

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 035459

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

- | | | |
|---------------------------------------|---------------|------------------------------|
| (45) Дата публикации и выдачи патента | (51) Int. Cl. | <i>C07K 16/24</i> (2006.01) |
| 2020.06.19 | | <i>C07K 16/42</i> (2006.01) |
| (21) Номер заявки | | <i>C12N 15/13</i> (2006.01) |
| 201301072 | | <i>C12N 15/63</i> (2006.01) |
| (22) Дата подачи заявки | | <i>C12N 5/10</i> (2006.01) |
| 2006.12.28 | | <i>A61K 39/395</i> (2006.01) |
| | | <i>A61P 37/00</i> (2006.01) |
| | | <i>A61J 1/00</i> (2006.01) |

(54) АНТИТЕЛО ПРОТИВ IL-23P19

- | | |
|--|-----------------------|
| (31) 60/754,889 | (56) WO-A1-2005108425 |
| (32) 2005.12.29 | WO-A2-2004101750 |
| (33) US | |
| (43) 2014.06.30 | |
| (62) 200870129; 2006.12.28 | |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец: | |
| СЕНТОКОР, ИНК. (US) | |
| (72) Изобретатель: | |
| Бенсон Жаклин, Картон Джилл,
Каннингхэм Марк, Орловски
Евгения И. (US), Раухенбергер Роберт
(DE), Свит Рэймонд (US) | |
| (74) Представитель: | |
| Медведев В.Н. (RU) | |

-
- (57) Изобретение относится к антителу человека против IL-23p19 и его вариантам, а также к выделенным нуклеиновым кислотам, которые кодируют указанное антитело и его варианты, к вектору экспрессии, клетке-хозяину и способам получения. Антитело можно применять для диагностических и/или терапевтических целей.

B1

035459

035459

B1

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к антителам, в том числе к определенным участкам или вариантам, специфичным по меньшей мере к одному белку IL-23 или его фрагменту, а также к антиидиотипическим антителам и нуклеиновым кислотам, кодирующим антитела против IL-23p19, комплементарным им нуклеиновым кислотам, векторам, клеткам-хозяевам, и к способам их получения и применения, включающим терапевтические составы, введение и устройства.

Предпосылки изобретения

Интерлейкин (IL)-12 представляет собой секретируемый гетеродимерный цитокин, состоящий из 2 связанных дисульфидной связью гликозилированных белковых субъединиц, обозначаемых как p35 и p40 из-за их приблизительной молекулярной массы. IL-12 продуцируется, главным образом, антигенпредставляющими клетками и запускает клеточно-опосредуемый иммунитет посредством связывания двухцепочечного рецепторного комплекса, который экспрессируется на поверхности Т-клеток или естественных киллерных (NK) клеток. Цепь рецептора для IL-12 бета-1 (IL-12Rβ1) связывается с субъединицей p40 IL-12, обеспечивая первичное взаимодействие между IL-12 и его рецептором. Однако внутриклеточную передачу сигнала (например, фосфорилирование STAT4) и активацию несущих рецептор клеток обеспечивает связывание посредством IL-12p35 второй цепи рецептора, IL-12Rβ2 (Presky et al., 1996). Полагают, что передача сигнала IL-12 одновременно с представлением антигена активирует дифференцировку Т-клеток в направлении фенотипа Т-хелперов 1 (Th1), характеризующегося продукцией интерферона гамма (IFNγ) (Trinchieri, 2003). Полагают, что Th1-клетки обеспечивают иммунитет против некоторых внутриклеточных патогенов, образуют фиксирующие комплемент изотипы антител и осуществляют опухолевый иммунологический надзор. Таким образом, полагают, что IL-12 является важным компонентом для механизмов иммунной защиты хозяина.

Было открыто, что белковая субъединица p40 IL-12 также может связываться с отдельной белковой субъединицей, обозначаемой как p19, с образованием нового цитокина, IL-23 (Orman et al., 2000). Также IL-23 передает сигнал через двухцепочечный рецепторный комплекс. Поскольку субъединица p40 является общей для IL-12 и IL-23, то цепь IL-12Rβ1 также является общей для IL-12 и IL-23. Однако специфичную для IL-23 внутриклеточную передачу сигнала (например, фосфорилирование STAT3) и последующую продукцию IL-17 Т-клетками обеспечивает связывание IL-23p19 со вторым компонентом рецепторного комплекса для IL-23, IL-23R (Parham et al., 2002; Aggarwal et al., 2003). Последние исследования показали, что биологические функции IL-23 отличаются от функций IL-2, несмотря на структурное сходство между двумя цитокинами (Langrish et al., 2005).

