

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291022 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.08.25

(51) Int. Cl. G01N 33/68 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.09.28

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ АНАЛИЗА ЦЕЛЕВОГО СВЯЗЫВАНИЯ IL-17 С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ МОДУЛЯТОРАМИ

(31) 62/908,195; 62/960,031; 63/077,978
(32) 2019.09.30; 2020.01.12; 2020.09.14
(33) US
(86) PCT/US2020/053102
(87) WO 2021/067191 2021.04.08
(71) Заявитель:
ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)

(72) Изобретатель:
Блевитт Джонатан М., Депримо
Сэмюэл И., Страснер Эйми, Лён
Вайпхин, Де Леон-Табальдо Эйми
Роуз, Сюэ Сяохуа, Голдберг Стивен
(US)
(74) Представитель:
Веселицкий М.Б., Веселицкая И.А.,
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)

(57) Способы измерения свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и низкомолекулярный модулятор IL-17.

202291022

A1

A1

202291022

КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ АНАЛИЗА ЦЕЛЕВОГО СВЯЗЫВАНИЯ IL-17 С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ МОДУЛЯТОРАМИ

5

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает приоритет в соответствии с § 119(e) 35 U.S.C. по предварительной заявке США № 63/077978, поданной 14 сентября 2020 г.; предварительной заявке США № 62/960031, поданной 12 января 2020 г.; и
10 предварительной заявке США № 62/908195, поданной 30 сентября 2019 г., полное описание которых включено в данный документ посредством ссылки.

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПОДАННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

15 Данная заявка содержит перечень последовательностей, который подается в электронном виде посредством EFS-Web как перечень последовательностей в формате ASCII с именем файла «004852.11713/142WO1 (JBI6152WOPCT1)» и датой создания 23 сентября 2020 г., размер 44 Кб. Перечень последовательностей, представленный посредством EFS-Web, является частью описания и полностью включен в настоящий
20 документ путем ссылки.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Интерлейкин-17A (IL-17 или IL-17A) представляет собой цитокин, секретируемый активированными клетками Th17, CD8+ Т-клетками, $\gamma\delta$ Т-клетками и NK-клетками в ответ
25 на цитокины, такие как интерлейкин-23 (IL-23) и трансформирующий фактор роста бета (TGF- β). IL-17 регулирует продуцирование медиаторов, таких как противомикробные пептиды, провоспалительные цитокины и хемокины множеством типов клеток, включая эпителиальные клетки, фибробласты и синовиоциты, которые участвуют в рекрутировании нейтрофилов и патологии повреждения ткани при воспалении или при
30 защите хозяина. IL-17 также действует синергически с другими цитокинами, такими как TNF- α и IL-1 β , для усиления провоспалительной среды.

В связи с его участием в иммунных регуляторных функциях ингибиторы IL-17 (или модуляторы IL-17) исследовали как возможные средства лечения различных аутоиммунных заболеваний. mAb (моноклональные антитела) против IL-17 клинически одобрены для лечения псориаза, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита и продемонстрировали эффективность при лечении рассеянного склероза в исследовании для доказательства концепции. Хотя низкомолекулярные модуляторы для перорального применения IL-17 пока не дошли до клинических испытаний, они остаются привлекательной областью для открытий, поскольку их развитие может расширить варианты лечения для многих пациентов без доступа к биологическим препаратам. (например, S. Liu et al. *Scientific Reports*, 6, 30859, <https://doi.org/10.1038/srep30859>).

Несмотря на клиническую пользу высокомолекулярных модуляторов IL-17 и появление низкомолекулярных модуляторов IL-17 в фармацевтической промышленности, в настоящее время не существует методов анализа целевого связывания, которые могут измерять активность связывания между IL-17 и их низкомолекулярными модуляторами. Таким образом, доступные в настоящее время наборы для иммуноанализа могут измерять только уровень общего IL-17 (включая как связанный с модулятором IL-17, так и свободный IL-17) в образцах с IL-17 и низкомолекулярными модуляторами IL-17. Однако не существует методов специфического обнаружения только свободного IL-17 в присутствии низкомолекулярного модулятора IL-17 для определения связывания с мишенью. Соответственно, отсутствует информация об уровнях целевого связывания IL-17 с низкомолекулярным модулятором.

Более того, хотя биомаркеры, связанные с заболеванием, использовались для мониторинга терапевтических эффектов антител к IL-17 у пациентов, не разработано биомаркеров для отслеживания эффектов антител к IL-17 у здоровых субъектов, которые часто участвуют в исследованиях на ранних стадиях клинической оценки. Измерение, которое может продемонстрировать целевое связывание низкомолекулярного модулятора IL-17 с IL-17 у субъекта (например, человека), важно для продолжения клинических исследований SM-модуляторов.

Таким образом, существует потребность в способах оценки связывания IL-17 с SM-модуляторами в образце и для изучения клинически значимых параметров, таких как фармакокинетическая (PK) и фармакодинамическая (PD) информация, которая, в свою

очередь, может способствовать определению оптимальной дозировки для безопасной и эффективной терапии.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В главном аспекте заявка относится к способу определения количества свободного IL-17 (*m.e.* IL-17, который не связан с SM-модулятором(-ами)) в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор.

В данном документе предложен способ определения количества свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и низкомолекулярный модулятор (SM — англ. small molecule) IL-17, включающий:

- i. приведение образца в контакт с первым захватывающим антителом с образованием смеси, содержащей первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
- ii. приведение смеси со стадии i) в контакт с первым детектирующим агентом с образованием таким образом третьего комплекса, содержащего первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент; и
- iii. определение количества свободного IL-17 путем измерения количества первого детектирующего агента в третьем комплексе,

предпочтительно первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело.

В одном варианте осуществления способа не осуществляют стадию промывки перед приведением в контакт смеси со стадии i) с первым детектирующим агентом.

В данном документе также предложен способ определения целевого связывания SM-модулятора IL-17 у субъекта, включающий а) определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта, перед введением SM-модулятора с использованием способа по п. 1; б) определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта после введения SM-

модулятора с использованием способа по п. 1; и с) сравнение количества свободного IL-17, определенного на стадиях а) и б).

Кроме того, в данном документе предложен способ определения целевого связывания SM-модулятора с IL-17 у субъекта, включающий определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта в двух или более временных точках после введения SM-модулятора с использованием способа по п. 1; и б) сравнение количества свободного IL-17 в двух или более временных точках, определенных на стадии а).

Кроме того, в данном документе предложен способ определения количества связанного с модуляторами IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, включающий:

- i. приведение первой части образца в контакт с первым захватывающим антителом с образованием первой смеси, содержащей первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
- ii. приведение первой смеси со стадии i в контакт с первым детектирующим агентом с образованием таким образом третьего комплекса, содержащего первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент;
- iii. приведение второй части образца в контакт со вторым захватывающим антителом с образованием второй смеси, содержащей пятый комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и шестой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
- iv. приведение второй смеси в контакт со вторым детектирующим агентом с образованием таким образом седьмого комплекса, содержащего второе захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, и восьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент;

- v. определение количества свободного IL-17 путем измерения количества первого детектирующего агента в третьем комплексе;
- vi. определение общего количества IL-17 путем измерения общего количества второго детектирующего агента в седьмом комплексе и восьмом комплексе; и
- vii. определение количества связанного с модуляторами IL-17 в образце путем вычитания количества свободного IL-17, определенного на стадии (v), от общего количества IL-17 на стадии (vi),

предпочтительно, первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело, а второй детектирующий агент представляет собой второе детектирующее антитело.

Кроме того, в данном документе также предложен способ определения целевого связывания SM-модулятора IL-17 у субъекта, включающий определение количества связанного с модулятором IL-17 в образце от субъекта после введения SM-модулятора с использованием способа, описанного выше.

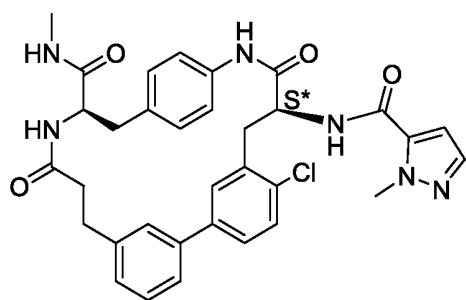
В одном варианте осуществления любого из описанных выше способов SM-модулятор имеет молекулярную массу около 100–1500 г/моль.

В дополнительном варианте осуществления любого из описанных выше способов SM-модулятор имеет молекулярную массу около 400–1050 г/моль, или около 500–1000 г/моль, или около 600–900 г/моль.

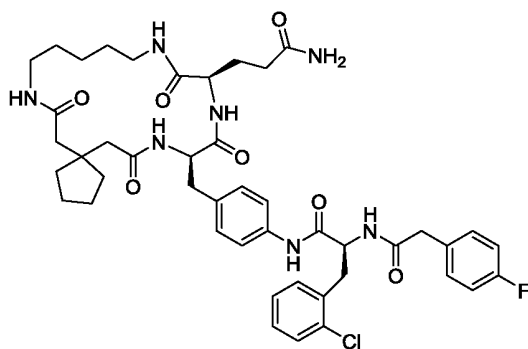
В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов SM-модулятор имеет молекулярную массу около 300–750 г/моль или около 500–800 г/моль, или около 600–900 г/моль.

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов SM-модулятор имеет молекулярную массу около 300–750 г/моль. В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов SM-модулятор имеет молекулярную массу около 500–800 г/моль. В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов SM-модулятор имеет молекулярную массу около 600–900 г/моль.

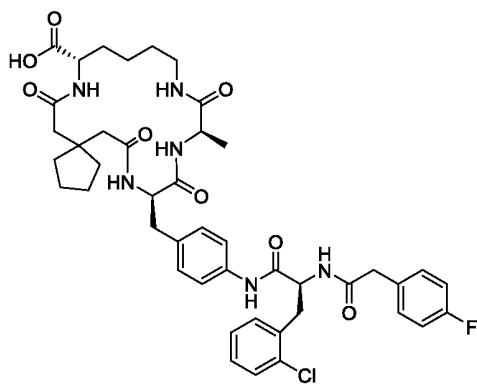
В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов SM-модулятор выбран из группы, состоящей из соединений № 1–6, имеющих следующие структуры, и их фармацевтически приемлемых солей:



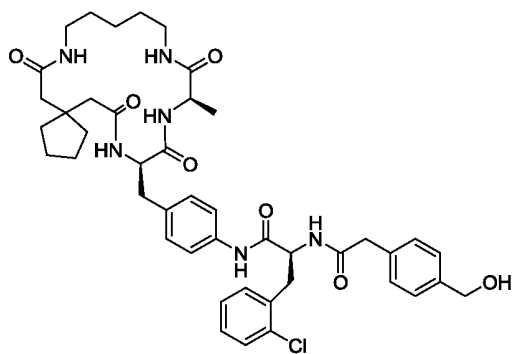
(Соединение № 1)



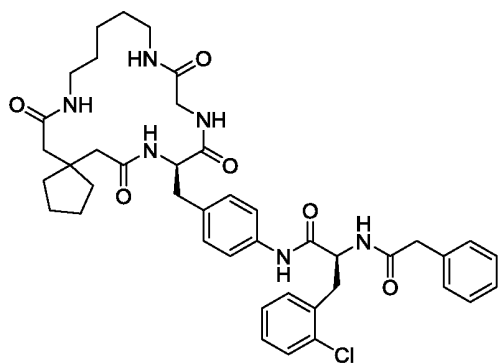
(Соединение № 2)



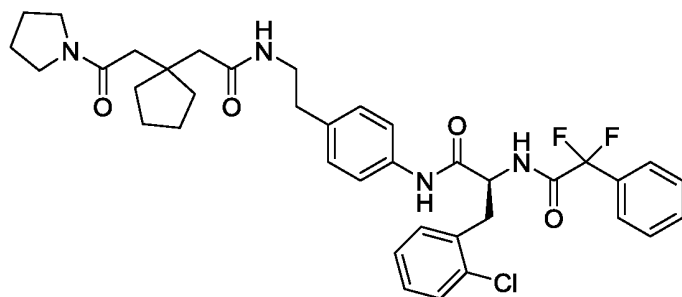
(Соединение № 3)



(Соединение № 4)



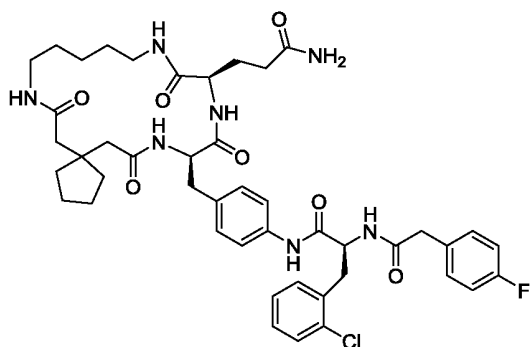
(Соединение № 5)



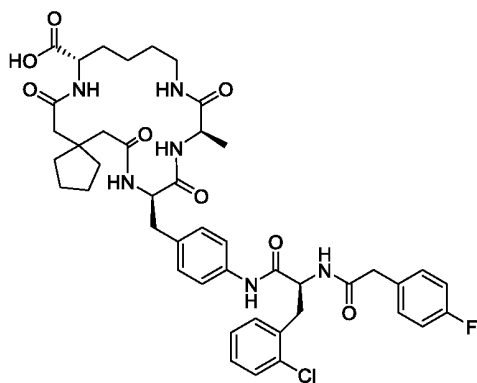
(Соединение № 6).

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов SM-модулятор выбран из группы, состоящей из соединений № 2-6, имеющих следующие

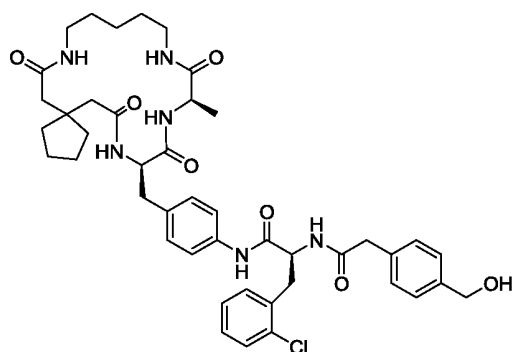
5 структуры, и их фармацевтически приемлемых солей:



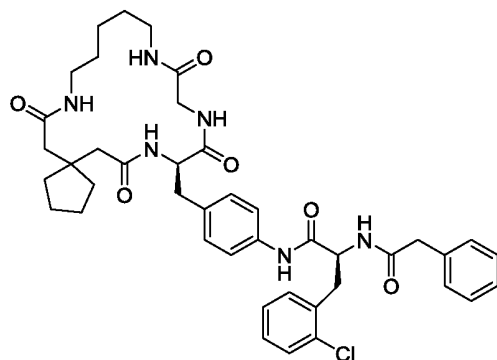
(Соединение № 2)



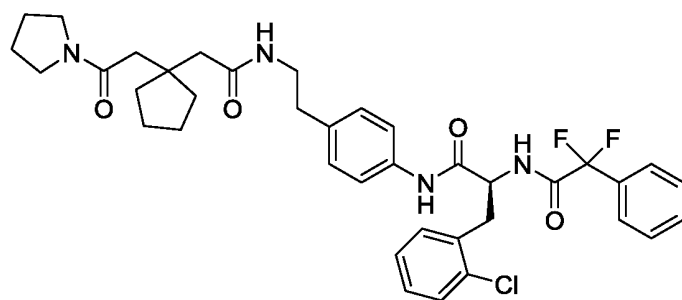
(Соединение № 3)



(Соединение № 4)



(Соединение № 5)



(Соединение № 6).

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов первый и/или второй детектирующий агент помечен детектируемой меткой, более предпочтительно метка представляет собой фермент или биотин.

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов первое захватывающее антитело и первый детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Janssen Biotech, Inc.,	mAb7024	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов первое захватывающее антитело представляет собой захватывающее антитело из набора DuoSet ИФА DY317 (от R&D Systems, Inc.), а первый детектирующий агент представляет собой

5 человеческое антитело mAb4538 (от Janssen Biotech, Inc.).

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17 человека набора для ИФА HS HS170
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	CovalAb R&D (Antibodies Online)	Антитело ABIN1724556
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1184
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17 человека 3520-3-250
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592444
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592430
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS689609
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592432
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Антитело к IL-17/IL-17A DDX0336B-100

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Antibodies Online	ABIN786722
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0334B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0335B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Rockland Immunochemicals Inc.	конъюгированное с биотином антитело к IL-17A 209-306-B32

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент представляют собой захватывающее антитело и детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317 (от R&D Systems, Inc.), соответственно.

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов образец представляет собой биологический образец, полученный от субъекта при *ex vivo* или *in vivo* обработке SM-модулятором. Субъект может быть млекопитающим, предпочтительно человеком. Биологический образец может быть выбран из группы, состоящей из образца, полученного из клеток, тканей или сыворотки, плазмы или другого жидкого биологического образца.

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше способов способ имеет чувствительность обнаружения с нижним пределом количественного определения (LLOQ) около 0,01, или около 0,1, или около 0,25, или около 0,5, или около 0,75, или около 1 пг/мл IL-17 в образце.

Кроме того в данном документе предложен набор для определения количества свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, содержащий:

- i. первое захватывающее антитело, причем при контакте с образцом первое захватывающее антитело образует первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором; и
- ii. первый детектирующий агент, причем при контакте с первым комплексом и вторым комплексом первый детектирующий агент образует третий комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент,

предпочтительно первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело.

Кроме того в данном документе предложен набор для определения количества связанного с модуляторами IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, содержащий:

- i. первое захватывающее антитело, причем при контакте с образцом первое захватывающее антитело образует первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
- ii. первый детектирующий агент, причем при контакте с первым комплексом и вторым комплексом первый детектирующий агент образует третий комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент; и
- iii. второе захватывающее антитело, причем при контакте с образцом второе захватывающее антитело образует пятый комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и шестой

комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;

- iv. второй детектирующий агент, причем при контакте с пятым комплексом и шестым комплексом второй детектирующий агент образует седьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, и восьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, соответственно,

предпочтительно, первый детектирующий агент представляет собой первое

детектирующее антитело, а второй детектирующий агент представляет собой второе детектирующее антитело.

В одном варианте осуществления любого из описанных выше наборов первый детектирующий агент и/или второй детектирующий агент помечен детектируемой меткой, более предпочтительно метка представляет собой фермент или биотин.

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше наборов первое захватывающее антитело и первый детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Janssen Biotech, Inc.,	mAb7024	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше наборов первое захватывающее антитело представляет собой захватывающее антитело из набора DuoSet

ИФА DY317 (от R&D Systems, Inc.), а первый детектирующий агент представляет собой человеческое антитело mAb4538 (от Janssen Biotech, Inc.)

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше наборов второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент выбраны из пар в следующей

5 таблице:

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17 человека набора для ИФА HS HS170
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	CovalAb R&D (Antibodies Online)	Антитело ABIN1724556
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1184
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17 человека 3520-3-250
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592444
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592430
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS689609

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592432
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Антитело к IL-17/IL-17A DDX0336B-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Antibodies Online	ABIN786722
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0334B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0335B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Rockland Immunochemicals Inc.	Конъюгированное с биотином антитело к IL-17A 209-306-B32

В еще одном варианте осуществления любого из описанных выше наборов второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент представляют собой захватывающее антитело и детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317 (от R&D Systems, Inc.), соответственно.

Другие аспекты, признаки и преимущества изобретения станут очевидны из представленного ниже описания, включающего подробное описание изобретения и его предпочтительных вариантов осуществления, и прилагаемой формулы изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Приведенное выше краткое описание, а также приведенное ниже подробное описание предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения будут более понятны при изучении вместе с приложенными графическими материалами. Однако

необходимо понимать, что применение не ограничено точными вариантами осуществления, показанными на графических материалах.

На **ФИГ. 1А-1С** показано схематическое изображение анализа целевого связывания IL-17: **ФИГ. 1А** – иммуноанализ для обнаружения IL-17 с использованием пары захватывающее антитело/детектирующий агент; **ФИГ. 1В** – иммуноанализ для обнаружения свободного IL-17 (но не связанного с модулятором IL-17), в присутствии низкомолекулярного модулятора (SM) с использованием пары захватывающее антитело/детектирующий агент по данному изобретению; и **ФИГ. 1С** – иммуноанализ для обнаружения общего IL-17, включая как свободный IL-17, так и связанный с модулятором IL-17 (т. е. IL-17, связанный с SM-модулятором), с использованием доступной в настоящее время пары захватывающее антитело/детектирующий агент.

