E–03	1,03E–05
hplgR ECD	12	4.33E–08	2,20E–10	3,83E+04	1,49E+02	1,66E–03	5,40E–06

Антиген	VHH	KD (M)	Ошибка KD	kon (1/мсек)	Ошибка kon	kdis (1/сек)	Ошибка kdis
hD4 D5	5	1,16E–08	6,59E–11	1,11E+05	4,69E+02	1,28E–03	4,87E–06
hD4–D5	9	1,26E–08	1,06E–10	1,33E+05	9,31E+02	1,69E–03	7,80E–06
hD4–D5	10	1,15E–07	3,53E–09	1,63E+04	3,89E+02	1,88E–03	3,66E–05
hD4–D5	11	1,52E–08	1,78E–10	1,84E+05	2,00E+03	2,81E–03	1,23E–05
hD4–D5	12	7,31E–08	6,65E–10	3,85E+04	3,08E+02	2,81E–03	1,23E–05

ФИГ. 30B

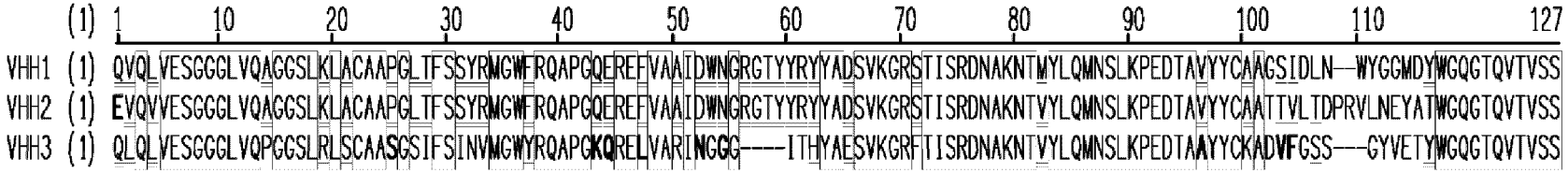
VHH2 и VHH3: представляющие интерес молекулы, связывающие домен-1 plgR

VHH2

K_D для rhplgR: 21 нМ, EC_{50} для MDCK-hplgR: 6 нМ
Перекрестно-реагирующие мышиный и человеческий plgR (более прочное связывание с mplgR)
Трансцитоз-положительные (второй по рангу клон)
Связывает домен-1 hplgR

VHH3

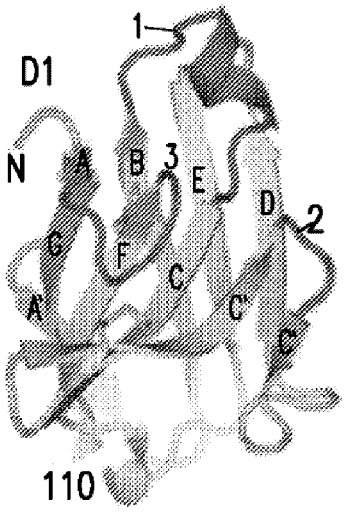
K_D для rhplgR: 5 нМ, EC_{50} для MDCK-hplgR: 6 нМ (то же, что и VHH2)
Перекрестно-реагирующие мышиный и человеческий plgR (более прочное связывание с hplgR)
Трансцитоз-отрицательные
Связывает домен-1 hplgR



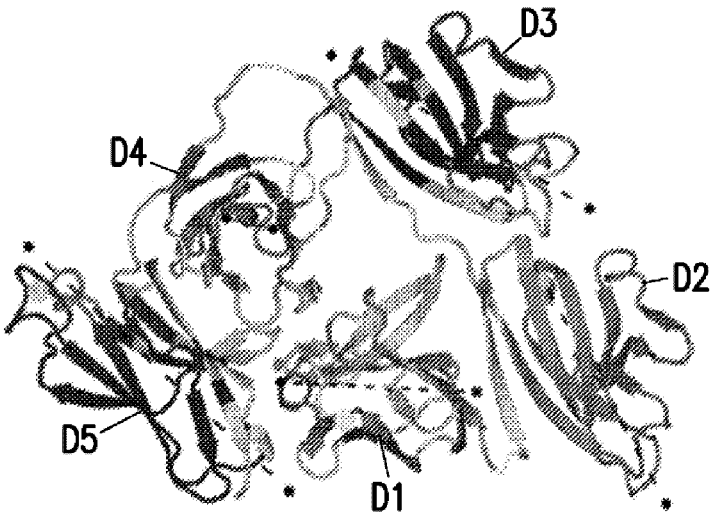
VHHI является CDR3-вариантом VHH2. Он связывается с mplgR, но не с hplgR.
VHH1 использовали в качестве отрицательного контроля при анализе трансцитоза.

ФИГ. 31

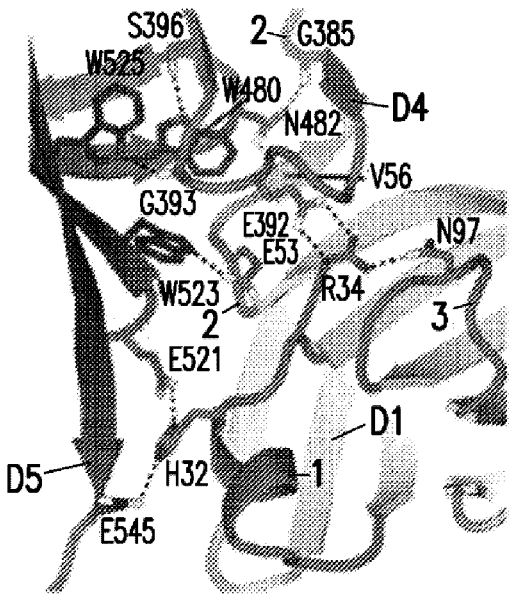
Домен-1 hpIgR необходим для связывания IgA