Нарушенная регуляция IL-12 и популяций Th1-клеток ассоциирована со многими опосредуемыми иммунной системой заболеваниями, поскольку нейтрализация IL-12 антителами является эффективной для лечения псориаза, рассеянного склероза (РС), ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника, инсулин-зависимого сахарного диабета (1 типа) и увеита в моделях на животных (Leonard et al., 1995; Hong et al., 1999; Malfait et al., 1998; Davidson et al., 1998). Однако поскольку эти исследования были нацелены на общую субъединицу p40, *in vivo* происходила нейтрализация как IL-12, так и IL-23. Таким образом, было неясно, IL-12 или IL-23 опосредовал заболевание, или необходимо ли ингибировать оба цитокина для достижения подавления заболевания. Последние исследования подтвердили, с помощью дефицитных по IL-2 3p19 мышей или специфичной нейтрализации IL-23 антителами, что ингибирование IL-23 может обеспечить положительный результат, эквивалентный стратегиям против IL-12p40 (Cua et al., 2003; Murphy et al., 2003; Benson et al., 2004). Таким образом, накапливаются доказательства специфичной роли IL-23 в опосредуемом иммунной системой заболевании. Нейтрализация IL-23 без ингибирования каскадов IL-12 затем может обеспечить эффективное лечение опосредуемого иммунной системой заболевания с ограниченным влиянием на важный механизм иммунной защиты хозяина. Это может представлять собой значительное усовершенствование по сравнению с современными способами лечения.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к выделенным антителам млекопитающих, включая человека, которые связывают субъединицу p19 IL-23, антителам против IL-23p19 (также обозначаемым как антитела к IL-23p19), иммуноглобулинам, фрагментам, продуктам расщепления и другим определенным их участкам и вариантам, а также к композициям антител против IL-23p19, антиидиотипическим антителам, кодирующим или комплементарным нуклеиновым кислотам, векторам, клеткам-хозяевам, композициям, сочетаниям, составам, устройствам, трансгенным животным, трансгенным растениям и к способам их получения и применения.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к выделенным молекулам нуклеиновых кислот, содержащим полинуклеотид, кодирующий специфичные антитела против IL-23p19 или антиидиотипические антитела, содержащие по меньшей мере одну их определенную последовательность, домен, участок или вариант, комплементарным этому полинуклеотиду или гибриду с ним. Кроме того, настоящее изобретение относится к рекомбинантным векторам, содержащим указанные молекулы нуклеиновых кислот антител против IL-23p19, клеткам-хозяевам, содержащим такие нуклеиновые кислоты

и/или рекомбинантные векторы, а также к способам получения и/или применения таких нуклеиновых кислот антител, векторов и/или клеток-хозяев.

Также настоящее изобретение относится по меньшей мере к одному способу экспрессии по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 или антиидиотипического антитела против IL-23p19 в клетке-хозяине, включающему культивирование клетки-хозяина, как описано в настоящем документе, в условиях, при которых по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 экспрессируется в поддающихся выявлению и/или выделению количествах.

Также настоящее изобретение относится по меньшей мере к одной композиции, содержащей (а) выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело против IL-23p19, и/или антитело, как описано в настоящем документе; и (б) пригодный и/или фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

Кроме того, настоящее изобретение относится по меньшей мере к одному способу или композиции антитела против IL-23p19 для введения терапевтически эффективного количества в целях модулирования или лечения по меньшей мере одного связанного с IL-23p19 состояния в клетке, ткани, органе, у животного или у пациента, и/или до, после или в процессе связанного с ним состояния, как известно в данной области и/или как описано в настоящем документе.

Также настоящее изобретение относится по меньшей мере к одной композиции, устройству и/или способу доставки терапевтически или профилактически эффективного количества по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 в соответствии с настоящим изобретением.

Кроме того, настоящее изобретение относится по меньшей мере к одному способу или композиции антитела против IL-23p19 для диагностики по меньшей мере одного связанного с IL-23p19 состояния в клетке, ткани, органе, у животного или у пациента, и/или до, после или в процессе связанного с ним состояния, как известно в данной области и/или как описано в настоящем документе.