На **ФИГ. 2А-2F** показано обнаружение свободного IL-17, но не связанного с модулятором IL-17, с использованием захватывающего антитела набора DuoSet ИФА DY317 (R&D Systems, Inc.), mAb4538 (антитело к IL-17 от Janssen Biotech, Inc.) в качестве детектирующего агента, в образцах, содержащих низкомолекулярные (SM) модуляторы: соединение № 1, соединение № 2, соединение № 3, соединение № 4, соединение № 5 и соединение № 6 соответственно.

На **ФИГ. 3А-3F** показано обнаружение общего IL-17 с использованием набора DuoSet ELISA DY317 в образцах, содержащих модуляторы SM: соединение № 1, соединение № 2, соединение № 3, соединение № 4, соединение № 5 и соединение № 6, соответственно.

На **ФИГ. 4А-4F** показано обнаружение общего IL-17 с использованием захватывающего антитела из набора DuoSet ИФА DY317, соединенного с антителом ABIN1724556 (от Covalab Antibodies Online) в качестве детектирующего агента в образцах, содержащих SM-модуляторы: соединение № 1, соединение № 2, соединение № 3, соединение № 4, соединение № 5 и соединение № 6, соответственно.

На **ФИГ. 5А-5В** показано обнаружение свободного IL-17 с использованием захватывающего антитела из набора DuoSet ИФА DY317, соединенного с mAb4538 в качестве детектирующего агента в образцах, содержащих диапазон концентраций SM-модуляторов.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

В разделе «Предпосылки создания изобретения» и в тексте настоящей заявки приведены цитаты или описания различных публикаций, статей и патентов; причем каждая из этих ссылок полностью включена в настоящее описание путем ссылки.

5 Описание документов, актов, материалов, устройств, изделий или т. п., которые были включены в настоящее описание, приведено в качестве контекста для изобретения. Такое описание не является допущением того, что любой из таких источников или все такие источники являются частью предшествующего уровня техники в отношении каких-либо описываемых или заявленных изобретений.

10 Если не указано иное, все технические и научные термины в данном документе имеют общепринятое значение, понятное любому специалисту в области, к которой относится данное изобретение. В ином случае, определенные термины в данном документе имеют значения, установленные в настоящем описании. Все патенты, опубликованные заявки на патенты и публикации, процитированные в настоящем документе, включены в
15 него путем ссылки, как если бы они были полностью изложены в настоящем документе.

Необходимо отметить, что в настоящем документе и в приложенной формуле изобретения форма единственного числа включает объекты и во множественном числе, если из контекста явно не следует иное.

Если не указано иное, термин «по меньшей мере», предшествующий ряду
20 элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу в этом ряду. Специалисты в данной области смогут определять или с помощью лишь стандартных экспериментов смогут устанавливать множество эквивалентов конкретных вариантов осуществления изобретения, как описано в настоящем документе. Подразумевается, что такие эквиваленты включены в изобретение.

25 На протяжении всего данного описания и последующей формулы изобретения, если контекст не требует иного, слово «содержать» и его вариации, такие как «содержит» и «содержащий», следует понимать как означающие включение упомянутого целого числа или стадии, или группы целых чисел или стадий, но не исключение любого другого целого числа или стадии или группы целых чисел или стадий. При применении в настоящем
30 документе термин «содержащий» может быть заменен термином «состоящий из» или

«включающий в себя» или иногда при применении в настоящем документе может быть заменен термином «имеющий».

При применении в настоящем документе термин «состоящий из» исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не упомянутый в элементе формулы изобретения. При применении в настоящем документе термин «состоящий по существу из» не исключает материалы или стадии, которые не оказывают существенного влияния на основные и новые характеристики формулы изобретения. Любые из вышеупомянутых терминов «содержащий», «состоящий из», «включающий» и «имеющий» при применении в настоящем документе в контексте аспекта или варианта осуществления заявки могут быть заменены термином «состоящий из» или «состоящий по существу из» для варьирования объемов описания.

В настоящем документе соединительный термин «и/или» между множеством перечисляемых элементов следует понимать как включающий как отдельные, так и комбинированные варианты. Например, если два элемента соединены «и/или», первый вариант относится к возможности применения первого элемента без второго. Второй вариант относится к возможности применения второго элемента без первого. Третий вариант относится к возможности применения первого и второго элементов вместе. Подразумевается, что любой из этих вариантов соответствует значению и, соответственно, удовлетворяет требованию термина «и/или» в контексте данного документа. Кроме того, подразумевается, что одновременное применение более одного из этих вариантов соответствует значению и, соответственно, удовлетворяет требованию термина «и/или».

Если не указано иное, любые числовые значения, такие как концентрация или диапазон концентраций, описанные в настоящем документе, следует понимать как модифицированные во всех случаях термином «около». Таким образом, числовое значение, как правило, включает $\pm 10\%$ от указанного значения. Например, концентрация 1 мг/мл включает от 0,9 мг/мл до 1,1 мг/мл. Аналогичным образом диапазон концентраций от 1 мг/мл до 10 мг/мл включает от 0,9 мг/мл до 11 мг/мл. В настоящем документе применение числового диапазона явным образом включает все возможные поддиапазоны, все отдельные числовые значения в пределах этого диапазона, включая целые числа в пределах таких диапазонов и дробные значения, если из контекста явно не следует иное.

Фраза «процент идентичности последовательностей» или «идентичность последовательностей» или «% идентичный» при использовании со ссылкой на аминокислотную последовательность описывают количество совпадений («попаданий») идентичных аминокислот двух или более совмещенных аминокислотных последовательностей по сравнению с количеством аминокислотных остатков, образующих общую длину аминокислотных последовательностей. Другими словами, с использованием выравнивания для двух или более последовательностей процент аминокислотных остатков, которые являются одинаковыми (например, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 97 %, 98 %, 99 % или 100 % идентичности по всей длине аминокислотных последовательностей), могут быть определены, когда последовательности сравниваются и выровнены для максимального соответствия, как измерено с использованием алгоритма сравнения последовательности, известного в данной области техники, или при ручном совмещении и визуальной проверке. Таким образом, последовательности, которые сравниваются для определения идентичности последовательностей, могут отличаться заменой(-ами), добавкой (-ами) или делецией (-иями) аминокислот. Подходящие программы для выравнивания белковых последовательностей известны специалисту в данной области техники. Процент идентичности последовательностей белковых последовательностей может, например, быть определен с помощью таких программ, как CLUSTALW, Clustal Omega, FASTA или BLAST, например, с использованием алгоритма NCBI BLAST (Altschul SF, et al (1997), *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402).

Используемый в данном документе термин «субъект» означает любое животное, предпочтительно млекопитающее, наиболее предпочтительно человека, которое будет или было подвергнуто лечению способом в соответствии с вариантом осуществления изобретения. В настоящем документе термин «млекопитающее» охватывает любое млекопитающее. Примеры млекопитающих включают, без ограничений, коров, лошадей, овец, свиней, кошек, собак, мышей, крыс, кроликов, морских свинок, приматов, не относящихся к человеку (NHP), таких как низшие и высшие обезьяны, людей и т. п., более предпочтительно человека.

В попытке помочь читателю заявки описание было разделено на различные абзацы или разделы или направлено на различные варианты осуществления заявки. Эти разделения не следует рассматривать как разъединение сущности абзаца, или раздела, или

вариантов осуществления от сущности другого абзаца, или раздела, или вариантов осуществления. Напротив, специалисту в данной области техники будет понятно, что описание имеет широкое применение и охватывает все комбинации различных разделов, абзацев и предложений, которые могут быть рассмотрены. Обсуждение любого варианта осуществления предназначено только для примера и не предполагает, что объем описания, включая формулу изобретения, ограничен этими примерами.

Используемый в данном документе термин «IL-17» или «IL-17A» относится к интерлейкину 17A. Он также называется IL17, CTLA8 или CTLA-8. Интерлейкин 17A представляет собой провоспалительный цитокин. Этот цитокин продуцируется типом Т-хелперных клеток, известных как Т-хелперные клетки 17, в ответ на их стимуляцию IL-23. Белок, кодируемый IL17A, представляет собой член семейства IL-17, включая IL17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E и IL-17F. IL-17E также известен как IL-25. Все члены семейства IL-17 имеют аналогичную структуру белка. IL-17 регулирует активность белковых киназ NF-каппаВ и митогена. Он может стимулировать экспрессию IL-6 и циклооксигеназы-2 (PTGS2/COX-2), а также улучшить продукцию оксида азота (NO). Высокие уровни IL17 связаны с несколькими хроническими воспалительными заболеваниями, включая ревматоидный артрит, псориаз и рассеянный склероз. «IL-17» включает IL-17A от любого вида животного, а также рекомбинантный продукт IL-17A. IL-17 может быть в гомодимере IL-17A или в гетеродимере IL-17A и IL-17F. Иллюстративная аминокислотная последовательность IL-17 человека представлена в GenBank № NP_002181.1, она может быть кодирована нуклеотидной последовательностью, такой как GenBank № NM_002190.3.

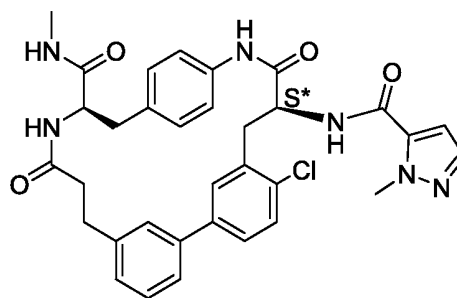
Используемый в данном документе термин «модулятор» относится к любым агентам или молекулам, которые могут связываться с IL-17, включая низкомолекулярные соединения и высокомолекулярные соединения, такие как антитела.

Термины «низкомолекулярный(-ые) модулятор(-ы)» и/или «SM-модулятор(-ы)» и/или «SM-модулятор(-ы) IL-17» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к любому низкомолекулярному соединению, которое может связываться с IL-17, и имеет молекулярную массу в диапазоне от около 100 г/моль до около 1500 г/моль, или от 400 г/моль до около 1050 г/моль, или от 500 г/моль до около 1000 г/моль, или от около 600 г/моль до около 900 г/моль, или от около 300 г/моль до около 750 г/моль, или от около

500 г/моль до около 800 г/моль. Альтернативно, SM-модуляторы могут иметь молекулярную массу от нижнего предела около 100 г/моль или 200 г/моль или около 300 г/моль или около 400 г/моль или около 500 г/моль или около 600 г/моль до верхнего предела около 400 г/моль или около 500 г/моль, или около 600 г/моль, или около 700 г/моль, или около 800 г/моль, или около 900 г/моль, или около 1000 г/моль, или около 1100 г/моль, или около 1200 г/моль, или около 1300 г/моль, или около 1400 г/моль, или около 1500 г/моль.

Термины «высокомолекулярный модулятор (модуляторы)» и/или «LM-модулятор(-ы)» и/или «LM-модулятор(-ы) IL-17» используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к любому высокомолекулярному соединению (например, антителам, белкам и т. д.), которые могут связываться с IL-17 и иметь молекулярную массу более чем около 1500 дальтон или предпочтительно иметь молекулярную массу в диапазоне от около 2000 дальтон до около 250000 дальтон. Дальтон (символ Да) используется в данном документе в виде единицы молярной массы, при этом определение 1 Да = 1 г/моль

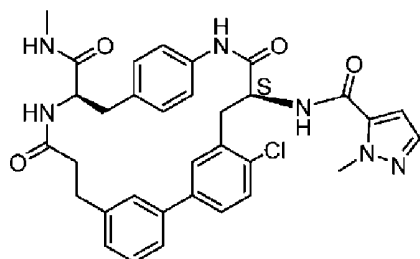
Для низкомолекулярных соединений абсолютная стереохимия указана в соответствии с системой R-S Cahn-Ingold-Prelog. Хиральные центры, для которых известна абсолютная конфигурация, отмечены префиксами R и S, которые присвоены в соответствии со стандартной процедурой правила последовательностей, и им при необходимости предшествуют соответствующие локанты (Pure & Appl. Chem. 45, 1976, 11–30). Некоторые примеры содержат химические структуры, показанные или обозначенные как (R*) или (S*). Когда (R*) или (S*) используется в названии соединения или в химическом представлении соединения, это означает, что соединение представляет собой чистый единичный изомер с данным стереоцентром; однако абсолютная конфигурация этого стереоцентра не была установлена. Таким образом, соединение, обозначенное как (R*), относится к соединению, которое представляет собой чистый одиночный изомер, при этом стереоцентр имеет абсолютную конфигурацию либо (R), либо (S), и соединение, обозначенное как (S*), относится к соединению, которое представляет собой чистый одиночный изомер, в котором стереоцентр имеет абсолютную



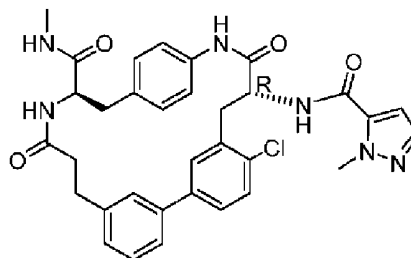
конфигурацию (R) или (S). Например,

относится к

соединению, которое представляет собой либо:



или



5 Используемый в данном документе термин «свободный IL-17» относится к молекуле(-ам) IL-17, которая(-ые) не связана с низкомолекулярным модулятором или высокомолекулярным модулятором в биологическом образце.

Термины «образец» и «биологический образец» используются в данном документе взаимозаменяемо и охватывают различные типы образцов, полученные из организма, и
10 могут использоваться в анализе с целью диагностики или мониторинга. Термины охватывают кровь и другие жидкие образцы, образцы твердых тканей, такие как образцы биопсии или ткани, или клетки, полученные из них, и их потомство. Термины охватывают образцы, которые подвергались манипуляциям любым способом после их получения, например, путем обработки реагентами, солюбилизации или обогащения для
15 определенных компонентов. Термин охватывает клинический образец, а также включает образцы клеток в клеточной культуре, супернатантов клеток, клеточных лизатов, сыворотки, плазмы, биологических жидкостей и тканей.

В контексте данного документа термин «антитело» используется в широком смысле и включает иммуноглобулин или молекулы антител, включая человеческие,
20 гуманизированные, составные и химерные антитела и фрагменты антител, которые являются моноклональными или поликлональными. В целом антитела представляют собой белки или пептидные цепи, которые демонстрируют специфичность связывания с

конкретным антигеном. Антитело может быть получено, например, из любого вида и может представлять собой IgM, IgG (например, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4), IgD, IgA или IgE.

При использовании в настоящем документе термин «антигенсвязывающий фрагмент» относится к фрагменту антитела, такому как, например, диатело, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv-фрагмент, стабилизированный дисульфидными связями Fv-фрагмент (dsFv), (dsFv)₂, биспецифический dsFv (dsFv-dsFv'), стабилизированное дисульфидными связями диатело (ds-диатело), одноцепочечная молекула антитела (scFv), однодоменное антитело (sdab), scFv-димер (двухвалентное антитело), мультиспецифическое антитело, образованное из части антитела, содержащей одну или более CDR, верблюжье однодоменное антитело, нанотело, доменное антитело, двухвалентное доменное антитело или любой другой фрагмент антитела, который связывается с антигеном, но не содержит полной структуры антитела.

Термин «моноклональное антитело» в данном документе относится к препарату антител одномолекулярной композиции.

Используемый в данном документе термин «поликлональное антитело» относится к композиции различных молекул антител, которые способны связываться с несколькими различными специфическими антигенными детерминантами или взаимодействовать с ними на одном и том же или на разных антигенах. Изменчивость антигенной специфичности поликлонального антитела обусловлена переменными областями отдельных антител, составляющих поликлональное антитело, в частности, в определяющих комплементарность областях CDR1, CDR2 и CDR3.

Используемый в данном документе термин «захватывающий агент» относится к агенту, который специфически связывается с IL-17 независимо от того, связан ли IL-17 с модулятором или нет. Термин «захватывающий агент» предназначен для охвата указанных агентов, таких как антитела или растворимые рецепторы, которые специфически связываются с IL-17, не связанным с модулятором, и IL-17, связанным с модулятором. Такие захватывающие агенты, такие как захватывающие антитела, могут быть коммерчески доступными или исследуемыми агентами. Захватывающие агенты, такие как захватывающие антитела, могут быть обеспечены в растворе или предварительно нанесены на поверхность.

Используемый в данном документе термин «детектирующий агент» относится к агенту, который специфически связывается с IL-17, не связанным с модулятором, или IL-17, связанным с модулятором, или и тем, и другим. В предпочтительном варианте осуществления термин «детектирующий агент» относится к агенту, который

5 специфически связывается с IL-17, не связанным с модулятором, но не связанным с IL-17, связанным с модулятором. «Детектирующий агент», такой как детектирующее антитело или детектирующий растворимый рецептор, можно использовать для обнаружения IL-17, не связанного с модулятором, или IL-17, связанного с модулятором. Детектирующие агенты, такие как детектирующие антитела, могут быть коммерчески доступными или

10 исследуемыми. Детектирующий агент может быть обнаружен любым способом, известным в данной области техники, таким как использование радиоактивной или флуоресцентной метки, или путем связывания непосредственно или опосредованно с ферментом или биотином. Предпочтительно, детектирующий агент, такой как детектирующее антитело, является меченным детектируемой меткой, такой как фермент

15 или биотин.

Фермент может превращать определенные субстраты в детектируемые продукты. Например, фермент может представлять собой один из следующих ферментов, обычно используемых в иммуноферментных анализах (ИФА):

- ☐ Peroксидаза хрена (HRP), часто используемая для конъюгации с белком, превращает о-фенилендиамин дигидрохлорид (OPD) в янтарный продукт;
- ☐ HRP превращает 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (TMB) в голубой продукт, который становится желтым в присутствии серной или фосфорной кислоты;
- ☐ HRP превращает 2,2'-азинобис[3-этилбензотиазолин-6-сульфоновую соль]-диамония (ABTS) в зеленый продукт; и
- ☐ Щелочная фосфатаза превращает p-нитрофенилфосфат (PNPP) в желтый продукт.

Биотин представляет собой водорастворимый витамин B, также называемый витамином B7. Биотин может связываться с авидином, стрептавидином и нейтравидином со значительной аффинностью. Эти белки (авидин, стрептавидин и нейтравидин) могут

30 быть дополнительно конъюгированы с вышеупомянутыми обнаруживаемыми ферментами для получения сигналов.

Термин «специфическое связывание» относится к связыванию между двумя агентами, например, антигеном и антителом, характеризующемуся способностью одного агента (например, антигена) связываться с другим агентом (например, антителом) даже в присутствии многих других различных агентов, т. е. к демонстрации преимущественного связывания одного агента с другим в гетерогенной смеси агентов. Термин KD означает константу диссоциации, которая представляет собой отношение K_d к K_a (т. е. K_d/K_a) и выражается в молярной концентрации (М). В контексте данного документа антитело, которое «специфически связывается» с антигеном, относится к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, который связывается с антигеном с KD, равной 1×10^{-7} М или менее, предпочтительно 1×10^{-8} М или менее, более предпочтительно 5×10^{-9} М или менее, 1×10^{-9} М или менее, 5×10^{-10} М или менее или 1×10^{-10} М или менее. Значения KD для связывающего агента можно определять с помощью способов данной области техники, относящихся к данному описанию. Например, KD антитела может быть определена с помощью поверхностного плазмонного резонанса, например, с помощью системы биосенсоров, например, системы Biacore®, или с использованием технологии интерферометрии биослоев, например, системы Octet RED96. Чем меньше значение KD антитела, тем выше аффинность, с которой антитело связывается с целевым антигеном.

Используемый в данном документе термин «набор» относится к комбинации реагентов и других материалов. Предполагается, что набор может содержать реагенты, такие как буферные агенты, реагенты для стабилизации белка, системы генерации сигналов (например, системы генерации флуоресцентных сигналов), антитела, контрольные белки, а также контейнеры для тестирования (например, планшеты для микротитрования и т. д.). Предполагается, что термин «набор» не ограничивается конкретной комбинацией реагентов и/или других материалов. В одном варианте осуществления набор дополнительно содержит инструкции по применению реагентов. Набор для тестирования может быть упакован любым подходящим способом, как правило, с элементами в одном контейнере или в различных контейнерах, при необходимости вместе с листом-инструкцией по выполнению испытания. В некоторых вариантах осуществления наборы также предпочтительно содержат положительный контрольный образец. Наборы могут быть получены различными способами, известными в данной области техники.