hpIgR D1



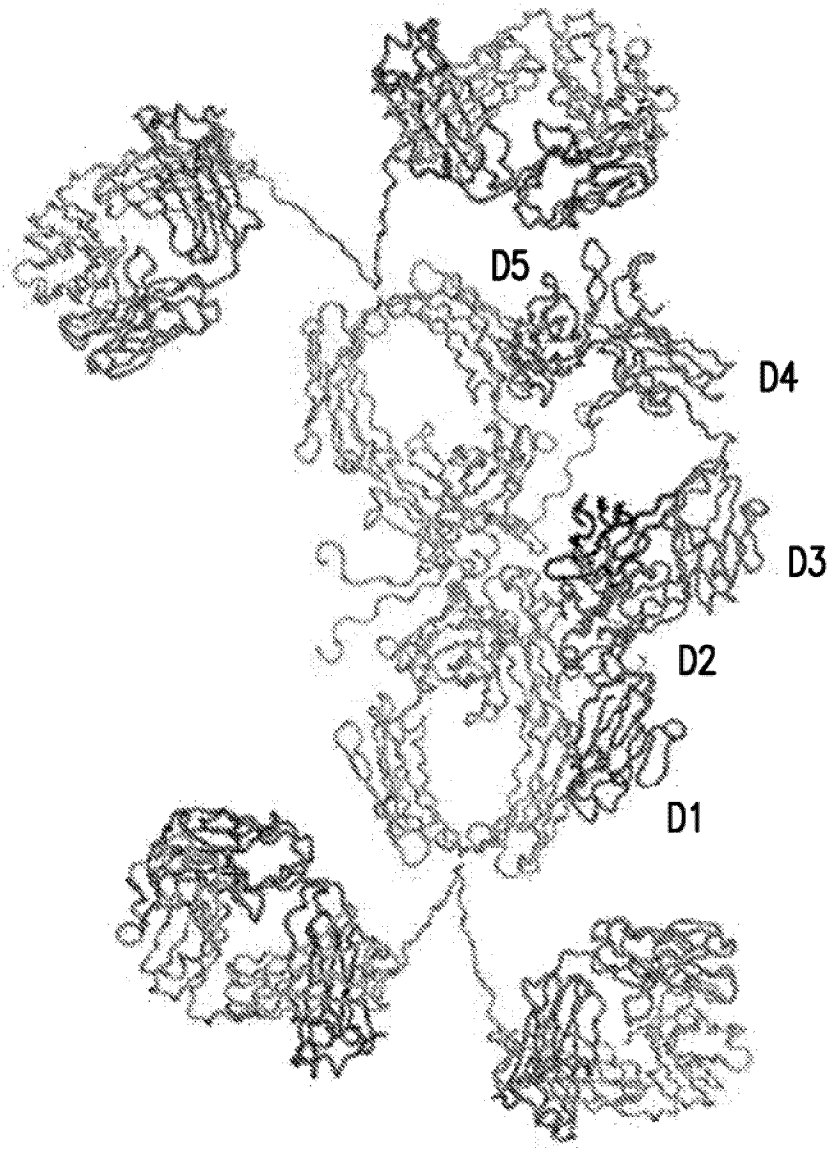
Интерфейс hpIgR ECD



Интерфейс D1-D4-D5

```
          (1)  1        10        20        30        40        50        60        70        80        90        100       110
hpIgR_D1  (1)  KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEVS
mpIgR_D1  (1)  KSPIFGPQEVSSIEGDSVSITCYYPDTSVNRHTRKYWCRQGASGMCTTLISSNGYLSKEYSGRANLINFPENNTFVINIEQLTQDDTGSYKCGLGTSNRGLSFDVSLEVS
Консенсус (1)  KSPIFGP EV SIEG SVSITCYYP TSVNRHTRKYWCRQGA G C TLISS GYLS  YAGRANL NFPEN TFVINI QLSQDDSG YKCGLG  RGLSFDVSLEVS
```