Также настоящее изобретение относится по меньшей мере к одной композиции, устройству и/или способу доставки для диагностики по меньшей мере одного антитела против IL-23p19, в соответствии с настоящим изобретением.

Также предусмотрено медицинское устройство, содержащее по меньшей мере одно выделенное антитело против IL-23p19 по этому изобретению, где устройство является пригодным для контактирования или введения по меньшей мере одного антитела против IL-23p19, антиидиотипического антитела против IL-23p19, молекулы нуклеиновой кислоты, соединения, белка и/или композиции.

Также предусмотрено изделие для фармацевтического или диагностического применения у человека, содержащее упаковочный материал и контейнер, содержащий раствор или лиофилизированную форму по меньшей мере одного выделенного антитела млекопитающего против IL-23p19 по настоящему изобретению. Изделие необязательно может содержать контейнер в качестве компонента устройства или системы для доставки.

Кроме того, настоящее изобретение относится к любому описанному в настоящем документе изобретению.

Описание фигур

На фиг. 1А показано, что человеческие антитела против IL-23p19 специфично связываются с hrIL-23 и не связываются с hrIL-12 или мономером hrp40. Показано, что антитело против IL-12/IL-23 p40 связывает IL-23, IL-12 и мономер p40.

На фиг. 1В показано, что человеческие антитела против IL-23p19 связываются с IL-23, но не с IL-23 мыши или его субъединицами.

На фиг. 2 показывается связывание IL-23 с двумя иммобилизованными на планшете антителами против IL-23p19 по этому изобретению.

На фиг. 3А показано, что антитела MOR04083 и MOR04190 блокируют нормальное связывание IL-23/IL-23R.

На фиг. 3В показано, что антитела MOR04083 и MOR04190 не блокируют нормальное связывание IL-23/IL-12Rβ1.

На фиг. 3С показано, что антитела MOR04083, MOR04190 и MOR04217 не ингибируют связывание IL-12 с IL-12Rβ1-Fc.

На фиг. 4 показано, что антитела против IL-23p19 MOR04083 и MOR04190 по этому изобретению ингибируют опосредуемое hrIL-23 фосфорилирование STAT 3.

На фиг. 5А показано, что антитела против IL-23p19 MOR04083 и MOR04190 по этому изобретению ингибируют опосредуемую рекомбинантным hrIL-23 продукцию IL-17.

На фиг. 5В показано, что антитела против IL-23p19 MOR04083 и MOR04190 по этому изобретению ингибируют опосредуемую нативным hrIL-23 продукцию IL-17.

Фиг. 5С показано, что антитела против IL-23p19 MOR04083 и MOR04190 по этому изобретению ингибируют опосредуемую нативным IL-23 яванской макаки продукцию IL-17.

На фиг. 6 показано, что антитела против IL-23p19 MOR04083 и MOR04190 по этому изобретению не ингибируют опосредуемую hrIL-12 продукцию IFNγ.

На фиг. 7А-7С показано, что антитела против IL-23p19 MOR04083, MOR04190 и MOR04217 по

этому изобретению перекрестно конкурируют друг с другом за связывания с huIL-23.

На фиг. 8 показано, что антитела против IL-23p19 MOR05028, 05038, 05040, 05042, 05045, 05049 и 05053 по этому изобретению ингибируют опосредуемую рекомбинантным hrIL-23 продукцию IL-17.

На фиг. 9 показано, что антитела против IL-23p19 MOR05028, 05038, 05040, 05042, 05045, 05049 и 05053 по этому изобретению блокируют нормальное связывание IL-23/IL-23R.

На фиг. 10 показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению специфично связываются с hrIL-23 и не связываются с hrIL-12 или мономером hrp40, аналогично мышинному моноклональному антителу против IL-23p19, mAb23A. Показано, что антитело против IL-12/IL-23p40 mAb 12A связывает IL-23, IL-12 и мономер p40.

На фиг. 11А показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению блокируют нормальное связывание IL-23/IL-23R.

Фиг. 11В показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению не блокируют нормальное связывание IL-23/IL-12Rβ1.

На фиг. 11С показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению не ингибируют связывание IL-12 с IL-12Rβ1-Fc.

На фиг. 12 показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению не ингибируют индуцируемую IL-12 продукцию INFγ из клеток NK92MI.