Анализ целевого связывания IL-17

Данная заявка по существу относится к анализу целевого связывания IL-17.

Используя данную заявку для измерения количества свободного IL-17 (т. е. IL-17, не связанного с SM-модулятором (-ами)) в образце, содержащем модулятор(-ы) IL-17 и SM, вместе с анализом для обнаружения общего IL-17, можно определить уровень целевого связывания IL-17 с SM-модулятором.

В исследованиях, включающих SM-модуляторы, доступные в настоящее время анализы могут измерять только общее количество IL-17 в биологическом образце, поскольку детектирующее антитело в анализе не способно дифференцировать свободный IL-17 (т. е. IL-17, не связанный с SM-модулятором(-ами)) и IL-17, связанный с SM-модулятором(-ами). Таким образом, невозможно контролировать связывание между IL-17 и SM-модулятором(-ами) в таких биологических образцах. Однако данная заявка предлагает новые способы определения количества свободного IL-17 в образце в присутствии низкомолекулярных модуляторов IL-17. Путем вычитания количества свободного IL-17 из общего количества IL-17 можно определить уровень связывания IL-17 SM-модулятором в биологическом образце. В результате этот инновационный способ можно использовать для изучения клинически значимых параметров, таких как фармакокинетическая (PK) и фармакодинамическая (PD) информация, что, в свою очередь, может способствовать определению оптимальной дозировки для максимизации эффективности и безопасности. Более того, способы, описанные в данном документе, могут быть применены к здоровым субъектам или пациентам, поскольку инновационные способы могут измерять свободный IL-17 в присутствии SM-модулятора(-ов) независимо от данных заболевания.

Соответственно, в данной заявке предложен способ определения количества свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, причем включающий (см. фиг. 1B):

- i. приведение образца в контакт с первым захватывающим антителом с образованием смеси, содержащей первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй

комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;

- ii. приведение смеси со стадии i) в контакт с первым детектирующим агентом (предпочтительно первым детектирующим антителом) с образованием таким образом третьего комплекса, содержащего первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертого комплекса, содержащего первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент; и
- iii. определение количества свободного IL-17 путем измерения количества первого детектирующего агента в третьем комплексе.

После приведения в контакт образца с первым захватывающим антителом первое захватывающее антитело специфически связывается со свободным IL-17 и IL-17, связанным с SM-модуляторами в образце, с образованием первого и второго комплексов, соответственно, в смеси. В определенных вариантах осуществления первое захватывающее антитело прикреплено к твердому носителю, и смесь содержит первый и второй комплексы IL-17, присоединенные к твердому носителю вместе с остальной частью образца.

В данном документе термин «первый детектирующий агент» относится к агенту, такому как антитело или рецептор, который специфически связывается со свободным IL-17, который захватывается первым захватывающим антителом, но не связанным с модулятором IL-17, который захватывается первым захватывающим антителом. В частности, при контакте первого детектирующего агента с первым и вторым комплексами он образует третий комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, свободный IL-17 и первый детектирующий агент, но не образует четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, связанный с модулятором IL-17 и первый детектирующий агент.

Таким образом, первое захватывающее антитело и первый детектирующий агент используют в паре для измерения количества свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17.

Типичный первый детектирующий агент и первое антитело могут быть выбраны из пар, перечисленных ниже в таблице 1.

Таблица 1 Пары «первый детектирующий агент»/«первое захватывающее антитело» для измерения свободного IL-17

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb732

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Janssen Biotech, Inc.,	mAb7024	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B

Среди первых детектирующих агентов, перечисленных в таблице 1, антитела к IL-17 mAb7024, mAb3584, mAb3077, mAb732, mAb4538 и mAb5548 от Janssen Biotech, inc. раскрыты в патенте США № 8519107, который полностью включен в данный документ

5 путем ссылки. Подробная информация об их последовательности приведена в таблице 2.

Таблица 2. Последовательность антитела

ID антитела	Последовательность
mAb4538	LCDR1 - SEQ ID NO: 1 RASQNVWAFYLA LCDR2 - SEQ ID NO: 2 GASNRAT LCDR3 - SEQ ID NO: 3 QQYRSTLSLT HCDR1 - SEQ ID NO: 4 SSSAAWG HCDR2 - SEQ ID NO: 5 RISYRSKWYNDYAVSVKS HCDR3 - SEQ ID NO: 6 EVDSMYYSYFDI VL - SEQ ID NO: 7

	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNVWAFYLAWEYQQKPGQAPRLLIYGASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQYRSTLSLTFGQGTKVEIK VH - SEQ ID NO: 8 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSSSAAWGWRQSPSRGLEWLGRI SYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREVDS MYYSYFDIWGQGLTVTVSS LC - SEQ ID NO: 9 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNVWAFYLAWEYQQKPGQAPRLLIYGASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQYRSTLSLTFGQGTKVEIKGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWWSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS HC - SEQ ID NO: 10 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSSSAAWGWRQSPSRGLEWLGRI SYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREVDS MYYSYFDIWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
mAb732	LCDR1 - SEQ ID NO: 1 RASQNVWAFYLA LCDR2 - SEQ ID NO: 2 GASNRAT LCDR3 - SEQ ID NO: 11 TQYYSSPSLT HCDR1 - SEQ ID NO: 4 SSSAAWG HCDR2 - SEQ ID NO: 5 RISYRSKWYNDYAVSVKS HCDR3 - SEQ ID NO: 6 EVDSMYYSYFDI VL - SEQ ID NO: 12 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNVWAFYLAWEYQQKPGQAPRLLIYGASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQYRSTLSLTFGQGTKVEIK

	SNRATGIPARFSGSGSGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCTQYYSSPSLTFGQGTKV EIK VH - SEQ ID NO: 8 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSSSAAWGWIRQSPSRGLEWLGRISYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREVDS MYYSYFDIWGQGTLVTVSS LC - SEQ ID NO: 33 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNVWAFYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA SNRATGIPARFSGSGSGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCTQYYSSPSLTFGQGTKV EIKGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVK AGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWWSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAP TECS HC - SEQ ID NO: 10 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSSSAAWGWIRQSPSRGLEWLGRISYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREVDS MYYSYFDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
mAb7024	LCDR1 - SEQ ID NO: 13 RASQGISNWLN LCDR2 - SEQ ID NO: 14 AASSLQS LCDR3 - SEQ ID NO: 15 QQYSDDPT HCDR1 - SEQ ID NO: 16 SYAIS HCDR2 - SEQ ID NO: 17 SIIPWFGTTNYAQKFQG HCDR3 - SEQ ID NO: 18 DSEYYFDH VL - SEQ ID NO: 19 DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQYSDDPTFGQGTKVEIK

	VH - SEQ ID NO: 20 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSII PWFGTTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSEYYF DHWGQGTLTVSS LC - SEQ ID NO: 21 DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSDDPTFGQGTKVEIK GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS HC - SEQ ID NO: 34 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSII PWFGTTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSEYYF DHWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
mAb3584	LCDR1 - SEQ ID NO: 1 RASQNVWAFYLA LCDR2 - SEQ ID NO: 2 GASNRAT LCDR3 - SEQ ID NO: 3 QQYRSTLSLT HCDR1 - SEQ ID NO: 4 SSSAAWG HCDR2 - SEQ ID NO: 5 RISYRSKWYNDYAVSVKS HCDR3 - SEQ ID NO: 35 EVDSIYYSYFDI VL - SEQ ID NO: 7 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNVWAFYLAWYQQKPGQAPRLLIYGA SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQYRSTLSLTFGQGTKV EIK VH - SEQ ID NO: 36

	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSSSAAWGWIQRQSPRGLEWLGRIS YRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREVDSI YYSYFDIWGGQGLVTVSS LC - SEQ ID NO: 9 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQNVWAFYLAQYQQKPGQAPRLLIYGA SNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQYRSTLSLTFGQGTKV EIKGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVK AGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWWSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAP TECS HC - SEQ ID NO: 37 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSSSAAWGWIQRQSPRGLEWLGRIS SYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREVDS IYYSYFDIWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
mAb3077	LCDR1 - SEQ ID NO: 13 RASQGISNWLN LCDR2 - SEQ ID NO: 14 AASSLQS LCDR3 - SEQ ID NO: 15 QQYSDDPT HCDR1 - SEQ ID NO: 16 SYAIS HCDR2 - SEQ ID NO: 38 SIIPWFGWTNYAQKFQG HCDR3 - SEQ ID NO: 18 DSEYYFDH VL - SEQ ID NO: 19 DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSDDPTFGQGTKVEIK VH - SEQ ID NO: 39 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSII PWFGWTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSEYY

	FDHWGQGTLTVSS LC - SEQ ID NO: 21 DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSDDPTFGQGTKVEIK GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSQRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS HC - SEQ ID NO: 22 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSII PWFGWTNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSEYY FDHWGQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
mAb5548	LCDR1 - SEQ ID NO: 23 SGDNLGDKYAN LCDR2 - SEQ ID NO: 24 DDIDRPS LCDR3 - SEQ ID NO: 25 GSYDFFLGLIV HCDR1 - SEQ ID NO: 26 SYAMS HCDR2 - SEQ ID NO: 27 TISLTSGFTYYADSVKG HCDR3 - SEQ ID NO: 28 QLTLDV VL - SEQ ID NO: 29 QSVLTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLGDKYANWYQQKPGQAPVLVIYDDID RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCGSYDFFLGLIVFGGGTKLT VL VH - SEQ ID NO: 30 QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIS LTSGFTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLTLD VWGQGTLTVSS

	LC - SEQ ID NO: 31 QSVLTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLGDKYANWYQQKPGQAPVLVIYDDID RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYCGSYDFFLGLIVFGGGTKLT VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVK AGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAP TECS HC - SEQ ID NO: 32 QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTIS LTSGFTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQLTLD VWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
--	--

В определенных вариантах осуществления первый детектирующий агент, такой как первое детектирующее антитело, мечен детектируемой меткой, предпочтительно метка представляет собой фермент или биотин. В дополнительном варианте осуществления

5 первый детектирующий агент мечен маркером, таким как биотин, для взаимодействия с меченым ферментом, таким как конъюгированная со стрептавидином пероксидаза хрена, которая воздействует на тетрамethylбензидин в присутствии пероксида водорода с генерацией цветowych сигналов для определения количества первого детектирующего агента.

10 Используемые в данном документе термины «промывка», «стадия промывки» или «промывание» относятся к способу разделения общего IL-17 (включая как свободный IL-17, так и связанный с модулятором IL-17), которые не связаны с захватывающим антителом, из смеси на стадии (i). Раствор, используемый для промывки, обычно представляет собой буфер («промывочный буфер»). В некоторых вариантах

15 осуществления промывочный буфер содержит низкие концентрации ПАВ. В некоторых вариантах осуществления промывочный буфер представляет собой 10 mM фосфатный буфер при pH около 7,4, содержащей 150 mM NaCl и 0,05 % Tween 20. pH промывочного буфера предпочтительно находится в диапазоне от около 6 до около 9. В некоторых

вариантах осуществления pH составляет около 7,0. Стадию промывки можно выполнять один или несколько раз (например, один раз, два раза, три раза, четыре раза, пять раз или шесть раз). В некоторых вариантах осуществления стадию промывки выполняют три-шесть раз.

5 В определенных вариантах осуществления стадию промывки выполняют после стадии (i) и перед стадией (ii) контакта указанной смеси со вторым детектирующим агентом.

В некоторых вариантах осуществления стадию промывки не выполняют. Например, в некоторых вариантах осуществления стадию промывки после стадии (i) и перед стадией 10 (ii) контакта указанной смеси со вторым детектирующим агентом не выполняют.

В данной заявке дополнительно предложены способы определения целевого связывания SM-модулятора(-ов) IL-17 у субъекта. Способ включает: а) определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта до введения SM-модулятора, как описано выше; б) определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта после 15 введения SM-модулятора, как описано выше; и с) сравнение количества свободного IL-17, определенного на стадиях а) и б). Или способ может включать (aa) определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта в двух или более временных точках после введения SM-модулятора, как описано выше; и (bb) оценку изменений количества свободного IL-17 в различных временных точках после введения SM-модулятора. Таким 20 образом, активность целевого связывания SM-модуляторов в IL-17 может быть оценена и использована для содействия коррекции режима лечения SM-модуляторами IL-17.

В данной заявке дополнительно предложены способы определения количества общего IL-17 (свободного IL-17 и связанного с модулятором IL-17) в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор для IL-17. Способы включают (см., например, Фиг. 1С):

- 25 i. приведение части образца в контакт со вторым захватывающим антителом с образованием второй смеси, содержащей пятый комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и шестой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
- ii. приведение второй смеси в контакт со вторым детектирующим агентом 30 (предпочтительно со вторым детектирующим антителом) с образованием таким образом седьмого комплекса, содержащего второе захватывающее антитело, IL-17, не связанный с

SM-модулятором, и второй детектирующий агент, и восьмого комплекса, содержащего второе захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент;

iii. определение общего количества IL-17 путем измерения общего количества второго детектирующего агента в седьмом комплексе и восьмом комплексе.

В контексте данного документа «второе захватывающее антитело» и «второй детектирующий агент» (предпочтительно «второе детектирующее антитело») используют в парах для измерения общего количества IL-17 (т. е. свободного IL-17 и связанного с модулятором IL-17) в образце. В частности, второй детектирующий агент связывается как со свободным IL-17, который захватывается вторым захватывающим антителом, так и связанным с модулятором IL-17, который захватывается вторым захватывающим антителом. Таким образом, при приведении в контакт второго детектирующего агента со вторым комплексом он образует седьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, и восьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17 связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент.

Таким образом, второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент используют в паре для измерения количества общего IL-17 в образце.

Типичный второй детектирующий агент и второе антитело могут быть выбраны из пар, перечисленных ниже в таблице 3.

ТАБЛИЦА 3. Пары «второй детектирующий агент»/«второе захватывающее антитело» для измерения общего IL-17

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17 человека набора для ИФА HS HS170

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	CovalAb R&D (Antibodies Online)	Антитело ABIN1724556
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1184
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17 человека 3520-3-250
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592444
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592430
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS689609
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592432
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Антитело к IL-17/IL-17A DDX0336B-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Antibodies Online	ABIN786722
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0334B-50

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0335B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Rockland Immunochemicals Inc.	Конъюгированное с биотином антитело к IL-17A 209-306-B32

В определенных вариантах осуществления второй детектирующий агент мечен детектируемой меткой, предпочтительно метка представляет собой фермент или биотин. В дополнительном варианте осуществления второй детектирующий агент мечен маркером, таким как биотин, для взаимодействия с меченым ферментом, таким как конъюгированная со стрептавидином пероксидаза хрена, которая воздействует на тетраметилбензидин в присутствии пероксида водорода с генерацией цветовых сигналов для определения количества второго детектирующего агента, такого как второе детектирующее антитело.

В определенных вариантах осуществления стадию промывки выполняют после стадии (i) и перед стадией (ii) контакта указанной второй смеси со вторым детектирующим агентом.

В некоторых вариантах осуществления стадию промывки не выполняют. Например, в некоторых вариантах осуществления стадию промывки после стадии (i) и перед стадией (ii) контакта второй смеси со вторым детектирующим агентом не выполняют.

В данной заявке дополнительно предложены способы определения количества связанного с модуляторами IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17. Способы включают: а) определение количества свободного IL-17 в образце с использованием первого захватывающего антитела и первого детектирующего агента, как описано выше; б) определение количества общего IL-17 в образце с использованием второго захватывающего антитела и второго детектирующего агента, как описано выше; и с) вычитание количества свободного IL-17, определенного на стадии (а), из количества общего IL-17 на стадии (б) для получения количества связанного с модуляторами IL-17 в образце.

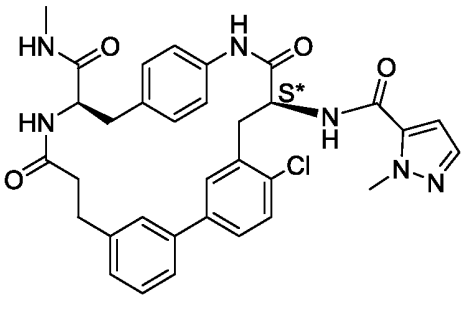
Путем измерения количества связанного с модулятором IL-17 в образце может быть оценена специфичность и целевое связывание SM-модулятора.

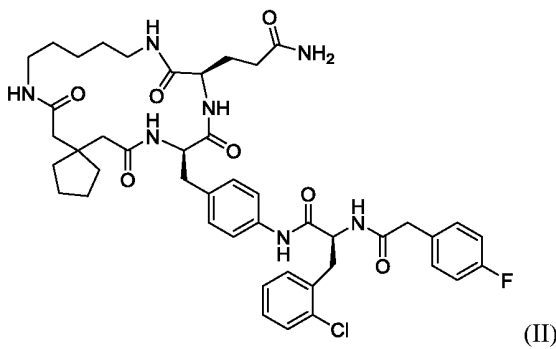
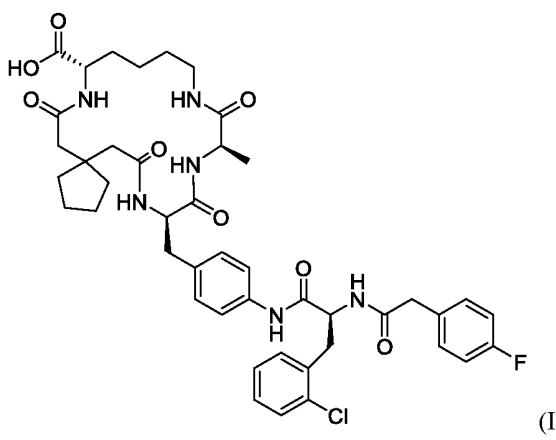
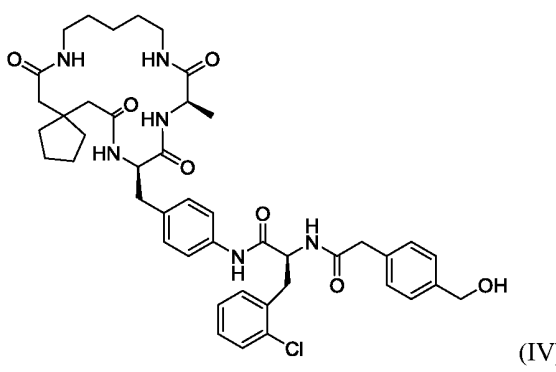
Как указано ранее, термин «низкомолекулярный(-ые) модулятор(-ы)» и/или «SM-модулятор(-ы)» и/или «SM-модулятор IL-17» относятся к любому низкомолекулярному соединению, которое может связываться с IL-17, и имеет молекулярную массу в диапазоне от около 100 г/моль до около 1500 г/моль, или от 400 г/моль до около 1050 г/моль, или от 500 г/моль до около 1000 г/моль, или от около 600 г/моль до около 900 г/моль, или от около 300 г/моль до около 750 г/моль, или от около 500 г/моль до около 800 г/моль.

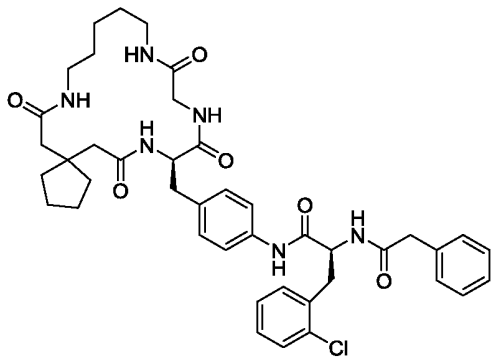
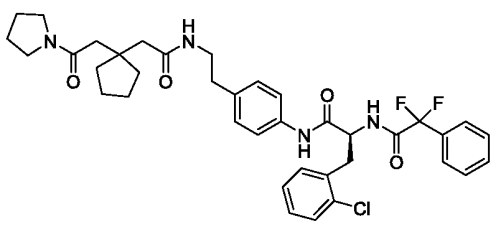
Альтернативно, SM-модуляторы могут иметь молекулярную массу от нижнего предела около 100 г/моль или 200 г/моль или около 300 г/моль или около 400 г/моль или около 500 г/моль или около 600 г/моль до верхнего предела около 400 г/моль или около 500 г/моль, или около 600 г/моль, или около 700 г/моль, или около 800 г/моль, или около 900 г/моль, или около 1000 г/моль, или около 1100 г/моль, или около 1200 г/моль, или около 1300 г/моль, или около 1400 г/моль, или около 1500 г/моль.