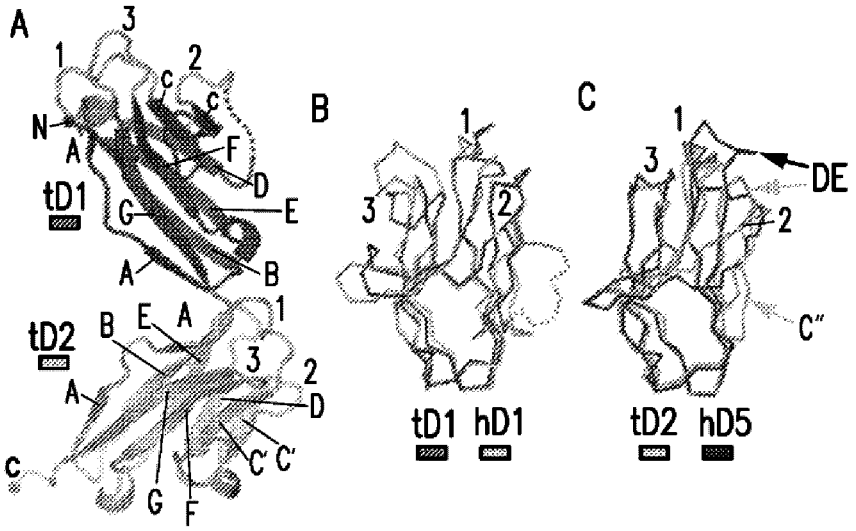
ФИГ. 32A



ФИГ. 32B

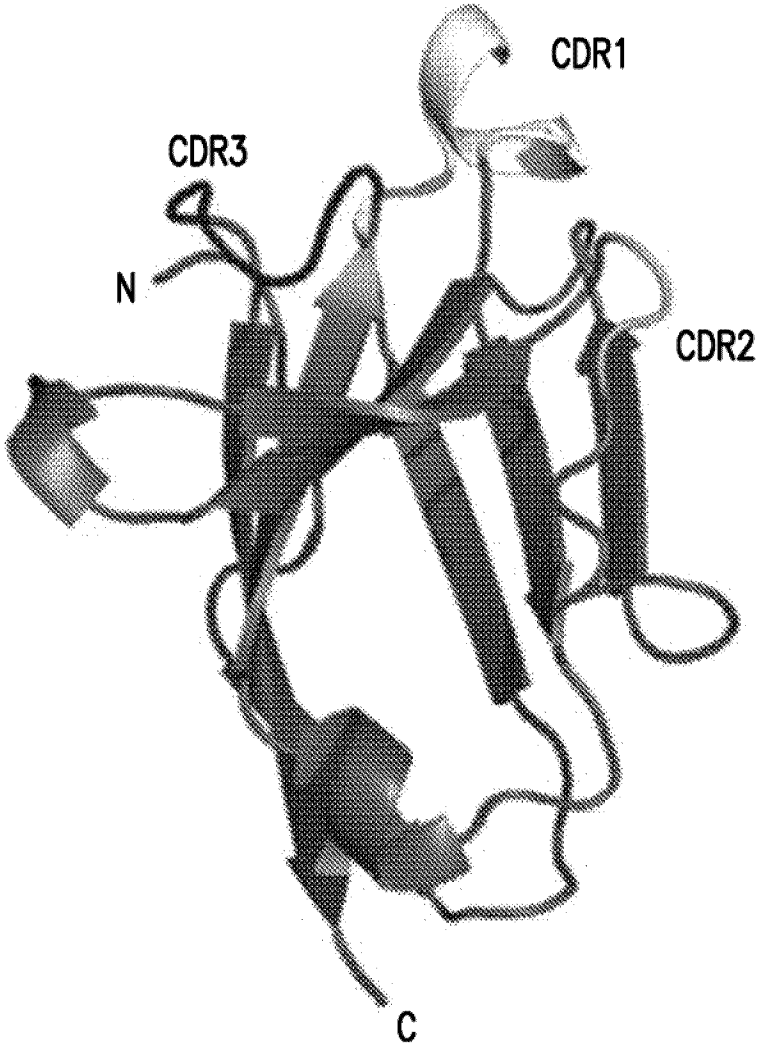
Человек: CDR домена-1 plgR костистой рыбы CDR заменяется для установления различий в характеристиках эпитопа в VHH2 и VHH3

- plgR — наиболее ранний идентифицируемый Fc-рецептор, вначале обнаруживаемый в костистых рыбах



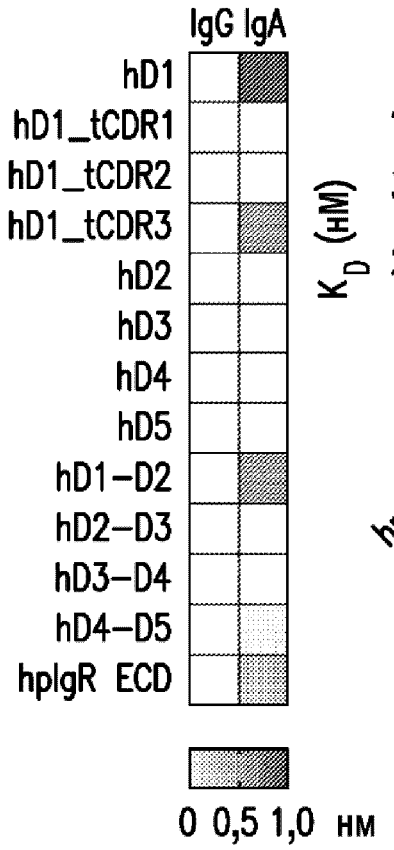

```
                          CDR1                CDR2                          CDR3
(1) 1        10        20        30        40        50        60        70        80        90        100       117
hpIgR_D1(1) KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPE--NGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGIN---SRGLSFDVSLEVS--
tpIgR_D1(1) --RVTTVGDLAVLEGRSVMIPCHYGPQYAS--YVKYWCRGSVKDLCTSLVRSDAPRGPAAAGEDKVVMFDDPVQQVFTVTMTELQKEDSGWYWCGVEVGGVWSADVTASLHINVIQG

(1) 1        10        20        30        40        50        60        70        80        90        100       112
hpIgR_D1(1) KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGIN---SRGLSFDVSLEV
hD1_tCDR1(1) KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYGPQYAS--YRKYWCRQGARGGCITLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGIN---SRGLSFDVSLEV
hD1_tCDR2(1) KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSDAPVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGIN---SRGLSFDVSLEV
hD1_tCDR3(1) KSPIFGPEEVNSVEGNSVSITCYYPPTSVNRHTRKYWCRQGARGGCITLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVVNIAQLSQDDSGRYKCGLGVGGVWSADLSFDVSLEV
```