На фиг. 13 показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению ингибируют опосредуемую рекомбинантным hrIL-23 продукцию IL-17.

На фиг. 14 показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению ингибируют опосредуемую нативным hrIL-23 продукцию IL-17.

На фиг. 15 показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению ингибируют опосредуемую нативным IL-23 яванской макаки продукцию IL-17.

На фиг. 16А показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению и mAb23A конкурируют за связывание IL-23 с иммобилизованным mAb23A.

На фиг. 16В показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению и, в меньшей степени, mAb23A конкурируют за связывание IL-23 с иммобилизованным mAb 5040^{Q/EV}.

На фиг. 16С показано, что антитела против IL-23p19 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} по этому изобретению и mAb23A конкурируют за связывание IL-23 с иммобилизованным mAb 3759^{EQ/QS}.

Описание изобретения

Настоящее изобретение относится к выделенным, рекомбинантным и/или синтетическим антителам против IL-23p19, включая, но не ограничиваясь ими, антиидиотипические антитела млекопитающих (например, человека) против IL-23p19 к ним, а также к композициям и кодирующим молекулам нуклеиновых кислот, содержащим по меньшей мере один полинуклеотид, кодирующий по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 или антиидиотипическое антитело. Кроме того, настоящее изобретение относится, но не ограничивается ими, к способам получения и применения таких нуклеиновых кислот и антител, и антиидиотипических антител, в том числе к диагностическим и терапевтическим композициям, способам и устройствам.

Как используют в настоящем документе, "антитело против IL-23p19", "антитело к IL-23p19", "участок антитела против IL-23p19" или "фрагмент антитела против IL-23p19" и/или "вариант антитела против IL-23p19" и т.п., включает любой белок или пептид, содержащий молекулу, которая содержит по меньшей мере часть молекулы иммуноглобулина, такую как, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере один определяющий комплементарность участок (CDR) тяжелой или легкой цепи или его связывающий лиганд участок, вариабельный участок тяжелой цепи или легкой цепи, константный участок тяжелой цепи или легкой цепи, каркасная область, или их любой участок, или по меньшей мере один участок рецептора для IL-23 или связывающего белка, который может быть встроен в антитело по настоящему изобретению. Такое антитело необязательно дополнительно воздействует на специфичный лиганд, например, но не ограничиваясь этим, таким образом, что такое антитело модулирует, снижает, повышает, осуществляет антагонизм, осуществляет агонизм, смягчает, ослабляет, блокирует, ингибирует, устраняет и/или предотвращает по меньшей мере один вид активности IL-23 или его связывание или один вид активности рецептора для IL-23 или его связывание *in vitro*, *in situ* и/или *in vivo*. В качестве неограничивающего примера, пригодное антитело против IL-23p19, определенный участок или вариант по настоящему изобретению, могут связывать по меньшей мере одну молекулу IL-13, или ее определенные участки, варианты или домены. Пригодное антитело против IL-23p19, определенный участок или вариант также необязательно могут воздействовать по меньшей мере на один вид активности или функцию IL-23p19, такие как, но не ограничиваясь ими, синтез РНК, ДНК или белка, высвобождение IL-23, передача сигнала рецептора для IL-23, расщепление мембранного IL-23, активность IL-23, продукция и/или синтез IL-23.

Кроме того, подразумевают, что термин "антитело" включает антитела, их фрагменты расщепления, определенные участки и варианты, включающие, но не ограничивающиеся ими, миметики антител или содержащие участки антител, которые имитируют структуру и/или функцию антитела или определенно-

го его фрагмента или участка, включая, но не ограничиваясь ими, одноцепочечные антитела, антитела из одного домена и их фрагменты. Функциональные фрагменты включают антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются с IL-23p19 человека. Например, к этому изобретению относятся фрагменты антител, способные связываться с IL-23p19 или его участками, включая, но не ограничиваясь ими, фрагменты Fab (например, посредством расщепления папаином), Fab' (например, посредством расщепления пепсином или частичного восстановления) и F(ab')₂ (например, посредством расщепления пепсином), fab (например, посредством расщепления плазмином), pFc' (например, посредством расщепления пепсином или плазмином), Fd (например, посредством расщепления пепсином, частичного восстановления и повторной агрегации), Fv или scFv (например, посредством способов молекулярной биологии) (см., например, Colligan, Immunology, выше).