Иллюстративные SM-модуляторы IL-17, используемые в данном документе, включают, без ограничений, соединения № 1–6, перечисленные в таблице 4 ниже, и их фармацевтически приемлемые соли:

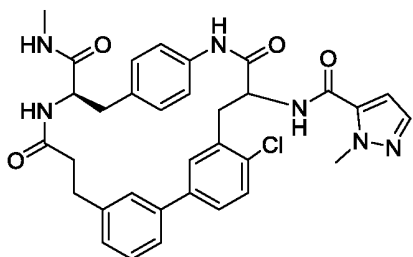
Таблица 4. Примеры низкомолекулярных модуляторов IL-17

SM-модулятор	Структура	Ссылка	ММ (г/моль)
Соединение № 1	 (I)	Соединение 1, описанное в виде смеси диастереомеров в статье «Binding site elucidation and structure guided design of macrocyclic IL-17A antagonists,» Scientific Reports, 6, DOI: 10.1038/srep30859 (2016)	613,12

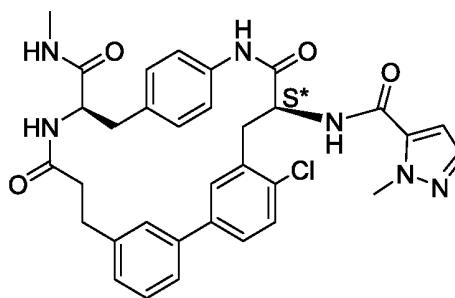
SM-модулятор	Структура	Ссылка	ММ (г/моль)
Соединение № 2	 (II)	Соединение 479 в WO 2013/116682	860,42
Соединение № 3	 (III)	Соединение 529 в WO 2013/116682	847,38
Соединение № 4	 (IV)	Соединение 487 в WO 2013/116682	815,41

SM-модулятор	Структура	Ссылка	ММ (г/моль)
Соединение № 5	 (V)	Соединение 159 в WO 2013/116682	771,35
Соединение № 6	 (VI)	Соединение 286 в WO 2014/066726	693,23

Следующее соединение:



описано в Liu, S. *et al.* «Binding site elucidation and structure guided design of macrocyclic IL-17A antagonists,» *Scientific Reports*, 6 30859, DOI: 10.1038/srep30859 (2016). Это соединение получали в виде смеси диастереомеров, которые разделяли путем сверхкритической жидкостной хроматографии (SFC) (колонка: DAICEL CHIRALPAK AD (250 мм * 30 мм, 10 мкм); подвижная фаза: [0,1 % NH₃H₂O IPA]; В%: 40 % - 40 %, 5,3 мин; 420 мин). Более активный диастереомер, назначенный в данном



документе в качестве соединения № 1:

, оценивали с

использованием способа, описанного в данном документе.

Соединения № 2–5 описаны в публикации заявки на патент PCT № WO

5 2013/116682, под названием: «Macrocyclic Compounds for Modulating IL-17», которая включена в данный документ посредством ссылки (см., например, фиг. 12, соединения 479, 529, 487 и 159, соответственно).

Соединение № 6 описано в публикации заявки на патент PCT № WO 2014/066726, под названием: «Compounds for Modulating IL-17», которая включена в данный документ посредством ссылки, (см., например, фиг. 6, соединение 286).

В определенных вариантах осуществления описанный в данном документе способ обеспечивает чувствительность обнаружения с нижним пределом количественного определения (LLOQ) при около 0,01 или около 0,1, или около 0,25, или около 0,5, или около 0,75 или 1 пг/мл IL-17 в образце.

15 В определенных вариантах осуществления IL-17 представляет собой IL-17 человека.

В определенных вариантах осуществления образец представляет собой биологический образец, полученный от субъекта-человека при *ex vivo* или *in vivo* обработке SM-модулятором IL-17 человека.

20 В определенных вариантах осуществления образец может представлять собой биологический образец, полученный от животного (например, мыши), в который введен IL-17 человека.

В определенных вариантах осуществления биологический образец выбирают из группы, состоящей из образца, полученного из клеток, тканей или сыворотки, плазмы или 25 другого образца жидкой биологической среды.

В соответствии с вариантами осуществления данной заявки способ дополнительно включает регулирование режима лечения субъекта на основании определенного количества свободного IL-17 в биологическом образце от субъекта до и после введения SM-модулятора субъекту. Например, регулировка может увеличивать или уменьшать дозировку или частоту обработки с помощью SM-модулятора или переключения на другой модулятор, если установлено, что используемый в настоящее время SM-модулятор связывается с IL-17 ниже порогового уровня. Схема лечения также может быть скорректирована на основании определенного количества свободного IL-17 в биологическом образце от субъекта в двух или более временных точках после введения SM-модулятора субъекту.

В некоторых вариантах осуществления субъект страдает от IL-17-опосредованного воспалительного заболевания. Опосредованное IL-17 воспалительное заболевание может быть выбрано из псориаза, псориатического артрита, ревматоидного артрита, анкилозирующего спондилита, гнойного гидраденита, буллезного пемфигоида, атопического дерматита, витилиго, рассеянного склероза, астмы, увеита, хронического обструктивного заболевания легких, множественной миеломы и системной красной волчанки. В некоторых вариантах осуществления опосредованное IL-17 воспалительное заболевание выбрано из псориаза, псориатического артрита и анкилозирующего спондилита. В некоторых вариантах осуществления изобретения опосредованное IL-17 воспалительное заболевание представляет собой псориаз. В некоторых вариантах осуществления опосредованное IL-17 воспалительное заболевание представляет собой псориатический артрит. В некоторых вариантах осуществления опосредованное IL-17 воспалительное заболевание представляет собой анкилозирующий спондилит.

В некоторых вариантах осуществления данного изобретения анализ целевого связывания IL-17, описанный в данном документе, может быть использован в доклинических моделях для моделирования доз для экспериментов в испытаниях с участием людей, в исследованиях 1 фазы с участием людей для принятия решений по дозе для фазы 2 с участием пациентов и для принятия решений о том, требуется ли улучшение целевого связывания для резервных молекул или пересмотр плана исследования.

Корреляция анализа целевого связывания с эффективностью в исследованиях 2 фазы с

участием пациентов может быть использована для принятия решения о том, требуется ли улучшение целевого связывания для лучшей эффективности.

Анализ по изобретению можно использовать для измерения свободного IL-17 в присутствии низкомолекулярного(-ых) модулятора(-ов) IL-17 независимо от каких-либо данных по заболеванию. Анализ можно применять для здоровых субъектов или пациентов с опосредованным IL-17 воспалительным заболеванием. Для определения оптимальной дозы для достижения эффективности и минимизации сигналов в исследованиях безопасности можно использовать данные целевого связывания и тест-молекул РК.

В данной заявке дополнительно предложен набор для определения количества свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор, содержащий:

- i. первое захватывающее антитело, причем при контакте с образцом первое захватывающее антитело образует первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором, соответственно; и
- ii. первый детектирующий агент (такой как первое детектирующее антитело), причем при контакте с первым комплексом и вторым комплексом первый детектирующий агент образует третий комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент.

В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более реагентов для обнаружения первого детектирующего агента.

В данной заявке дополнительно предложен набор для определения количества связанного с модулятором IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор, содержащий:

- i. первое захватывающее антитело, причем при контакте с образцом первое захватывающее антитело образует первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй

комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;

ii. первый детектирующий агент (такой как первое детектирующее антитело), причем при контакте с первым комплексом и вторым комплексом первый детектирующий агент образует третий комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент; и

iii. второе захватывающее антитело, причем при контакте с образцом второе захватывающее антитело образует пятый комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и шестой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;

iv. второй детектирующий агент (такой как второе детектирующее антитело), причем при контакте с пятым комплексом и шестым комплексом второй детектирующий агент образует седьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, и восьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент.

В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более реагентов для обнаружения первого детектирующего агента и/или второго детектирующего агента.

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

В изобретении также обеспечены следующие не имеющие ограничительного характера варианты осуществления.

Вариант осуществления 1 представляет собой способ определения количества свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и низкомолекулярный модулятор (SM) IL-17, включающий:

i. приведение образца в контакт с первым захватывающим антителом с образованием смеси, содержащей первый комплекс, содержащий первое

захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;

ii. приведение смеси со стадии i) в контакт с первым детектирующим агентом с образованием таким образом третьего комплекса, содержащего первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент; и

iii. определение количества свободного IL-17 путем измерения количества первого детектирующего агента в третьем комплексе.

Вариант осуществления 2 представляет собой способ по варианту осуществления 1, в котором первый детектирующий агент представляет собой первое антитело.

Вариант осуществления 3 представляет собой способ по варианту осуществления 1 или 2, в котором первое захватывающее антитело и первый детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Janssen Biotech, Inc.,	mAb7024	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B

Вариант осуществления 4 представляет собой способ по варианту осуществления 3, в котором первое захватывающее антитело представляет собой захватывающее антитело из набора DuoSet ИФА DY317 (R&D Systems, Inc.), а первый детектирующий агент представляет собой человеческое антитело mAb4538 (от Janssen Biotech, Inc.)

Вариант осуществления 5 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 1–4, в котором SM-модулятор имеет молекулярную массу около 100–1500 г/моль.

Вариант осуществления 5a представляет собой способ по варианту осуществления 5, в котором SM-модулятор имеет молекулярную массу около 400–1050 г/моль.

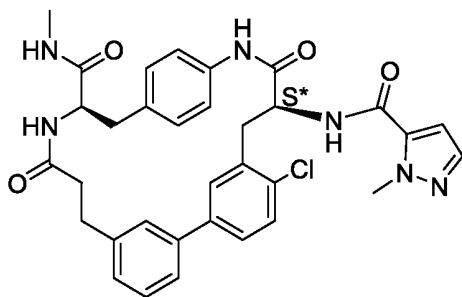
Вариант осуществления 5b представляет собой способ по варианту осуществления 5, в котором SM-модулятор имеет молекулярную массу около 500–1000 г/моль.

Вариант осуществления 5c представляет собой способ по варианту осуществления 5, в котором SM-модулятор имеет молекулярную массу около 500–800 г/моль.

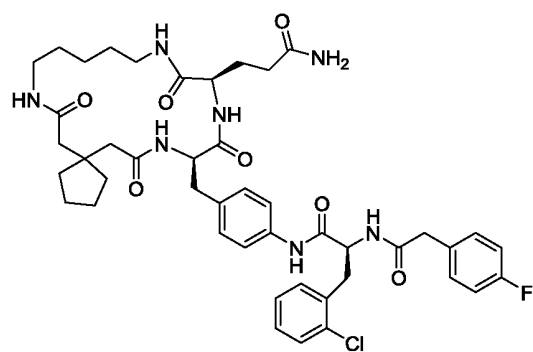
Вариант осуществления 5d представляет собой способ по варианту осуществления 5, в котором SM-модулятор имеет молекулярную массу около 600–900 г/моль.

Вариант осуществления 5e представляет собой способ по варианту осуществления 5, в котором SM-модулятор имеет молекулярную массу около 300–750 г/моль.

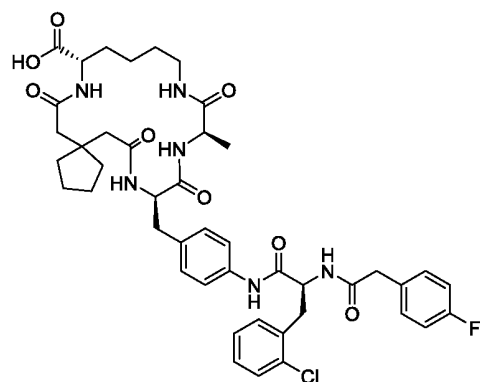
Вариант осуществления 5f представляет собой способ по варианту осуществления 5, в котором SM-модулятор выбран из группы, состоящей из соединений № 1–6, имеющих следующие структуры, и их фармацевтически приемлемых солей:



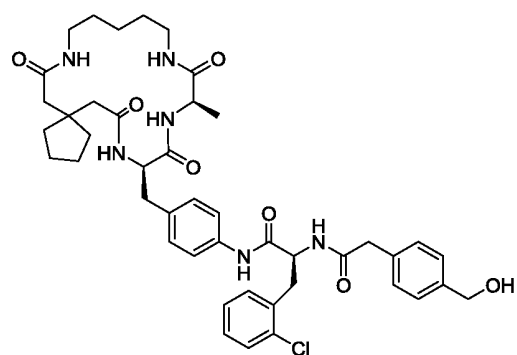
(Соединение № 1)



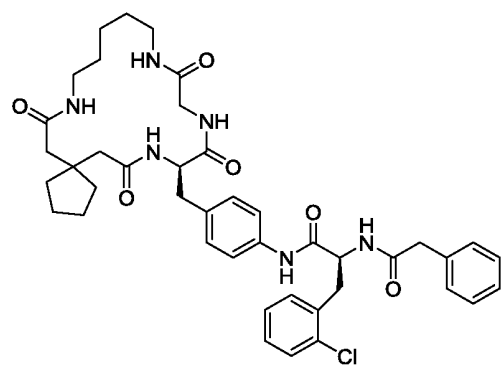
(Соединение № 2)



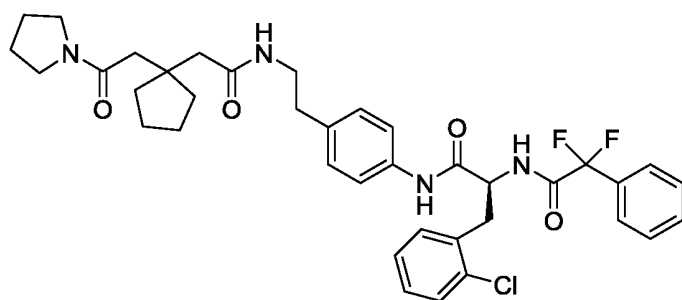
(Соединение № 3)



(Соединение № 4)



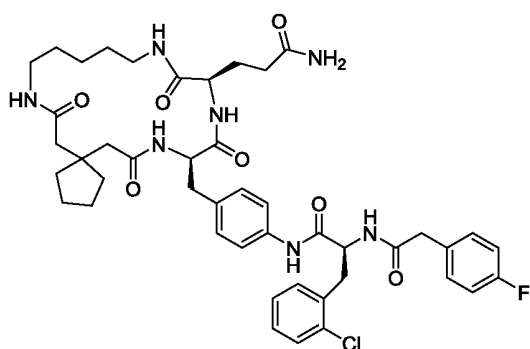
(Соединение № 5)



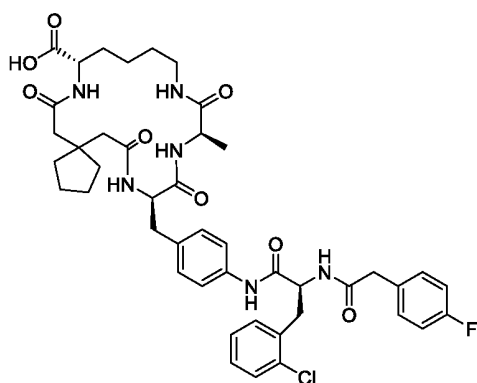
(Соединение № 6)

Вариант осуществления 5g представляет собой способ по варианту осуществления 5, в котором SM-модулятор выбран из группы, состоящей из соединений № 2–6, имеющих следующие структуры, и их фармацевтически приемлемых солей:

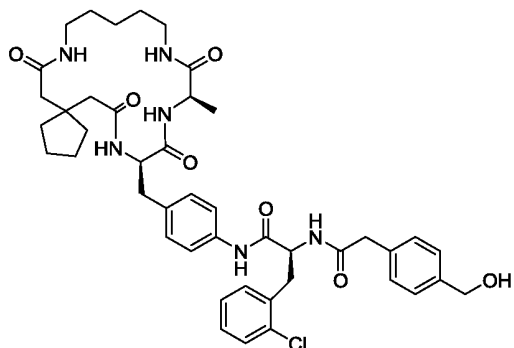
5



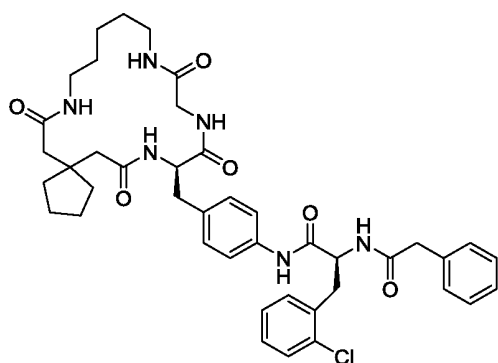
(Соединение № 2)



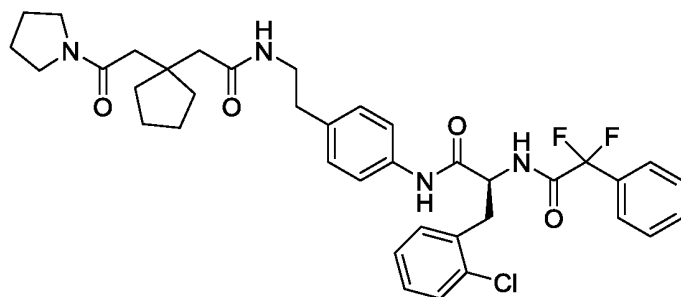
(Соединение № 3)



(Соединение № 4)



(Соединение № 5)



(Соединение № 6)

5 Вариант осуществления 6 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 1–5, в котором не выполняют стадию промывки перед приведением в контакт первой смеси со стадии i) с первым детектирующим агентом на стадии (ii).

10 Вариант осуществления 7 представляет собой способ определения целевого связывания SM-модулятора с IL-17 у субъекта, включающий определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта до введения SM-модулятора с использованием способа по любому из вариантов осуществления 1–6; б) определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта после введения SM-модулятора с использованием способа по любому из вариантов осуществления 1–6; и с) сравнение количества свободного IL-17, определенного на стадиях а) и б).

15 Вариант осуществления 8 представляет собой способ определения целевого связывания SM-модулятора с IL-17 у субъекта, включающий определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта в двух или более временных точках после введения SM-модулятора с использованием способа по любому из вариантов осуществления 1–6; и б) сравнение количества свободного IL-17, определенного на стадии
20 а).

Вариант осуществления 9 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 1–8, в котором образец представляет собой биологический образец, полученный от субъекта-человека при *ex vivo* или *in vivo* обработке SM-модулятором.

5 Вариант осуществления 10 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 1–9, в котором указанный биологический образец выбран из группы, состоящей из образца, полученного или экстрагированного из клеток, или тканей, или сыворотки, плазмы или другой жидкой биологической среды.

10 Вариант осуществления 11 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 1–10, в котором указанный способ имеет чувствительность обнаружения с нижним пределом количественного определения (LLOQ) при около 0,01 или около 0,1, или около 0,25, или около 0,5, или около 0,75, или 1 пг/мл IL-17 в образце.

Вариант осуществления 12 представляет собой способ определения количества связанного с модуляторами IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, включающий:

- 15 i. приведение первой части образца в контакт с первым захватывающим антителом с образованием первой смеси, содержащей первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
- 20 ii. приведение первой смеси со стадии i в контакт с первым детектирующим агентом с образованием таким образом третьего комплекса, содержащего первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый
- 25 детектирующий агент;
- iii. приведение второй части образца в контакт со вторым захватывающим антителом с образованием второй смеси, содержащей пятый комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и шестой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело
- 30 и IL-17, связанный с SM-модулятором;

- iv. приведение второй смеси в контакт со вторым детектирующим агентом с образованием таким образом седьмого комплекса, содержащего второе захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, и восьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент;
- v. определение количества свободного IL-17 путем измерения количества первого детектирующего агента в третьем комплексе;
- vi. определение общего количества IL-17 путем измерения общего количества второго детектирующего агента в седьмом комплексе и восьмом комплексе; и
- vii. определение количества связанного с модуляторами IL-17 в образце путем вычитания количества свободного IL-17, определенного на стадии (v), от общего количества IL-17 на стадии (vi).