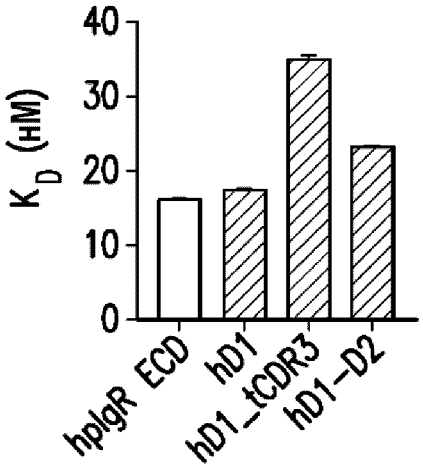
ФИГ. 33А



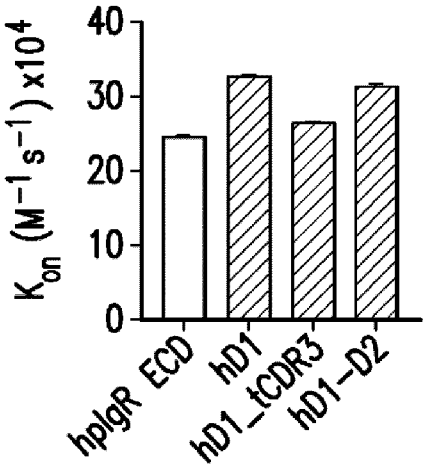
ФИГ. 33B

IgA прочно связывается с доменом-1 hpIgR

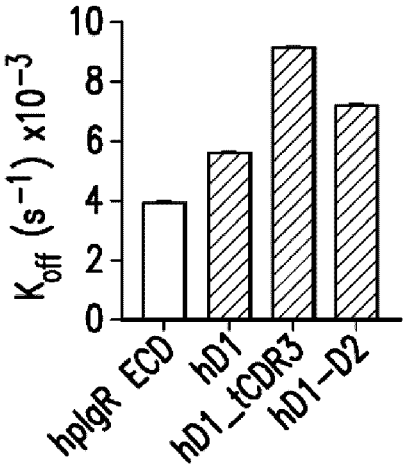




Связывание IgA с иммобилизованным pIgR



Связывание IgA с иммобилизованным pIgR



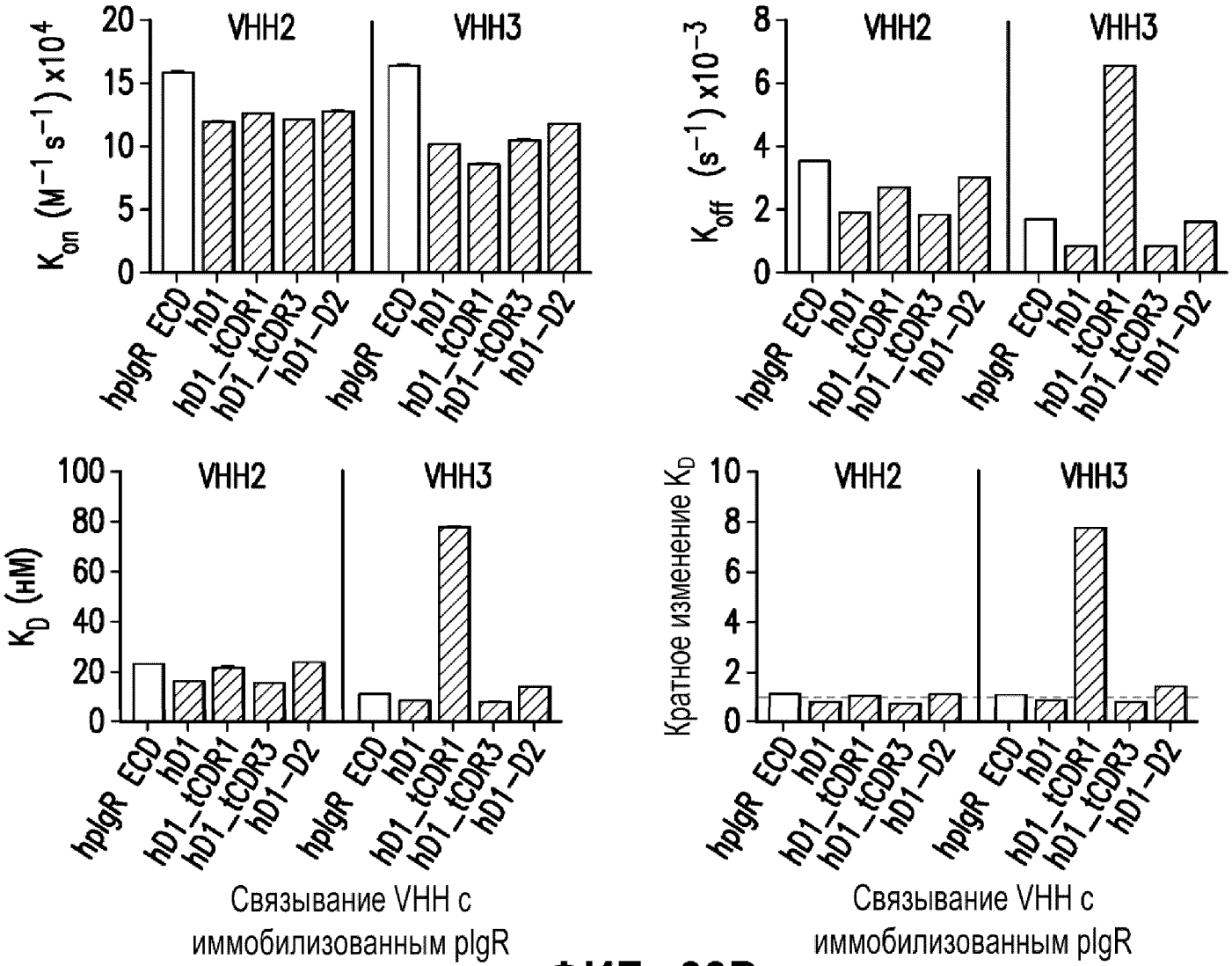
Связывание IgA с иммобилизованным pIgR

IgA слабо связывает hD4–D5 с K_D, равной 1002 ± 174 нМ.