Такие фрагменты можно получать ферментативным расщеплением, синтетическими или рекомбинантными способами, которые известны в данной области и/или как описано в настоящем документе. Также антитела можно получать в виде многообразных укороченных форм с использованием генов антител, в которые встроены один или несколько стоп-кодонов выше природного стоп-кодона. Например, можно сконструировать комбинированный ген, кодирующий участок тяжелой цепи F(ab')₂, включающий последовательности ДНК, кодирующие домен C_H1 и/или шарнирную область тяжелой цепи. Различные участки антител можно соединять вместе химически посредством общепринятых способов их или можно получать в виде непрерывного белка с использованием способов генетической инженерии.

Как используют в настоящем документе, подразумевают, что термин "антитело человека" включает антитела, имеющие переменные и константные участки, образованные из близко сходных последовательностей иммуноглобулинов эмбрионального типа человека. Антитела человека по этому изобретению могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов эмбрионального типа (например, мутации, внесенные случайным или сайт-направленным мутагенезом *in vitro* или посредством соматической мутации *in vivo*). Таким образом, как используют в настоящем документе, термин "антитело человека" относится к антителу, в котором по существу каждая часть белка (например, CDR, каркасная область, домены C_L, C_H (например, C_H1, C_H2, C_H3), шарнирная область, (V_L, V_H)) является по существу сходной с антителом человека эмбрионального типа. Антитела человека классифицируют на группы на основе сходства их аминокислотных последовательностей, см., например, <http://people.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s/>. Таким образом, с использованием поиска сходства последовательностей можно выбрать антитело со сходной линейной последовательностью, в качестве матрицы для создания "гуманизированных антител".

"Гуманизация" (также называемая перестройкой или пересадкой CDR) в настоящее время является общепринятым способом снижения иммуногенности моноклональных антител (mAb) из ксеногенетических источников (обычно грызунов) и улучшения эффекторных функций (ADCC, активация комплемента, связывание C1q). Сконструированное mAb получают с использованием способов молекулярной биологии, однако простая пересадка CDR определяющих комплементарность участков (CDR) грызунов в человеческие каркасные области часто приводит к потере аффинности связывания и/или специфичности исходного mAb. В целях гуманизации антитела, конструкция гуманизированного антитела включает изменения, такие как консервативные аминокислотные замены в остатках CDR и обратная замена остатков с mAb грызуна на каркасные области человека (обратные мутации). Положения можно определить и идентифицировать сравнением последовательностей для структурного анализа или анализом модели гомологии 3D-структуры переменных участков. В процессе созревания аффинности совсем недавно использовали фаговые библиотеки для варьирования аминокислот в выбранных положениях. Аналогично использовали множество подходов для выбора наиболее пригодных каркасных областей человека для пересадки в них CDR грызунов. По мере возрастания совокупности данных об известных параметрах для структур антител, повышается детализация и уточнение этих способов. Можно использовать консенсусные или эмбриональные последовательности из отдельного антитела или фрагменты каркасных последовательностей в каждом переменном участке легкой или тяжелой цепи из нескольких различных mAb. Другим подходом к гуманизации является модификация только поверхностных остатков последовательностей грызунов остатками, наиболее часто встречающимися в mAb человека, и он называется "изменением поверхности" или "гиперхимеризацией". Известные последовательности Ig описаны, например,

www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi;

www.nebi.nih.gov/igblast;

www.atec.org/phage/hdb.html;

www.kabatdatabase.com/top.html;

www.antibodyresource.com/onlinecomp.html;

www.appliedbiosystems.com;

www.biodesign.com;

antibody.bath.ac.uk;

www.unizh.ch;

www.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s;

Rabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health (1983),

все из которых включены в настоящий документ в качестве ссылок в полном объеме. Часто, антитело человека или гуманизированное антитело является по существу неиммуногенным у человека.

Аналогично антителами, обозначаемыми как антитела приматов (обезьяны, бабуина, шимпанзе и т.д.), грызунов (мыши, крысы, кролика, морской свинки, хомяка и т.п.) и других млекопитающих, обозначают такие антитела, специфичные для вида, подрода, рода, подсемейства и семейства. Кроме того, химерные антитела могут включать любое сочетание из указанных выше антител. Такие изменения или отклонения необязательно и предпочтительно сохраняют или снижают иммуногенность у человека или других видов по сравнению с немодифицированными антителами. Таким образом, антитело человека отличается от химерного или гуманизированного антитела.