Вариант осуществления 13 представляет собой способ по варианту осуществления 12, в котором первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело.

Вариант осуществления 14 представляет собой способ по варианту осуществления 12 или 13, в котором второй детектирующий агент представляет собой второе детектирующее антитело.

Вариант осуществления 15 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 12–14, в котором первое захватывающее антитело и первый детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Janssen Biotech, Inc.,	mAb7024	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B

Вариант осуществления 16 представляет собой способ по варианту осуществления 15, в котором первое захватывающее антитело представляет собой захватывающее антитело из набора DuoSet ИФА DY317 (R&D Systems, Inc.), а первый детектирующий агент представляет собой человеческое антитело mAb4538 (от Janssen Biotech, Inc.).

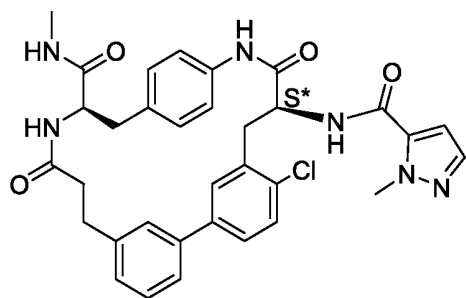
Вариант осуществления 17 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 12-14, в котором второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17 человека набора для ИФА HS HS170
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	CovalAb R&D (Antibodies Online)	Антитело ABIN1724556
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1184
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17 человека 3520-3-250
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592444

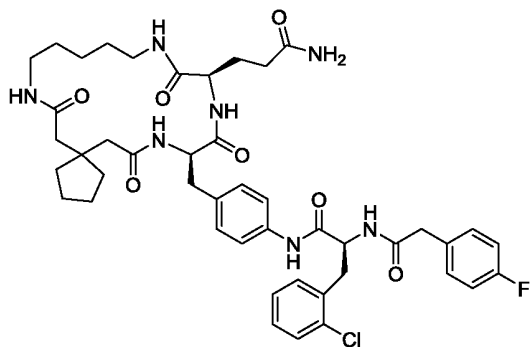
Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
	для ИФА DuoSet DY317		
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592430
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS689609
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592432
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Антитело к IL-17/IL-17A DDX0336B-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Antibodies Online	ABIN786722
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0334B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0335B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Rockland Immunochemicals Inc.	Конъюгированное с биотином антитело к IL-17A 209-306-B32

Вариант осуществления 18 представляет собой способ по варианту осуществления 17, в котором указанное второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент представляют собой захватывающее антитело и детектирующий агент из набора ИФА DuoSet DY317 (R&D Systems, Inc.), соответственно.

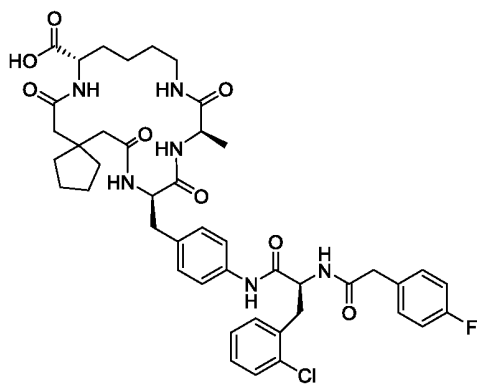
Вариант осуществления 19 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 12-18, в котором SM-модулятор выбран из группы, состоящей из соединений № 1-6, имеющих следующую структуру, и их фармацевтически приемлемых солей:



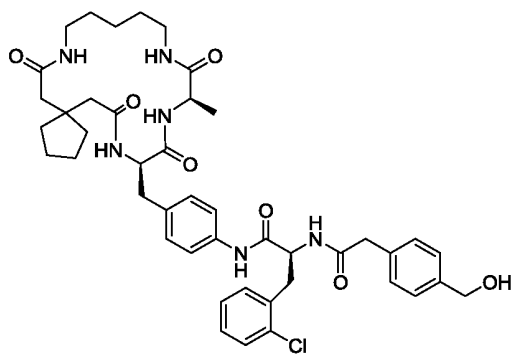
(Соединение № 1)



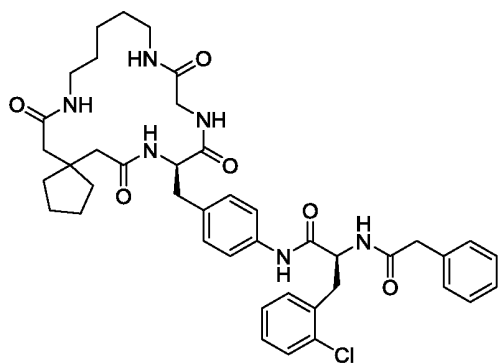
(Соединение № 2)



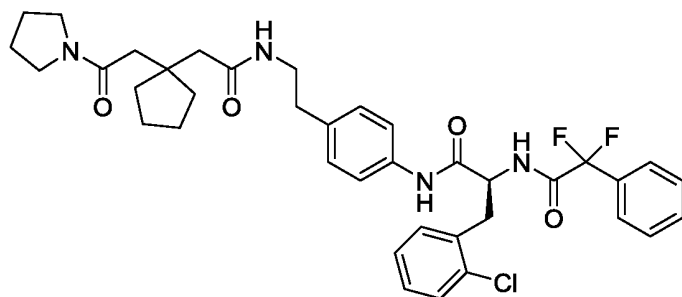
(Соединение № 3)



(Соединение № 4)

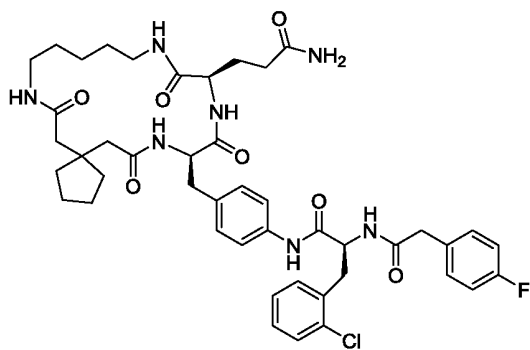


(Соединение № 5)

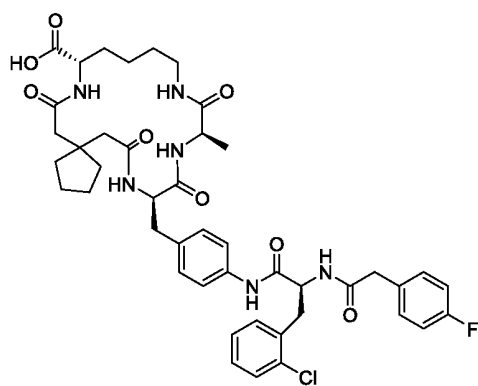


(Соединение № 6)

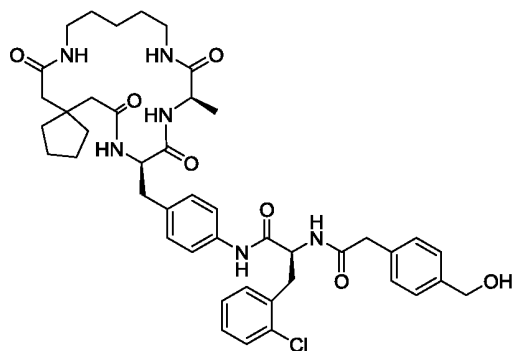
Вариант осуществления 19а представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 12-18, в котором SM-модулятор выбран из группы, состоящей из соединений № 2–6, имеющих следующую структуру, и их фармацевтически приемлемых солей:



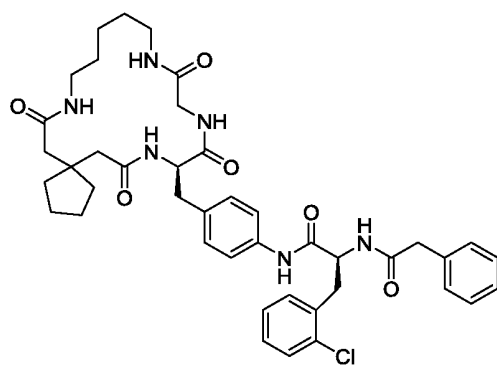
(Соединение № 2)



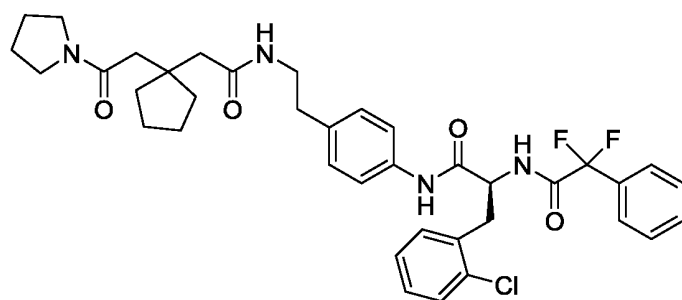
(Соединение № 3)



(Соединение № 4)



(Соединение № 5)



(Соединение № 6)

Вариант осуществления 20 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 12–19, в котором образец представляет собой биологический образец, полученный от субъекта-человека при *ex vivo* или *in vivo* обработке SM-модулятором.

5 Вариант осуществления 21 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 12–20, в котором указанный биологический образец выбран из группы, состоящей из образца, полученного или экстрагированного из клеток, или тканей, или сыворотки, плазмы или другой жидкой биологической среды.

10 Вариант осуществления 22 представляет собой способ по любому из вариантов осуществления 12–21, в котором указанный способ имеет чувствительность обнаружения с нижним пределом количественного определения (LLOQ) при около 0,01 или около 0,1, или около 0,25, или около 0,5, или около 0,75, или 1 пг/мл IL-17 в образце.

Вариант осуществления 23 представляет собой набор для определения количества свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, содержащий:

- 15 iii. первое захватывающее антитело, причем при контакте с образцом первое захватывающее антитело образует первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором; и
- 20 iv. первый детектирующий агент, причем при контакте с первым комплексом и вторым комплексом первый детектирующий агент образует третий комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент,
- 25 предпочтительно первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело.

Вариант осуществления 24 представляет собой набор по варианту осуществления 23, в котором первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело.

Вариант осуществления 25 представляет собой набор по варианту осуществления 23 или 24, в котором первое захватывающее антитело и первый детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
	DuoSet DY317		DCABH-4543
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Janssen Biotech, Inc.,	mAb7024	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B

Вариант осуществления 26 представляет собой набор по варианту осуществления 25, в котором первое захватывающее антитело представляет собой захватывающее антитело из набора DuoSet ИФА DY317 (R&D Systems, Inc.), а первый детектирующий агент представляет собой человеческое антитело mAb4538 (от Janssen Biotech, Inc.)

Вариант осуществления 27 представляет собой набор для определения количества связанного с модуляторами IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, содержащий:

- i. первое захватывающее антитело, причем при контакте с образцом первое захватывающее антитело образует первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй

комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;

ii. первый детектирующий агент, причем при контакте с первым комплексом и вторым комплексом первый детектирующий агент образует третий комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент; и

iii. второе захватывающее антитело, причем при контакте с образцом второе захватывающее антитело образует пятый комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и шестой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;

iv. второй детектирующий агент, причем при контакте с пятым комплексом и шестым комплексом второй детектирующий агент образует седьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, и восьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, соответственно,

предпочтительно, первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело, а второй детектирующий агент представляет собой второе детектирующее антитело.

Вариант осуществления 28 представляет собой набор по варианту осуществления 27, в котором первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело.

Вариант осуществления 29 представляет собой набор по варианту осуществления 27 или 28, в котором второй детектирующий агент представляет собой второе детектирующее антитело.

Вариант осуществления 29 представляет собой набор по любому из вариантов осуществления 27-29, в котором первое захватывающее антитело и первый детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека набора для ИФА HS № NBP1-82423
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Janssen Biotech, Inc.,	mAb7024	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B

Вариант осуществления 31 представляет собой набор по варианту осуществления 30, в котором первое захватывающее антитело представляет собой захватывающее антитело из набора DuoSet ИФА DY317 (R&D Systems, Inc.), а первый детектирующий агент представляет собой антитело mAb4538 человека (от Janssen Biotech, Inc.).

Вариант осуществления 32 представляет собой набор по любому из вариантов осуществления 27–31, в котором второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17 человека набора для ИФА HS HS170
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	CovalAb R&D (Antibodies Online)	Антитело ABIN1724556
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1184
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17 человека 3520-3-250
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592444
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592430
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS689609
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592432
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Антитело к IL-17/IL-17A DDX0336B-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Antibodies Online	ABIN786722
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0334B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0335B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Rockland Immunochemicals Inc.	Конъюгированное с биотином антитело к IL-17A 209-306-B32

Вариант осуществления 33 представляет собой набор по варианту осуществления 32, в котором указанное второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент представляют собой захватывающее антитело и детектирующий агент из набора ИФА DuoSet DY317 (R&D Systems, Inc.), соответственно.

ПРИМЕРЫ

Специалистам в данной области будет понятно, что в варианты осуществления, описанные выше, можно вносить изменения без отступления от общей концепции изобретения. Таким образом, следует понимать, что данное изобретение не ограничено конкретными описанными вариантами осуществления, но предполагается, что оно охватывает модификации в пределах сущности и объема данной заявки, определяемые данным описанием.

Пример 1

Материалы

Три (3) пары захватывающее антитело/детектирующий агент (перечисленные в Таблице 5 ниже) были протестированы с использованием соединений №1–6 (как описано выше в Таблице 5) в качестве SM-модуляторов.

Таблица 5

Захватывающее антитело		Детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	CovalAb R&D (Antibodies Online)	Антитело ABIN1724556

Способы

Двухкратные и 8-точечные серийные разведения рекомбинантного IL-17 готовили в разбавителе, начиная с 1 нг/мл, в двух повторностях. Для тестирования дифференцирующей способности в отношении SM-модуляторов готовили калибровочные образцы IL-17 в присутствии 10 мкМ SM-модуляторов или контрольного носителя, содержащего 0,1 % ДМСО. Затем образцы IL-17 инкубировали в течение 1 часа при 37 °С.

Высоко связывающие 96-луночные планшеты покрывали 100 мкл/лунку 4 мкг/мл захватывающего антитела в PBS в течение ночи при комнатной температуре. Планшеты с

покрытием промывали 6 x 400 мкл/лунку на промывателе для планшетов (Zoom HT Microplate washer) и блокировали 300 мкл/лунку блокатором (1% БСА в PBS) при комнатной температуре в течение 2,5 часов с последующим добавлением 6 x 400 мкл/лунка на промывателе для планшетов.

- 5 Образцы готовили путем инкубации титрованного IL-17 с SM-модуляторами в конечной концентрации 10 мкМ. Уровни IL-17 измеряли с помощью ИФА путем добавления образцов в покрытые антителами планшеты в количестве 95 мкл/лунку. Планшеты выдерживали при комнатной температуре в течение 30 минут, а затем добавляли 5 мкл/лунку детектирующего агента до конечной концентрации 500 нг/мл, 10 выдерживали при комнатной температуре в течение еще 30 минут, затем промывали 6 x 400 мкл/лунку на промывателе для планшетов. Для проявления окрашивания для измерения добавляли конъюгированную со стрептавидином пероксидазу хрена в количестве 100 мкл/лунку и инкубировали в течение 20 минут при комнатной температуре в темноте, затем промывали лунки 6 x 400 мкл/лунку на промывателе для планшетов, а 15 затем добавляли 100 мкл/лунку раствора субстрата pf и инкубировали в течение 20 минут при комнатной температуре в темноте. Затем реакцию останавливали путем добавления 50 мкл/лунку стоп-раствора и планшеты измеряли на планшетном фотометре при 450–540 нм.

- Оптическую плотность (OD), считываемая планшетным фотометром (Molecular 20 Devices Spectra Max 340fPC), анализировали с помощью Softmax Pro6.3 и GraphPad Prism и наносили на график в виде кривой зависимости дозы от значений OD по сравнению с концентрациями IL-17.

Результаты

- Как показано на ФИГ. 2A–2F, с помощью захватывающего антитела набора ИФА 25 DuoSet DY317 с mAb4538 (500 нг/мл, как описано в патенте США № 8519107) в качестве детектирующего агента может быть обнаружен только свободный IL-17 (не связанный с SM-модулятором) с сигналами, соответствующими концентрации IL-17, но не может быть обнаружен связанный с SM-модулятором IL-17.

- Однако с помощью набора для ИФА DuoSet DY317 или с помощью 30 захватывающего антитела из набора для ИФА DuoSet DY317 в паре с антителом ABIN1724556 (CovalAb R&D (Antibodies Online)), удалось определить общее количество

IL-17 (в виде свободных и связанных с модуляторами форм) дозозависимым образом (ФИГ. 3А-3F и ФИГ. 4А-4F).

Пример 2

В соответствии с аналогичным анализом ИФА, как описано в Примере 1, различные пары захватывающих антител/детектирующих агентов (с захватывающими антителами, выбранными из Таблицы 6, и детектирующими агентами, выбранными из таблицы 7) тестировали с использованием соединения № 1 в качестве SM-модулятора. В таблице 8 ниже перечислены пары захватывающих антител/детектирующих агентов, которые были идентифицированы с помощью данного эксперимента, способные дифференцировать свободный IL-17 человека от связанного с SM-модулятором IL-17 человека. В таблице 9 ниже перечислены пары захватывающих антител/детектирующих агентов, которые не позволяют отличить свободный IL-17 человека от связанного с SM-модулятором IL-17 человека.