k_{on} = 7,84 ±0,2 $M^{-1}s^{-1}$ (*10^4); k_{off} = 80,14 ±13,4 s^{-1} (*10^{-3})

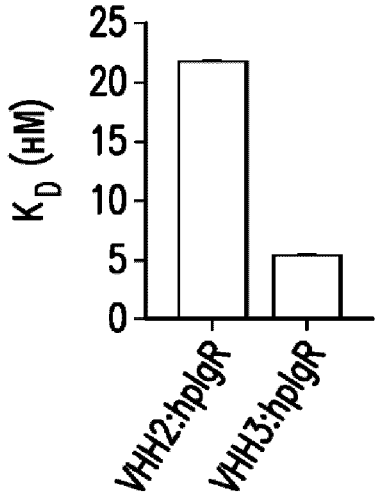
ФИГ. 33C

Сайты связывания VHH2 и VHH3 на домене-1 hpIgR частично перекрываются друг с другом

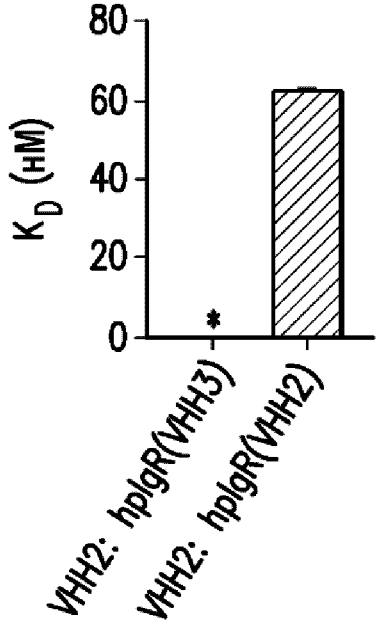


ФИГ. 33D

VHH2 и VHH3 конкурируют друг с другом за связывание



Связывание hplgR с иммобилизованным VHH



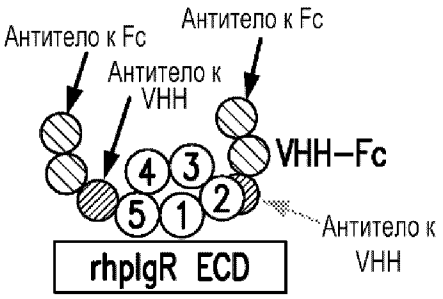
Связывание hplgR(VHH) с иммобилизованным VHH

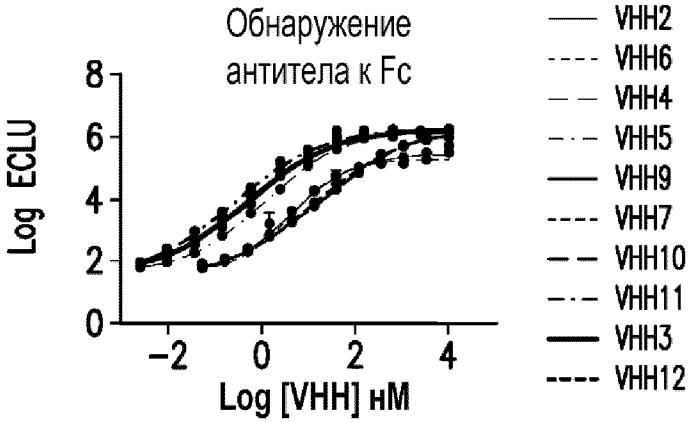
VHH2 не связывается с комплексом plgR-VHH3
VHH3 слабо связывается с комплексом plgR-VHH2