Следует отметить, что антитело человека можно получать с помощью не относящегося к человеку животного или прокариотической или эукариотической клетки, которые способны экспрессировать функционально перестроенные гены иммуноглобулина человека (например, тяжелую цепь и/или легкую цепь). Кроме того, когда антитело человека представляет собой одноцепочечное антитело или антитело с одним доменом, оно может содержать линкерный пептид, который отсутствует в природных антителах человека. Например, Fv может содержать линкерный пептид, такой как от двух до приблизительно восемь остатков глицина или других аминокислотных остатков, которые соединяют переменный участок тяжелой цепи и переменный участок легкой цепи. Такие линкерные пептиды рассматривают как пептиды человеческого происхождения.

Также можно использовать биспецифичные, гетероспецифичные, гетероконъюгированные или сходные антитела, которые представляют собой моноклональные антитела, предпочтительно антитела человека или гуманизированные антитела, которые обладают специфичностью связывания в отношении по меньшей мере двух различных антигенов. В данном случае, один из видов специфичности связывания представляет собой специфичность связывания в отношении по меньшей мере одной белковой субъединицы IL-23p19, а другой представляет собой специфичность связывания в отношении любого другого антигена. Способы получения биспецифичных антител известны в данной области. Обычно рекомбинантная продукция биспецифичных антител основана на коэкспрессии двух пар тяжелых цепей-легкая цепь иммуноглобулина, где две тяжелых цепи обладают различными видами специфичности (Milstein and Cuello, *Nature* 305:537 (1983)). Вследствие случайной сборки тяжелых и легких цепей иммуноглобулина, эти гибридомы (квадромы) продуцируют потенциальную смесь из 10 различных молекул антител, где только одна из них обладает правильной биспецифичной структурой. Очистку требуемой молекулы обычно проводят посредством стадий аффинной хроматографии. Сходные способы описаны, например, в WO 93/08829, патентах США № 6210668, 6193967, 6132992, 6106833, 6060285, 6037453, 6010902, 5989530, 5959084, 5959083, 5932448, 5833985, 5821333, 5807706, 5643759, 5601819, 5582996, 5496549, 4676980, WO 91/00360, WO 92/00373, EP 03089, Trauneker et al., *EMBO J.* 10:3655 (1991), Suresh et al., *Methods in Enzymology* 121:210 (1986), все из которых включены в настоящий документ в полном объеме.

Антитела против IL-23p19, пригодные в способах и композициях по настоящему изобретению, необязательно могут характеризоваться высокой аффинностью связывания с IL-23p19 и, необязательно и предпочтительно, обладают низкой токсичностью. В частности, для настоящего изобретения являются пригодными антитело, определенный фрагмент или вариант по этому изобретению, где отдельные компоненты, такие как переменный участок, константный участок и каркасная область, отдельно и/или совместно, необязательно и предпочтительно обладают низкой иммуногенностью. Антитела, которые можно использовать в соответствии с этим изобретением, необязательно характеризуются способностью в отношении лечения ими пациентов в течение длительных периодов времени с поддающимся определению уменьшением симптомов и низкой и/или приемлемой токсичностью. Низкая или приемлемая иммуногенность и/или высокая аффинность, а также другие пригодные свойства могут приводить к достижению терапевтических результатов. В настоящем документе "низкую иммуногенность" определяют как возникновение поддающихся титрованию уровней антител к антителу против IL-23p19 у пациентов, которых лечили антителом против IL-23p19, встречающееся менее чем у 25% пациентов, которых лечили, предпочтительно менее чем у 10% пациентов, которых лечили рекомендованной дозой в течение рекомендованного курса лечения в процессе периода лечения.

Выделенные нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению можно использовать для продукции по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 или его определенного варианта, которые можно использовать для определения эффекта в клетке, ткани, органе или у животного (в том числе млекопитающих и человека), для диагностики, мониторинга, модулирования, лечения, смягчения, способствования предотвращению заболеваемости, или уменьшения симптомов по меньшей мере одного связанного с IL-23 состояния, выбранного, но не ограничивающегося ими, по меньшей мере из одного из иммунного нарушения или заболевания, сердечнососудистого нарушения или заболевания, инфекционного, злокачественного и/или неврологического нарушения или заболевания, или другого известного или описанного связанного с IL-23 состояния.