Таблица 6. Захватывающие антитела к IL-17 человека

Компания	Кат. № или ID	КЛОН
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2В мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Клон антитела неизвестен, шарики Simoa, покрытые захватывающим антителом
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Н/П

Таблица 7. Скрининг антител, используемых в качестве детектирующих агентов для IL-17 человека

Компания	Кат. № или ID	КЛОН
R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Аффинно-очищенное поликлональное козье антитело IgG (номер по каталогу: BAF317)
Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS	Не указано
NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS № NBP1-82423	Не указано

Компания	Кат. № или ID	КЛОН
R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17 человека из набора для ИФА HS HS170	Не указано
R&D Systems, Inc. (Novus product)	MAB317	41809, мышиный IgG2b
Abiocode	M0002-1	7A7, мышиное антитело
Abnova	H00003605-01	3G5, мышиное антитело
Abnova	ABIN791457 (MAB8821)	5C94, мышиное антитело
Antibodies Online (ABO)	ABIN2741968	3.36.2.7.3, мышиное антитело
Biolegend, Inc.	512702	BL23, мышиное антитело
Biorbyt	orb376441	3F3-H5-E4
Biorbyt	orb376437	1B1-G2-E10
Janssen Biotech, Inc.	mAb8575	Н/П
Janssen Biotech, Inc.	mAb3584	Н/П
Janssen Biotech, Inc.	mAb3077	Н/П
Janssen Biotech, Inc.	mAb732	Н/П
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Н/П
Janssen Biotech, Inc.	mAb4538	Н/П
Janssen Biotech, Inc.	mAb5548	Н/П
Covalab R&D (Antibodies Online)	антитело ABIN1724556	В-С49, мышиное антитело
Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543	4.52.3.7.2, мышиное антитело
Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183	5E28, мышиное антитело
Creative Diagnostics, Inc.	CABT-L259	52910, мышиное антитело
Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1184	5D28, мышиное антитело
Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669	СМ34, мышиное антитело
Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-3098	8B8, мышиное антитело
Creative Diagnostics, Inc.	Поликлональное антитело к IL 17A CABT-WN1801	козье поликлональное антитело
Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B	3.41.2.6.1, мышиное антитело
Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500	MT504, мышиное антитело
Mabtech AB	Антитело к IL-17 человека 3520-3-250	MT44.6, мышиное антитело
My Biosource (MBS)	MBS592444	3H11, мышиное антитело
My Biosource (MBS)	MBS592443	3C1, мышиное антитело

Компания	Кат. № или ID	КЛОН
My Biosource (MBS)	MBS592445	5A9, мышинное антитело
My Biosource (MBS)	MBS592447	7F10, мышинное антитело
My Biosource (MBS)	MBS592430	4C1, мышинное антитело
My Biosource (MBS)	MBS592442	1E2, мышинное антитело
My Biosource (MBS)	MBS689608	нет информации, мышинное антитело
My Biosource (MBS)	MBS689609	нет информации, мышинное антитело
My Biosource (MBS)	MBS2542255	4679, мышинное антитело
My Biosource (MBS)	MBS592432	8H7, мышинное антитело
NOVUS Biologicals LLC	Антитело к IL-17/IL-17A DDX0336B-100	408H6.01
NOVUS Biologicals LLC	NBP2-24765B	4k5F6, мышинное антитело
OriGene Technologies Inc.	DDX0335B-50	414A11.03
OriGene Technologies Inc.	DDX0334B-50	412G6.06
OriGene Technologies Inc.	AM31338BT-N	B-B51, мышинное антитело
ProSci	36-072	17-142F, мышинное антитело
Ray Biotech	130-10382-200	3A9-G5-A6, мышинное антитело
Rockland Immunochemicals Inc.	конъюгированное с биотином антитело к IL-17A 209-306-B32	4H1524.1, мышинное антитело
Sino Biological Inc.	ABIN5507411	6, мышинное антитело
Wuhan Fine Biotech	ABIN5698147	мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100	rhIL17RA/IL17-R Fc
Sino Biological Inc.	10895-H08H-B	IL-17RA (мономер)

Таблица 8. Пары захватывающее антитело/детектирующий агент, которые обнаруживают только свободный IL-17 человека в присутствии SM-модуляторов

Захватывающее антитело			Детектирующий агент		
Компания	Кат. № или ID	Клон	Компания	Кат. № или ID	Клон
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS	Детектирующее антитело к IL17A человека из набора для ИФА HS eBioscience
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS № NBP1-82423	Детектирующее антитело к IL17A человека из набора для ИФА HS NOVUS
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024*	Н/П	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS № NBP1-82423	Детектирующее антитело к IL17A человека из набора для ИФА HS NOVUS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702	BL23, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584*	Н/П

Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Quanterix Corp. Захватывающее антитело из набора IL17A	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584*	Н/П
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077*	Н/П
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Quanterix Corp. Захватывающее антитело из набора IL17A	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077*	Н/П
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Janssen Biotech, Inc.	mAb732*	Н/П
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Quanterix Corp. Захватывающее антитело из набора IL17A	Janssen Biotech, Inc.	mAb732*	Н/П
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024*	Н/П
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538*	Н/П
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548*	Н/П

R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543	4.52.3.7.2, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183	5E28, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669	CM34, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B	3.41.2.6.1, мышинное антитело
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Quanterix Corp. Захватывающее антитело из набора IL17A	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B	3.41.2.6.1, мышинное антитело
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024*	Н/П	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B	3.41.2.6.1, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500	MT504, мышинное антитело
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024*	Н/П	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500	MT504, мышинное антитело

R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2В мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411	б, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2В мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100	rhIL17RA/IL17-R Fc
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2В мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B	IL-17RA (мономер)

* как описано в патенте США № 8519107

Таблица 9. Пары захватывающее антитело/детектирующий агент, которые обнаруживают как свободный, так и связанный с модулятором IL-17 человека в присутствии SM-модулятора

Захватывающее антитело			Детектирующий агент		
Компания	Кат. № или ID	Клон	Компания	Кат. № или ID	Клон
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Аффинно-очищенное поликлональное козье антитело IgG (номер по каталогу: BAF317)
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17 человека из набора для ИФА HS HS170	Детектирующее антитело к IL17A человека из набора для ИФА HS R&D Quantikine
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Janssen Biotech, Inc.	mAb8575	Н/П
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	CovalAb R&D (Antibodies Online)	антитело ABIN1724556	В-С49, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Creative Diagnostics, Inc.	CABT-ZC1184	5D28, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Mabtech AB	Антитело к IL-17 человека 3520-3-250	MT44.6, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора	Моноклональное антитело IgG2B мыши	My Biosource (MBS)	MBS592444	3H11, мышинное антитело

	для ИФА DuoSet DY317	клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)			
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	My Biosource (MBS)	MBS592430	4C1, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	My Biosource (MBS)	MBS689609	нет информации, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	My Biosource (MBS)	MBS592432	8H7, мышинное антитело
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	NOVUS Biologicals LLC	Антитело к IL-17/IL-17A DDX0336B-100	408H6.01
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	OriGene Technologies Inc.	DDX0335B-50	414A11.03
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	OriGene Technologies Inc.	DDX0334B-50	412G6.06
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Моноклональное антитело IgG2B мыши клон № 41809 (номер по каталогу: MAB317)	Rockland Immunochemicals Inc.	конъюгированно с биотином антитело к IL-17A 209-306-B32	4H1524.1, мышинное антитело

Пример 3

В этом примере образцы, содержащие 1000 пг/мл IL-17 с титрованными SM-модуляторами, анализировали с использованием захватывающего антитела из набора для ИФА DuoSet DY317 (от R&D Systems, Inc.) в паре с с mAb4538 (от Janssen Biotech, Inc.) в качестве детектирующего агента. Как показано на ФИГ. 5А–5В, было обнаружено снижение уровней свободного IL-17 с увеличением концентрации соединений, демонстрируя дозозависимое целевое связывание SM-модуляторов с IL-17.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

для рассмотрения на региональной фазе

1. Способ определения количества свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и низкомолекулярный модулятор (SM) IL-17, включающий:

i. приведение образца в контакт с первым захватывающим антителом с образованием смеси, содержащей первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;

ii. приведение смеси со стадии i) в контакт с первым детектирующим агентом с образованием таким образом третьего комплекса, содержащего первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент; и

iii. определение количества свободного IL-17 путем измерения количества первого детектирующего агента в третьем комплексе,

причем SM-модулятор IL-17 представляет собой соединение, способное связываться с IL-17 и имеющее молекулярную массу в диапазоне от приблизительно 100 г/моль; до приблизительно 1500 г/моль,

предпочтительно первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело.

2. Способ по п. 1, в котором не осуществляют стадию промывки перед приведением в контакт смеси со стадии i) с первым детектирующим агентом.

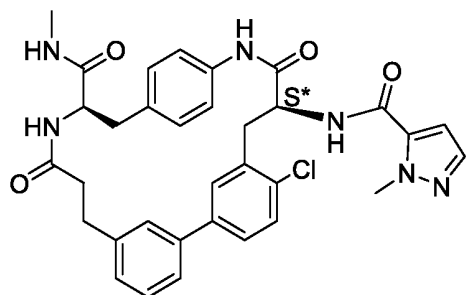
3. Способ определения целевого связывания SM-модулятора IL-17 у субъекта, включающий а) определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта, перед введением SM-модулятора с использованием способа по п. 1; б) определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта после введения SM-модулятора с

использованием способа по п. 1; и с) сравнение количества свободного IL-17, определенного на стадиях а) и б).

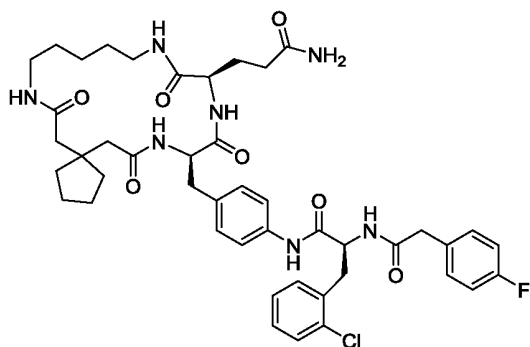
4. Способ определения целевого связывания SM-модулятора с IL-17 у субъекта, включающий определение количества свободного IL-17 в образце от субъекта в двух или более временных точках после введения SM-модулятора с использованием способа по п. 1; и б) сравнение количества свободного IL-17 в двух или более временных точках, определенных на стадии а).
5. Способ определения количества связанного с модуляторами IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, включающий:
 - i. приведение первой части образца в контакт с первым захватывающим антителом с образованием первой смеси, содержащей первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
 - ii. приведение первой смеси со стадии i в контакт с первым детектирующим агентом с образованием таким образом третьего комплекса, содержащего первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент;
 - iii. приведение второй части образца в контакт со вторым захватывающим антителом с образованием второй смеси, содержащей пятый комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и шестой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
 - iv. приведение второй смеси в контакт со вторым детектирующим агентом с образованием таким образом седьмого комплекса, содержащего второе захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй

- детектирующий агент, и восьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент;
- v. определение количества свободного IL-17 путем измерения количества первого детектирующего агента в третьем комплексе;
- 5 vi. определение общего количества IL-17 путем измерения общего количества второго детектирующего агента в седьмом комплексе и восьмом комплексе; и
- vii. определение количества связанного с модуляторами IL-17 в образце путем вычитания количества свободного IL-17, определенного на стадии (v), от общего количества IL-17 на стадии (vi),
- 10 причем SM-модулятор IL-17 представляет собой соединение, способное связываться с IL-17 и имеющее молекулярную массу в диапазоне от приблизительно 100 г/моль; до приблизительно 1500 г/моль,
- предпочтительно, первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело, а второй детектирующий агент представляет собой второе
- 15 детектирующее антитело.
6. Способ определения целевого связывания SM-модулятора IL-17 у субъекта, включающий а определение количества связанного с модулятором IL-17 в образце от субъекта, после введения SM-модулятора с использованием способа, описанного в п.
- 20 5.
7. Способ по любому из пп. 1–6, в котором SM-модулятор имеет молекулярную массу около 100–1500 г/моль.
- 25 8. Способ по п. 7, в котором SM-модулятор имеет молекулярную массу около 400–1050 г/моль или около 500–1000 г/моль, или около 600–900 г/моль.
9. Способ по п. 7, в котором SM-модулятор имеет молекулярную массу около 300–750 г/моль или около 500–800 г/моль или около 600–900 г/моль.

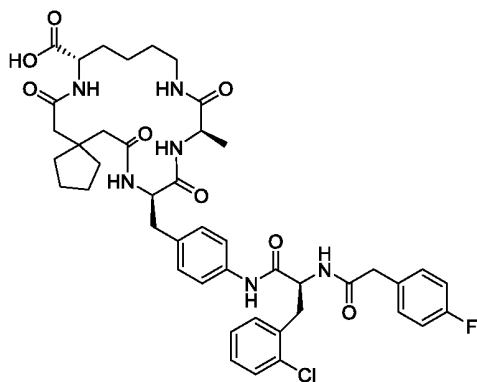
10. Способ по любому из пп. 1–6, в котором SM-модулятор выбран из группы, состоящей из соединений № 1–6, имеющих следующую структуру, и их фармацевтически приемлемых солей:



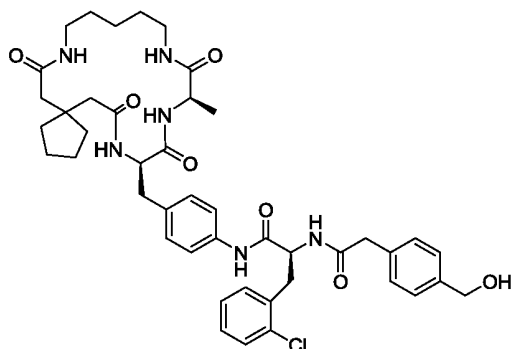
(Соединение № 1)



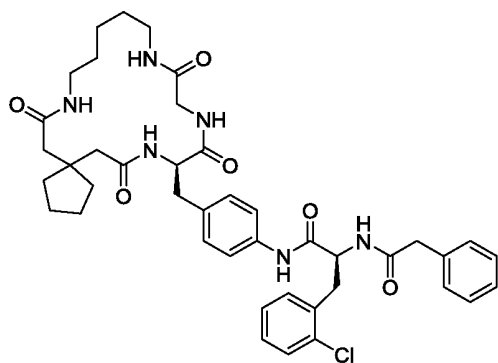
(Соединение № 2)



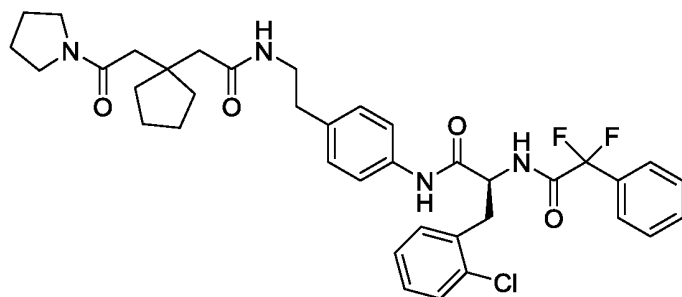
(Соединение № 3)



(Соединение № 4)

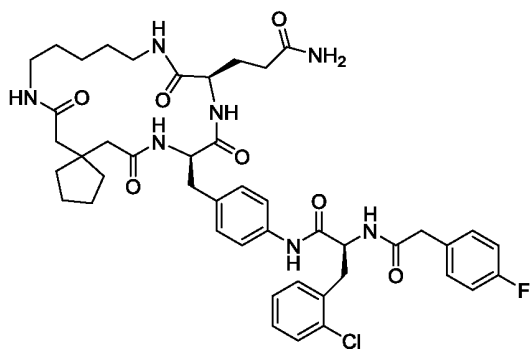


(Соединение № 5)

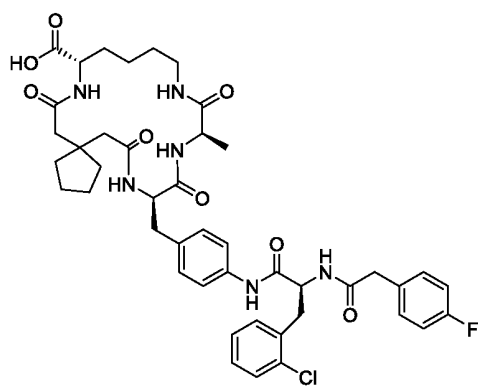


(Соединение № 6).

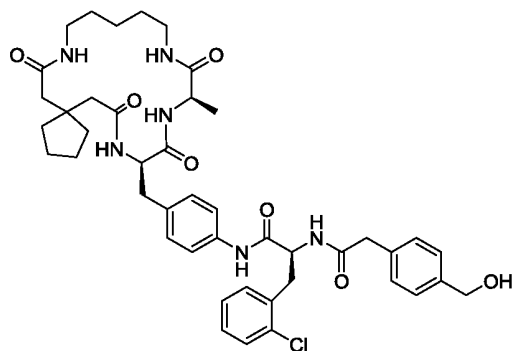
11. Способ по любому из пп. 1–6, в котором SM-модулятор выбран из группы, состоящей
 5 из соединений № 2–6, имеющих следующую структуру, и их фармацевтически приемлемых солей:



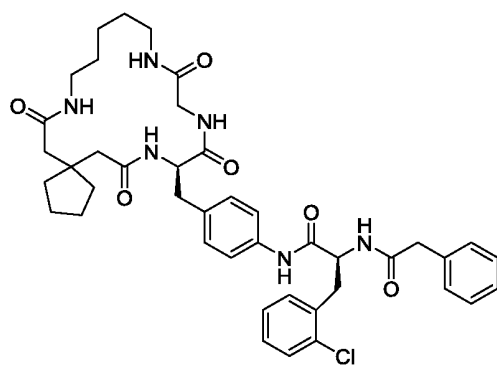
(Соединение № 2)



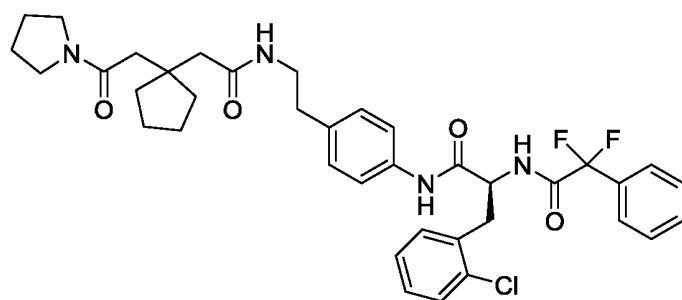
(Соединение № 3)



(Соединение № 4)



(Соединение № 5)



(Соединение № 6).

12. Способ по любому из пп. 1–11, в котором первый и/или второй детектирующий агент мечен детектируемой меткой, более предпочтительно метка представляет собой фермент или биотин.

5 13. Способ по любому из пп. 1–12, в котором первое захватывающее антитело и первый детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS № NBP1-82423
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS № NBP1-82423
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543

R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Janssen Biotech, Inc.,	mAb7024	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B

14. Способ по п. 13, в котором первое захватывающее антитело представляет собой захватывающее антитело из набора DuoSet ИФА DY317 (R&D Systems, Inc.), а первый детектирующий агент представляет собой человеческое антитело mAb4538 (от Janssen Biotech, Inc.).

5

15. Способ по любому из пп. 5–14, в котором второе захватывающее антитело, представляющее собой захватывающее антитело из набора ИФА DuoSet DY317, и второй детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17 человека из набора для ИФА HS HS170

R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	CovalAb R&D (Antibodies Online)	Антитело ABIN1724556
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1184
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17 человека 3520-3-250
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592444
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592430
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS689609
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592432
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Антитело к IL-17/IL-17A DDX0336B-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Antibodies Online	ABIN786722
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0334B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0335B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Rockland Immunochemicals Inc.	Конъюгированное с биотином антитело к IL-17A 209-306-B32

16. Способ по п. 15, в котором второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент представляют собой захватывающее антитело и детектирующее антитело из набора ИФА DuoSet DY317 (R&D Systems, Inc.), соответственно.

5

17. Способ по любому из пп. 1–16, в котором образец представляет собой биологический образец, полученный от субъекта при *ex vivo* или *in vivo* обработке SM-модулятором.

18. Способ по п. 17, в котором субъект является млекопитающим, предпочтительно человеком.

10

19. Способ по п. 17 или 18, в котором биологический образец выбирают из группы, состоящей из образца, полученного из клеток, тканей или сыворотки, плазмы или другого образца жидкой биологической среды.
- 5 20. Способ по любому из пп. 1–19, в котором указанный способ имеет чувствительность обнаружения с нижним пределом количественного определения (LLOQ) при около 0,01 или около 0,1, или около 0,25, или около 0,5, или около 0,75, или около 1 пг/мл IL-17 в образце.
- 10 21. Набор для определения количества свободного IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, содержащий:
 - i. первое захватывающее антитело, причем при контакте с образцом первое захватывающее антитело образует первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором; и
 - 15 ii. первый детектирующий агент, причем при контакте с первым комплексом и вторым комплексом первый детектирующий агент образует третий комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент,
 - 20 причем SM-модулятор IL-17 представляет собой соединение, способное связываться с IL-17 и имеющее молекулярную массу в диапазоне от приблизительно 100 г/моль; до приблизительно 1500 г/моль,
 - 25 предпочтительно первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело.
- 30 22. Набор для определения количества связанного с модуляторами IL-17 в образце, содержащем IL-17 и SM-модулятор IL-17, содержащий:

- i. первое захватывающее антитело, причем при контакте с образцом первое захватывающее антитело образует первый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй комплекс, содержащий первое захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
 - ii. первый детектирующий агент, причем при контакте с первым комплексом и вторым комплексом первый детектирующий агент образует третий комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент, но не четвертый комплекс, содержащий первое захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и первый детектирующий агент; и
 - iii. второе захватывающее антитело, причем при контакте с образцом второе захватывающее антитело образует пятый комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, не связанный с SM-модулятором, и шестой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело и IL-17, связанный с SM-модулятором;
 - iv. второй детектирующий агент, причем при контакте с пятым комплексом и шестым комплексом второй детектирующий агент образует седьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, не связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, и восьмой комплекс, содержащий второе захватывающее антитело, IL-17, связанный с SM-модулятором, и второй детектирующий агент, соответственно,
- причем SM-модулятор IL-17 представляет собой соединение, способное связываться с IL-17 и имеющее молекулярную массу в диапазоне от приблизительно 100 г/моль; до приблизительно 1500 г/моль,
- предпочтительно, первый детектирующий агент представляет собой первое детектирующее антитело, а второй детектирующий агент представляет собой второе детектирующее антитело.

23. Набор по п. 21 или 22, в котором первый детектирующий агент и/или второй детектирующий агент мечен детектируемой меткой, более предпочтительно метка представляет собой фермент или биотин.