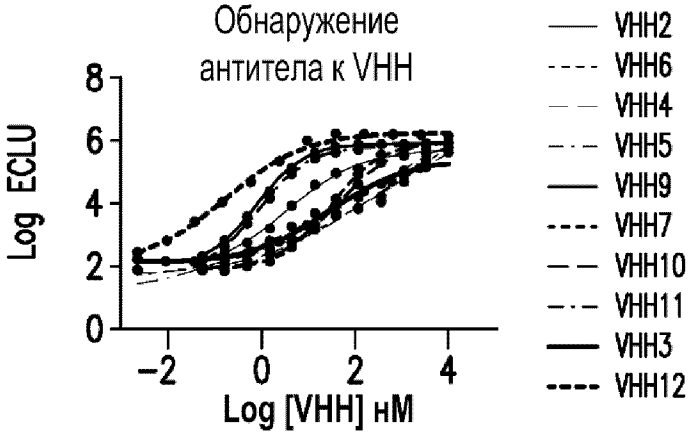
*Нет связывания

ФИГ. 34

VHH3–VHH6 распознают скрытые эпитопы на hplgR



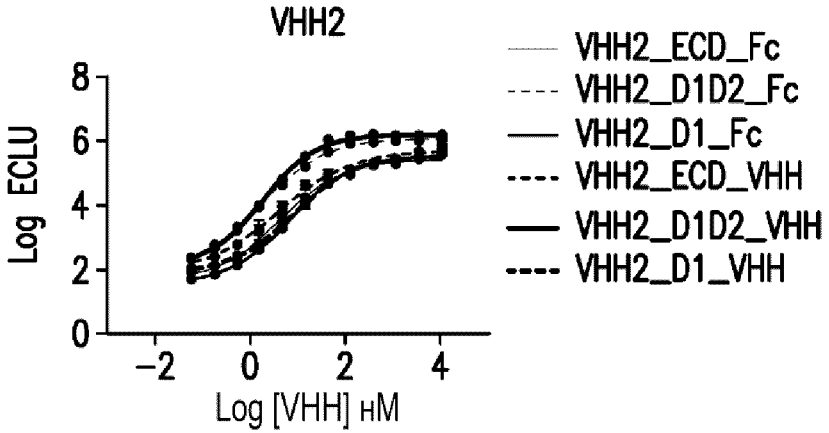


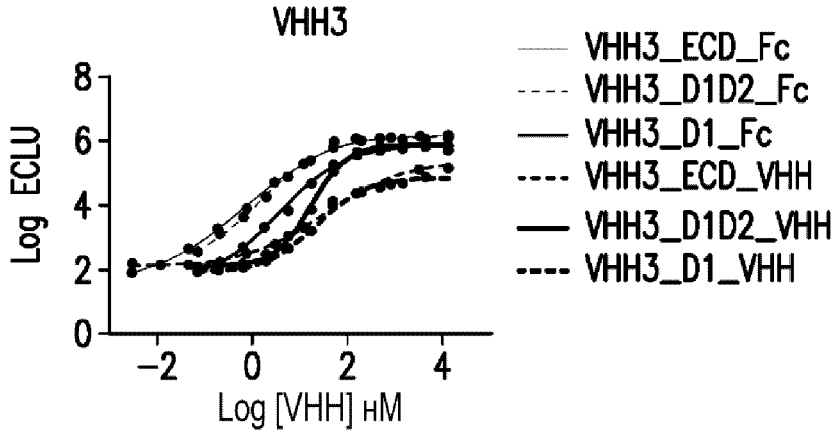


№ VHH	Антитело к Fc, EC_{50} (нМ)	Антитело к VHH, EC_{50} (нМ)	Кратное изменение
VHH2	4,2	4,0	1,0
VHH3	**0,5**	**28,6**	**54**
VHH4	**1,1**	**206,0**	**180**
VHH5	**0,3**	**178,5**	**592**
VHH6	**3,9**	**4187,0**	**1063**
VHH7	12,4	31,1	2,5
VHH9	0,4	0,8	1,8
VHH10	17,6	43,9	2,5
VHH11	0,3	0,8	3,2
VHH12	0,5	0,2	0,4

ФИГ. 35

VHH3 распознает комплексный эпитоп на интерфейсе домена-1 hpIgR

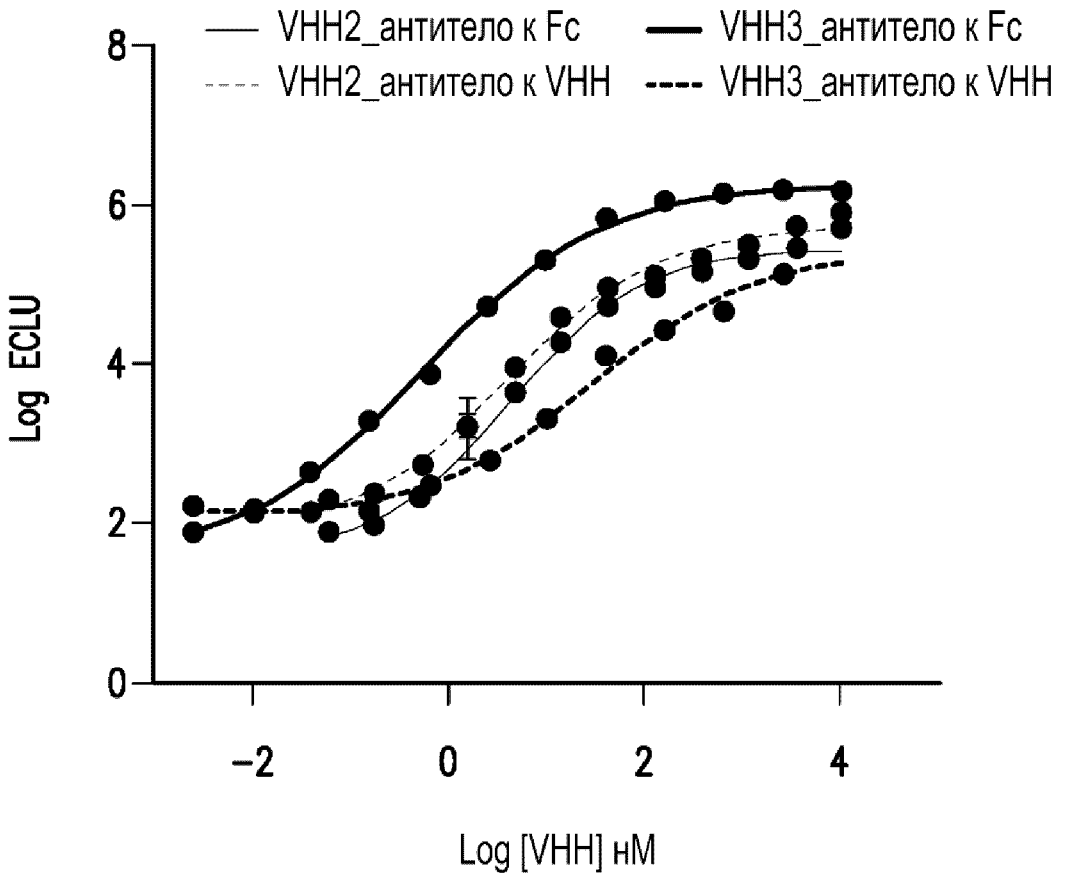




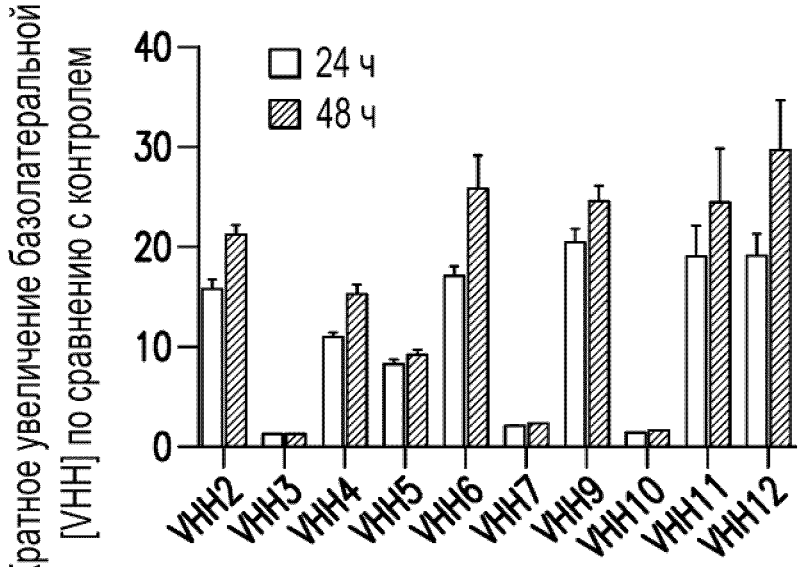
Образец	Антитело к Fc, EC_{50} (нМ)	Антитело к Fc, EC_{50} (нМ)	Кратное изменение
VHH2_ECD	4,2	4,0	1,0
VHH2_D1D2	1,5	1,8	1,2
VHH2_D1	6,8	8,1	1,2

Образец	Антитело к Fc, EC_{50} (нМ)	Антитело к Fc, EC_{50} (нМ)	Кратное изменение
VHH3_ECD	0,5	28,6	54,4
VHH3_D1D2	1,2	13.7	11,9
VHH3_D1	3,1	17,6	5,7

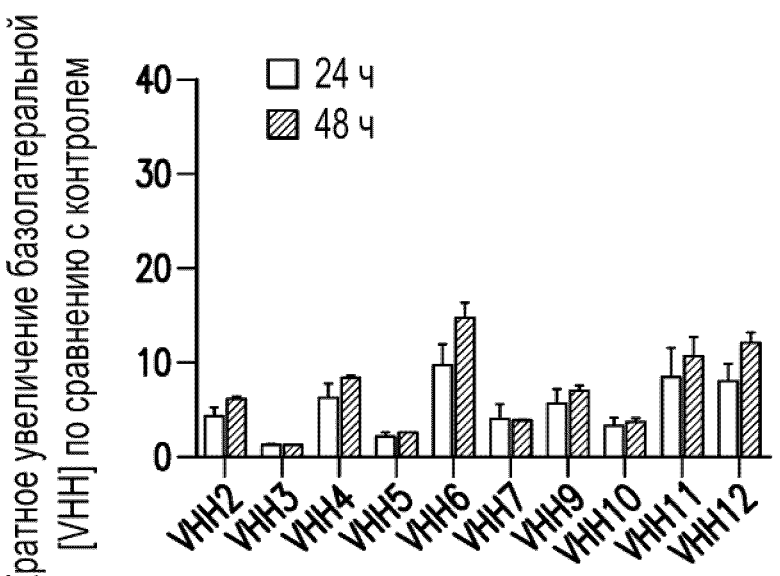
ФИГ. 36А


VHH2_антитело к Fc
VHH3_антитело к Fc
VHH2_антитело к VHH
VHH3_антитело к VHH
Log ECLU
8
6
4
2
0
−2
0
2
4
Log [VHH] нМ