5 24. Набор по любому из пп. 21–23, в котором первое захватывающее антитело и первый детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

Первое захватывающее антитело		Первый детектирующий агент	
Компания	Кат. № или ID	Компания	Кат. № или ID
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Thermo Fisher Scientific, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS BMS2017HS
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS № NBP1-82423
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	NOVUS Biologicals LLC	Детектирующее антитело к IL-17A человека из набора для ИФА HS № NBP1-82423
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	BioLegend, Inc.	Антитело к IL-17A человека 512702
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3584
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb3077
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Janssen Biotech, Inc.	mAb732
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb7024
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb4538
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Janssen Biotech, Inc.	mAb5548
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A DCABH-4543

R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1183
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics, Inc.	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-WN1669
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Quanterix Corp.	Захватывающее антитело из набора IL-17A Advantage 101599	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
Janssen Biotech, Inc.,	mAb7024	Invitrogen	Антитело к IL-17A MA1069B
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
Janssen Biotech, Inc.	mAb7024	Mabtech AB	Антитело к IL-17A человека 3520-5N-500
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Антитело ABIN5507411
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Рекомбинантный человеческий IL-17RA/IL-17R Fc-химерный белок, cF, 177-IR-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Sino Biological Inc.	Белок IL-17RA 10895-H08H-B

25. Набор по п. 24, в котором первое захватывающее антитело представляет собой захватывающее антитело из набора DuoSet ИФА DY317 (R&D Systems, Inc.), а первый детектирующий агент представляет собой человеческое антитело mAb4538 (от Janssen Biotech, Inc).

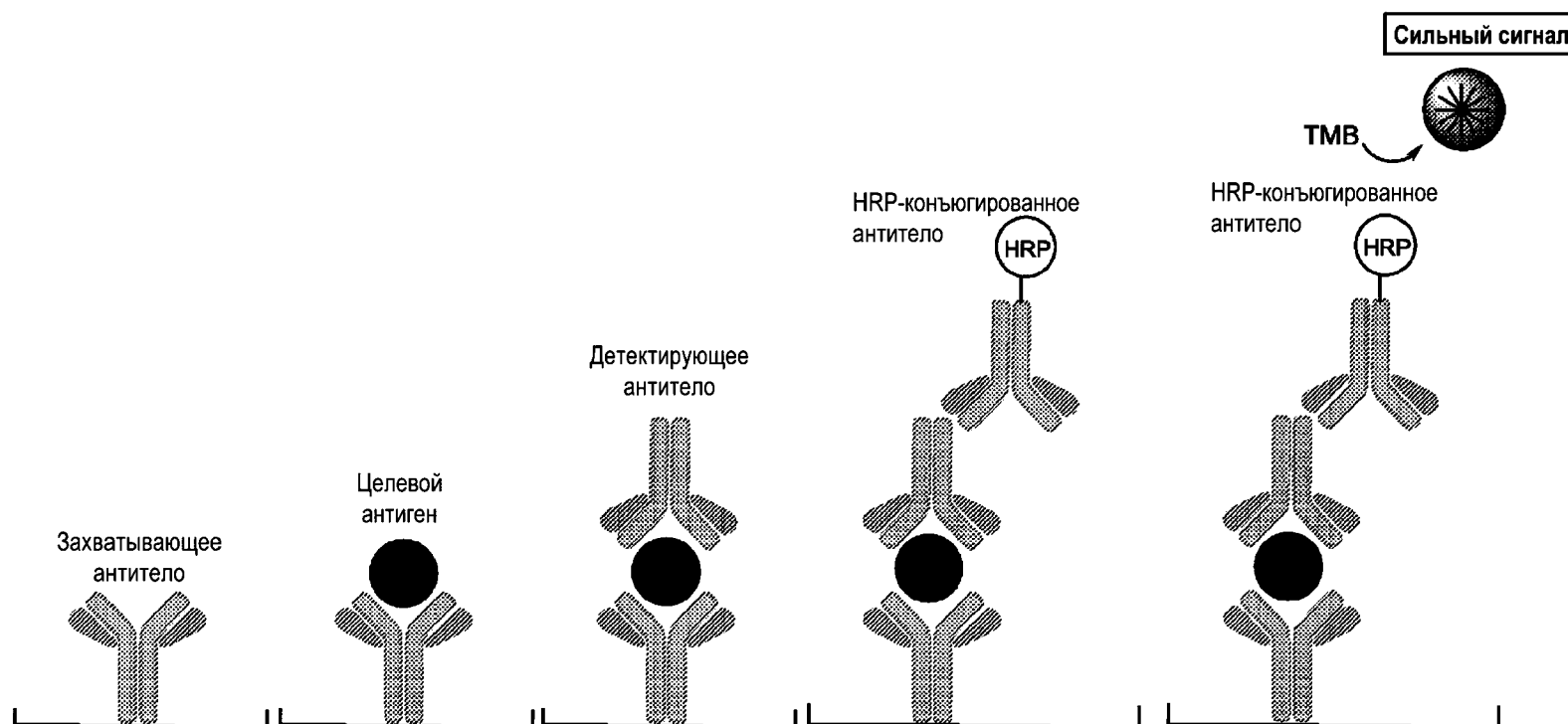
5

26. Набор по любому из пп. 22–25, в котором второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент выбраны из пар в следующей таблице:

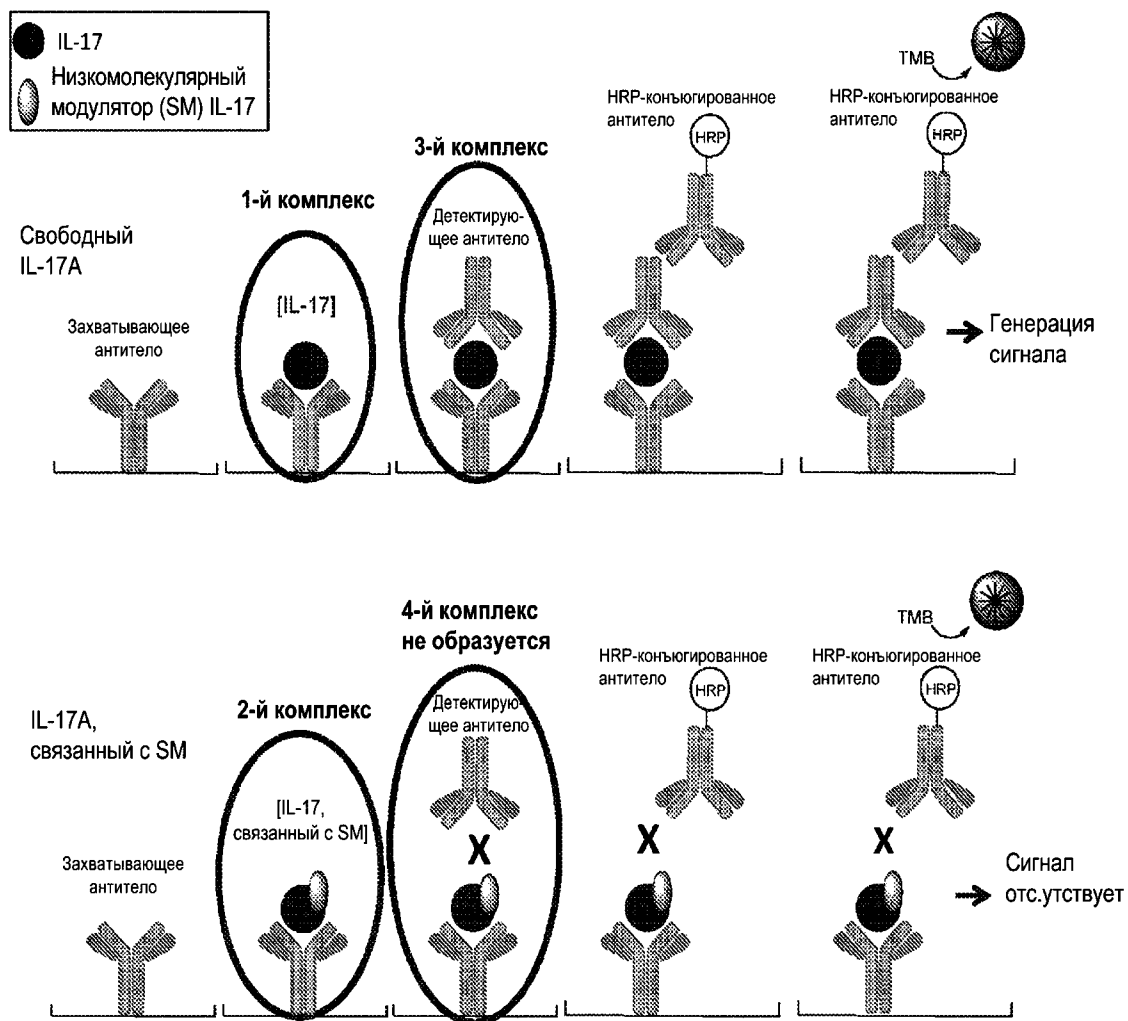
Второе захватывающее антитело		Второй детектирующий агент	
Компания	Кат. №	Компания	Кат. №
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	R&D Systems, Inc.	Детектирующее антитело к IL-17 человека из набора для ИФА HS HS170
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	CovalAb R&D (Antibodies Online)	Антитело ABIN1724556

R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Creative Diagnostics	Моноклональное антитело к IL-17A CABT-ZC1184
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Mabtech AB	Антитело к IL-17 человека 3520-3-250
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592444
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592430
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS689609
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	MyBioSource (MBS)	Антитело к IL-17A MBS592432
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	NOVUS Biologicals LLC	Антитело к IL-17/IL-17A DDX0336B-100
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Antibodies Online	ABIN786722
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0334B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	OriGene Technologies Inc.	DDX0335B-50
R&D Systems, Inc.	Захватывающее антитело из набора для ИФА DuoSet DY317	Rockland Immunochemicals Inc.	Конъюгированное с биотином антитело к IL-17A 209-306-B32

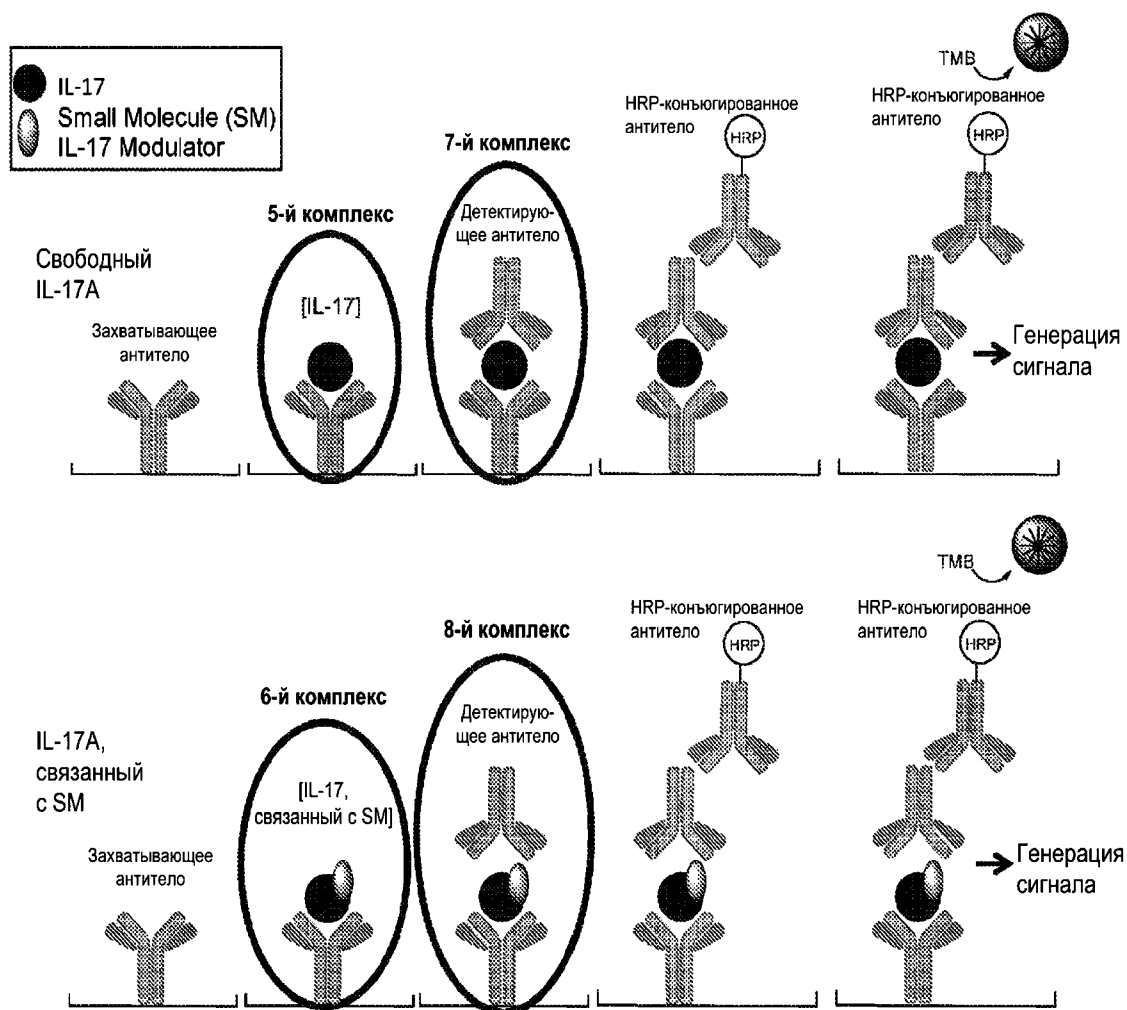
27. Набор по п. 26, в котором второе захватывающее антитело и второй детектирующий агент представляют собой захватывающее антитело и детектирующее антитело из набора ИФА DuoSet DY317 (R&D Systems, Inc.), соответственно.