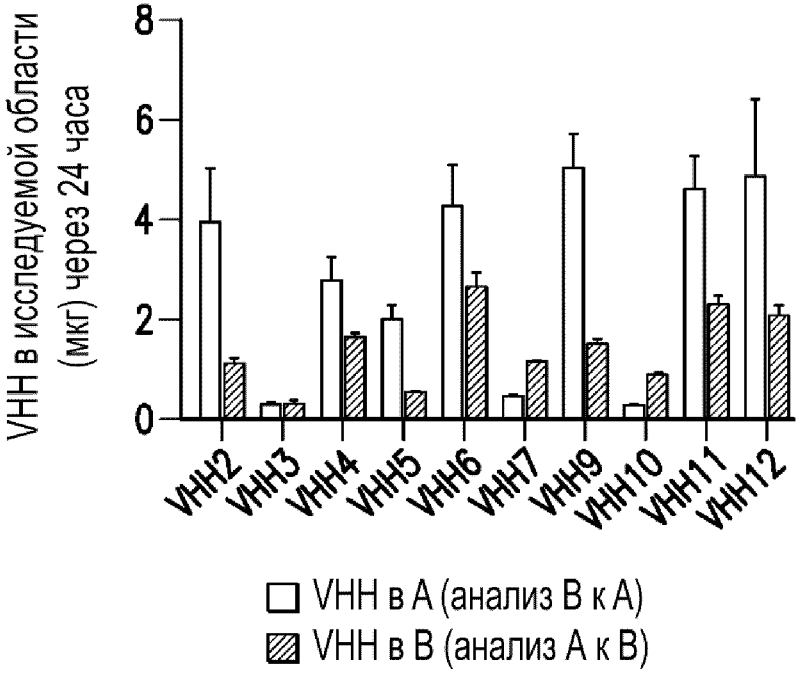
ФИГ. 36B



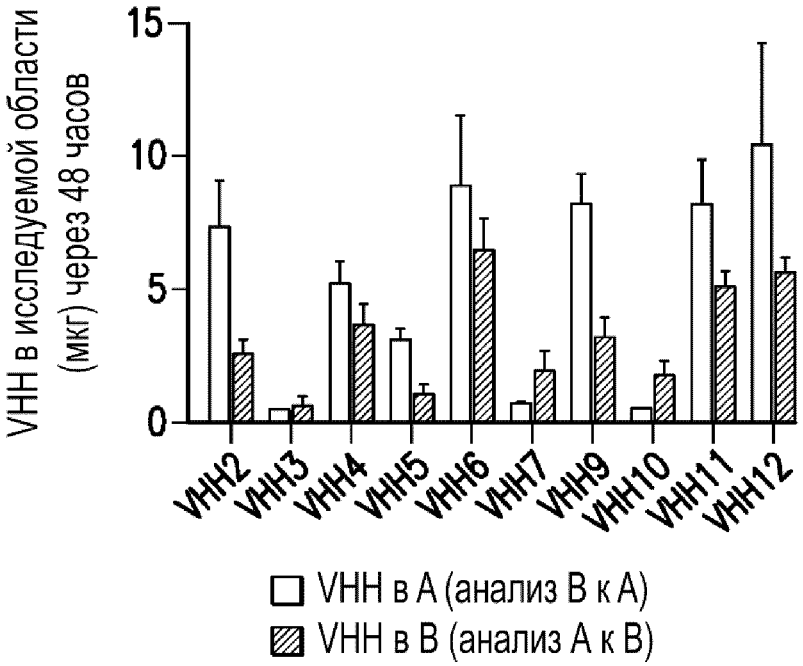
ФИГ. 37A



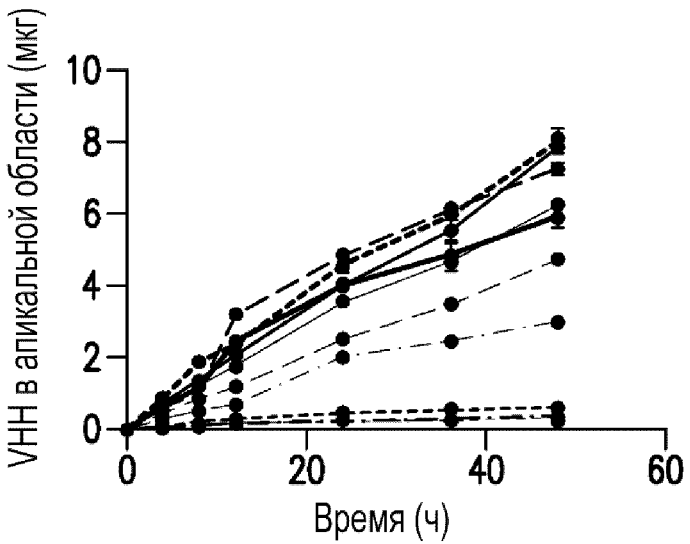
ФИГ. 37B



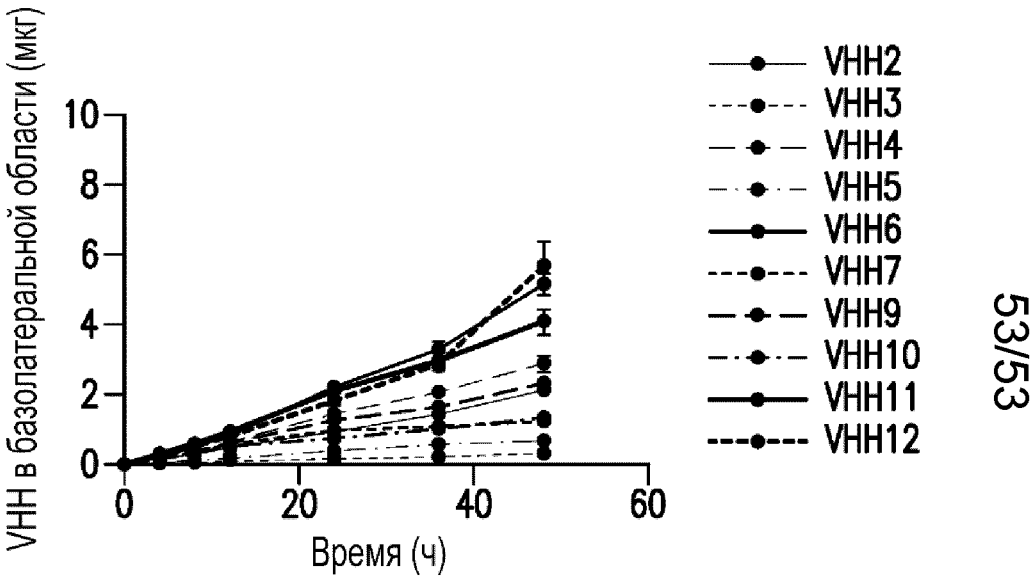
ФИГ. 38A



ФИГ. 38B



ФИГ. 39A



ФИГ. 39B