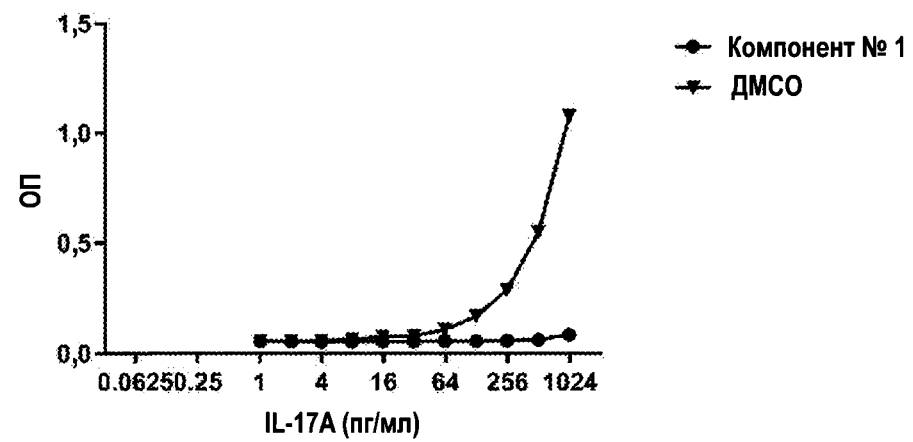
Фиг. 1А



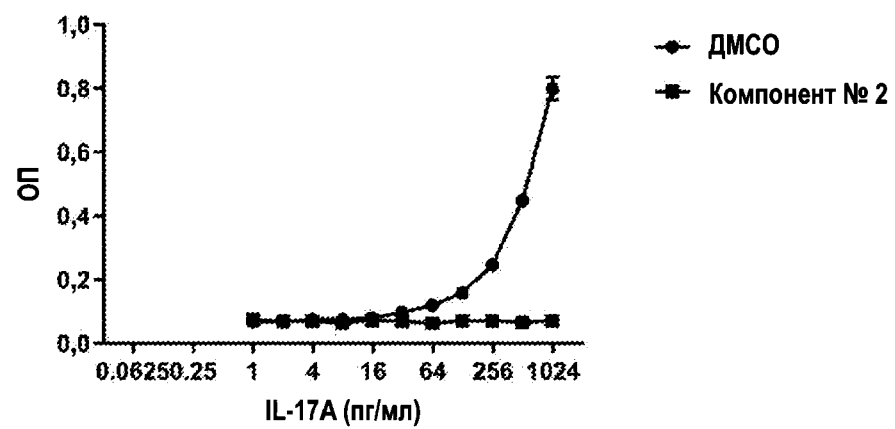
Фиг. 1В



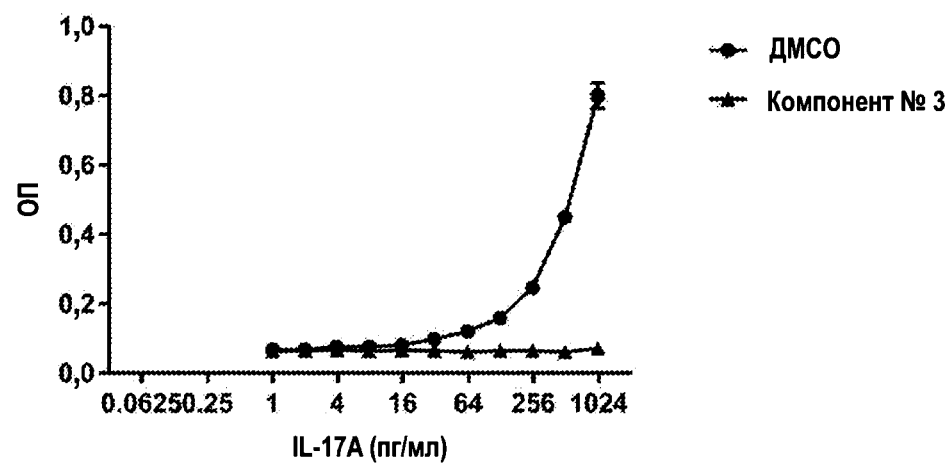
Фиг. 1С



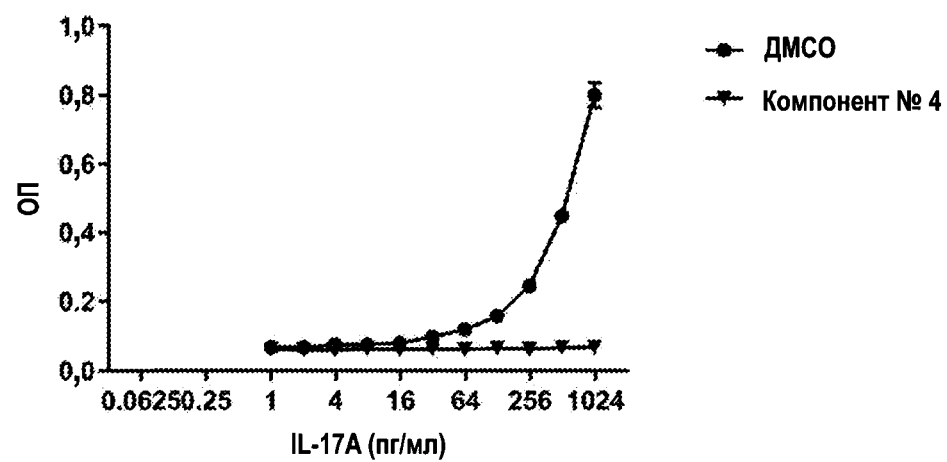
Фиг. 2А

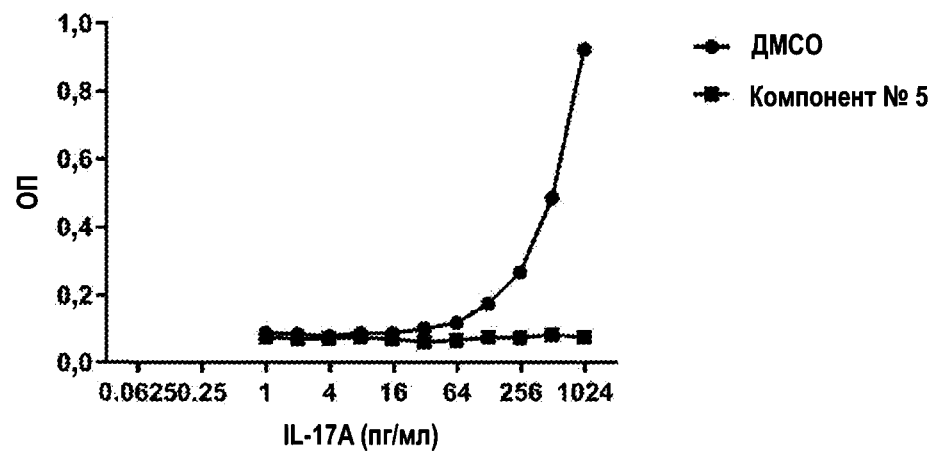


Фиг. 2В

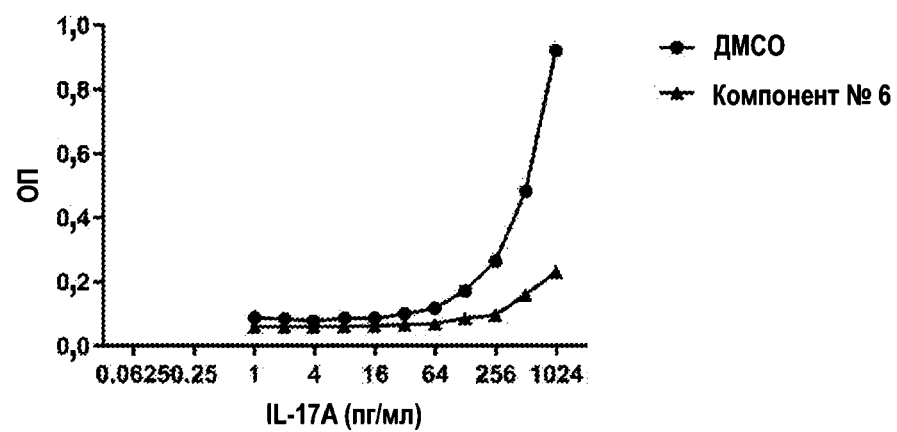


Фиг. 2С

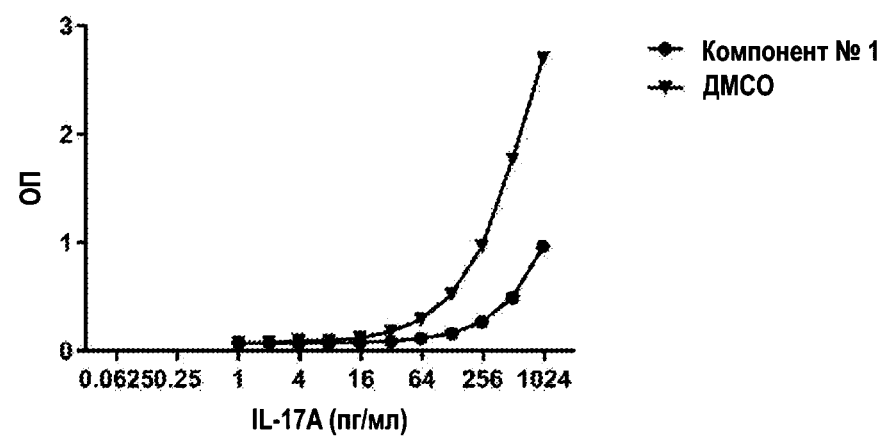
**Фиг. 2D**



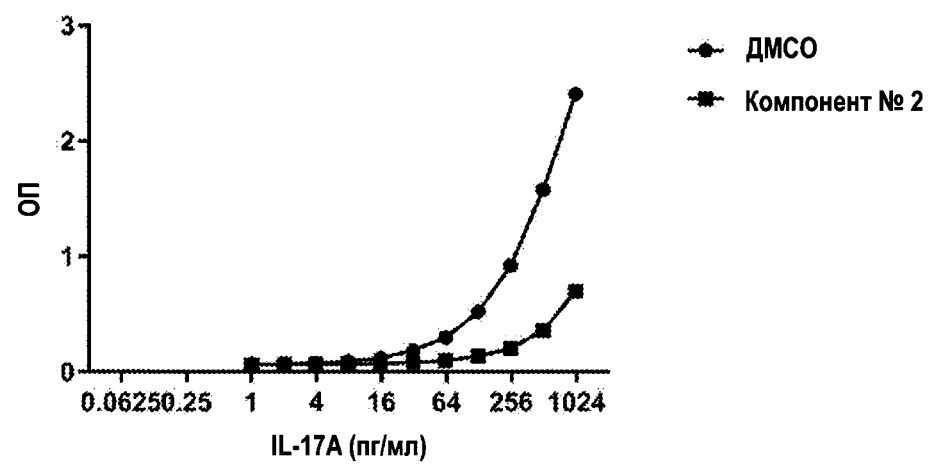
Фиг. 2Е



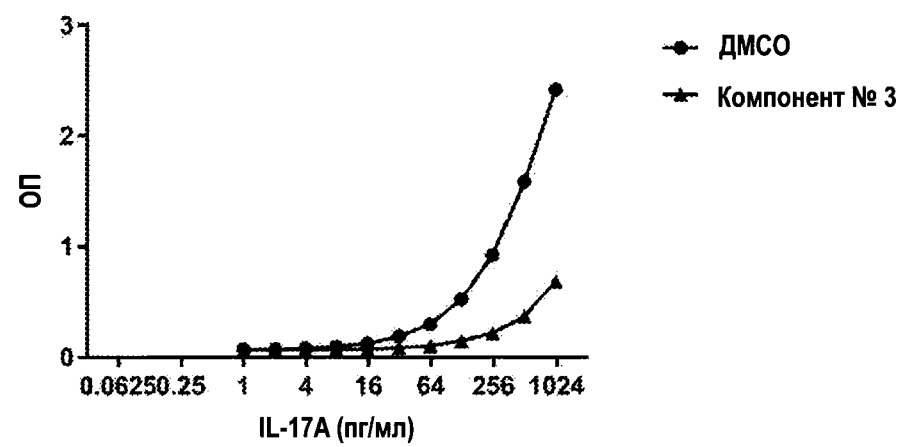
Фиг. 2F



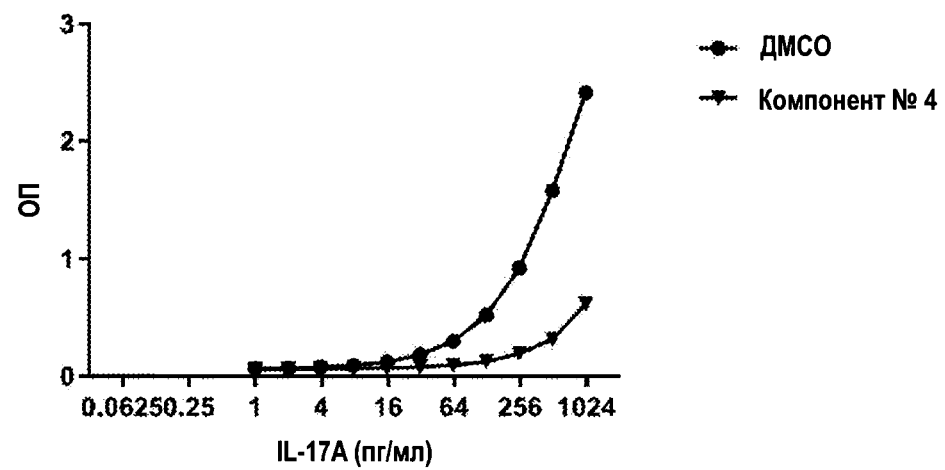
Фиг. 3А



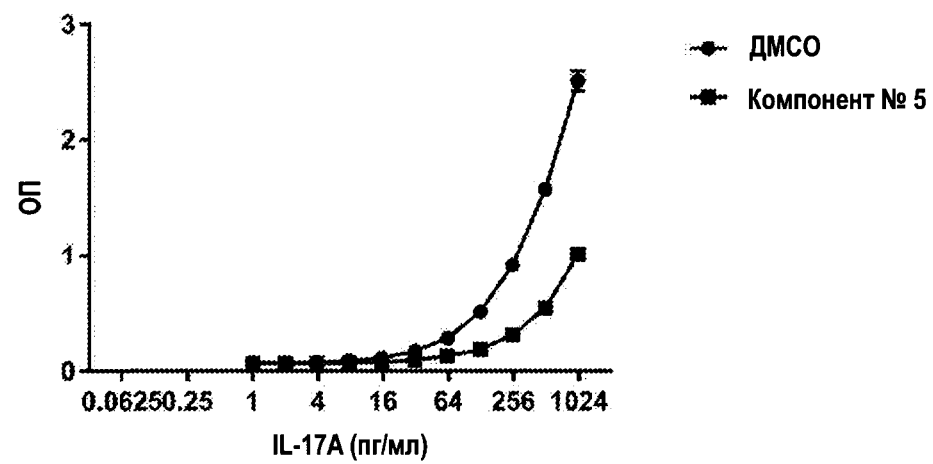
Фиг. 3В



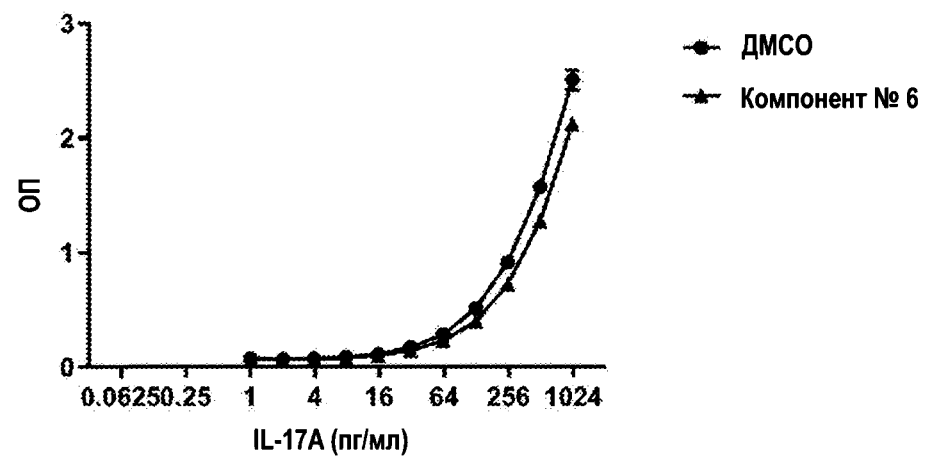
Фиг. 3С



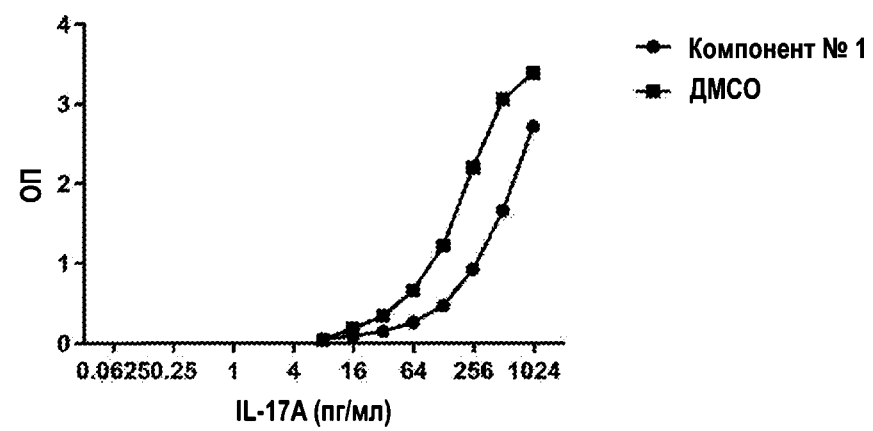
Фиг. 3D



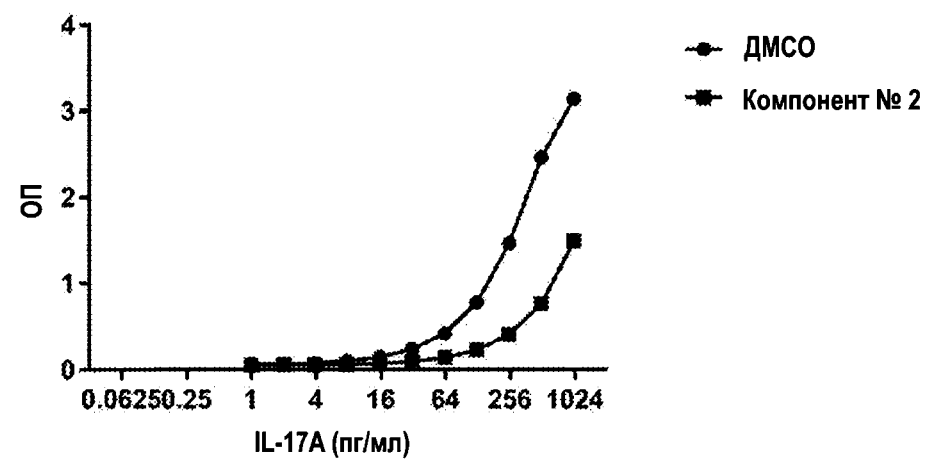
Фиг. 3Е



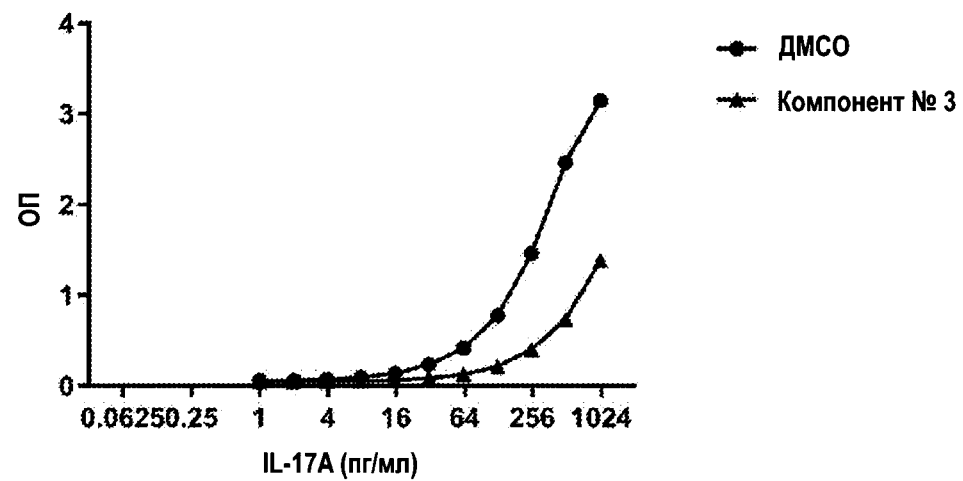
Фиг. 3F



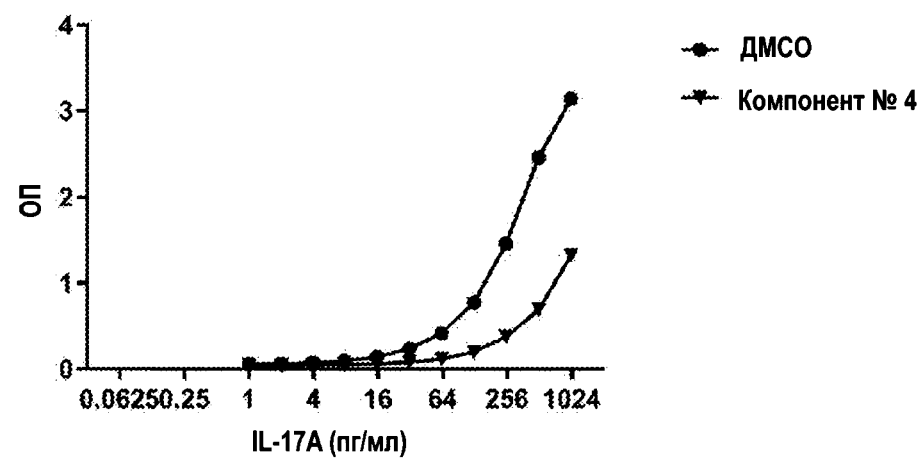
Фиг. 4А



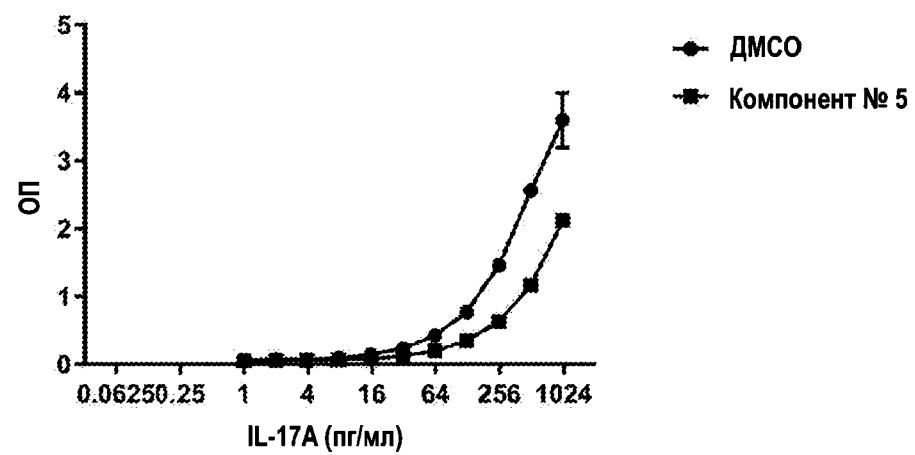
Фиг. 4В



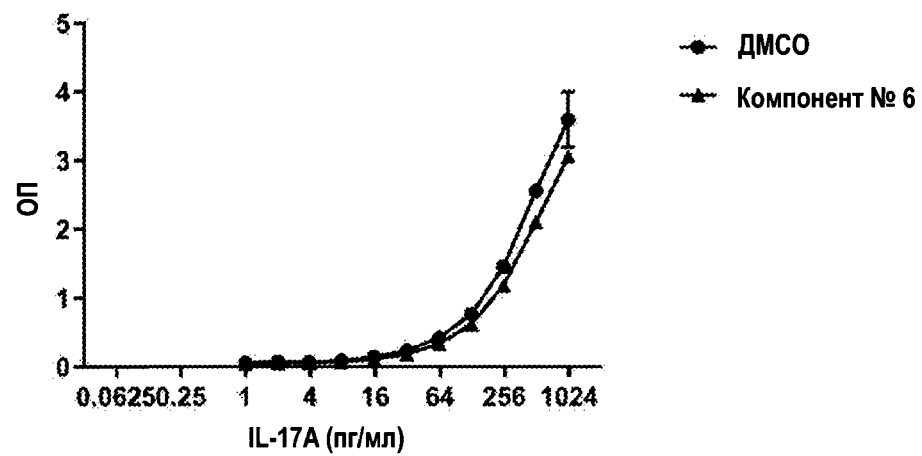
Фиг. 4С

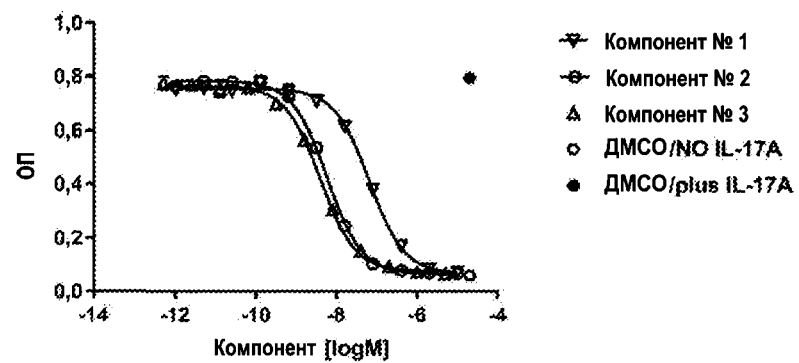


Фиг. 4D



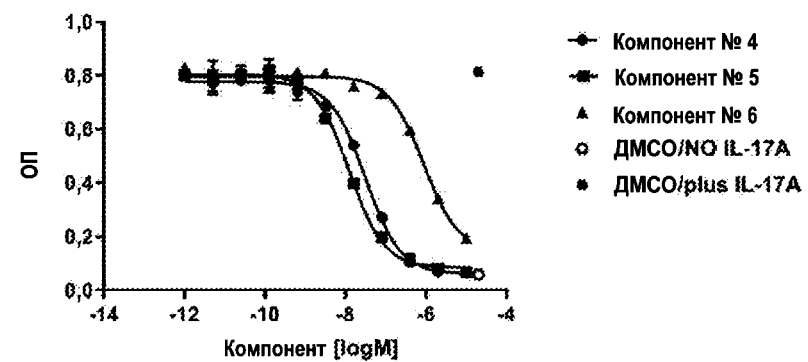
Фиг. 4Е

**Фиг. 4F**



	Компонент № 1	Компонент № 2	Компонент № 3
EC50	6.555e-008	5.857e-009	3.926e-009

Фиг. 5А



	Компонент № 4	Компонент № 5	Компонент № 6
EC50	3.122e-008	1.245e-008	8.749e-007

Фиг. 5В