Такой способ может включать введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело против IL-23p19, в клетку, ткань, орган,

животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, лечении, смягчении, профилактике или снижении симптомов, эффектов или механизмов. Эффективное количество может включать количество, составляющее приблизительно от 0,001 до 500 мг/кг при однократном (например, болюсном), многократном или постоянном введении, или количество для достижения концентрации в сыворотке 0,01-5000 мкг/мл сыворотки при однократном, многократном или постоянном введении, или любой эффективный диапазон или значение в этом диапазоне, как осуществляют и определяют с использованием известных способов, как описано в настоящем документе или известно в данной области.

Антитела по настоящему изобретению - продукция и получение

По меньшей мере одно антитело против IL-23p19 по настоящему изобретению необязательно можно продуцировать с помощью клеточной линии, смешанной клеточной линии, иммортализованной клетки или клональной популяции иммортализованных клеток, которые хорошо известны в данной области. См., например, Ausubel, et al., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2001); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow and Lane, *Antibodies, a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan, et al., eds., *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2001); Colligan et al., *Current Protocols in Protein Science*, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001).

Антитела, специфичные к белкам IL-23p19 человека или их фрагментам, можно получать из рекомбинантных библиотек антител человека с использованием пригодного антигена, такого как выделенный белок IL-23p19 и/или его часть (включая синтетические молекулы, такие как синтетические пептиды). Другие специфичные или общие антитела, включая, но не ограничиваясь ими, антитела млекопитающих, можно индуцировать аналогичным образом. Получение антигенов и выделение антител из библиотек человека можно проводить с использованием любого пригодного способа.

В одном подходе рекомбинантное антитело получают посредством фагового дисплея с использованием библиотек антител (Hoogenboom HR. Overview of antibody phage-display technology and its applications. *Methods in Molecular Biology*. 178:1-37, 2002). В предпочтительном подходе, рекомбинантный Fab человека выделяют из библиотеки HuCa1 Gold™, разработанной MorphoSys, AG (Kretzschmar, 2002), а затем повышают его активность посредством кассетного разнообразия CDR (Knappik et al., 2000; Krebs et al., 2001).

Рекомбинантные антитела человека, выделенные из библиотек фагового дисплея, можно конструировать, заменяя определенные остатки конкретными аминокислотами, соответствующими консенсусным или специфичным последовательностям антител человека. Эти последовательности идентифицируют сравнением с базами данных известных антител человека эмбрионального типа или подвергшихся реанжировке антител.

Известные последовательности Ig человека описаны, например,

www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi;
www.nebi.nih.gov/igblast;
www.atec.org/phage/hdb.html;
www.rrffc-cpe.cam.ac.uk/ALIGNMENTS.php;
www.kabatdatabase.com/top.html;
[ftp.ncbi.nlm.nih.gov/repository/kabat](ftp://ncbi.nlm.nih.gov/repository/kabat);
www.imgt.cines.fr.8104/;
www.biochem.unizh.ch/antibody/index.html;
www.sciquest.com;
www.abeam.com;
www.antibodyresource.com/onlinecomp.html;
www.public.iastate.edu/~pedro/research_tools.html;
www.whfreeman.com/immunology/CH05/kuby05.htm;
www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab;
www.path.cam.ac.uk/~mrc7/mikeimages.html;
mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html;
www.immunologylink.com;
pathbox.wustl.edu/~hcenter/index.html;
www.appliedbiosystems.com;
www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody;
www.m.ehime-u.ac.jp/~yasuhito/Elisa.html;
www.biodesign.com;
www.cancerresearchuk.org;
www.biotech.ufl.edu;
www.isac-net.org;
baserv.uci.kun.nl/~jraats/linksl.html;
www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu;
www.mrc-cpe.cam.ac.uk;

www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html;
<http://www.bioinf.org.uk/abs>;
antitelo.bath.ac.uk; www.unizh.ch;
www.cryst.bbk.ac.uk/~ubcgO7s;
www.nimr.mrc.ac.uk/CC/ccaewg/ccaewg.html;
www.path.cam.ac.uk/~rnc7/humanisation/ТАННР.html;
www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html;
www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html;
www.jerini.de;
 Rabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health (1983),
 все из которых включены в настоящий документ в качестве ссылок в полном объеме.

Такие замененные аминокислоты можно использовать для снижения иммуногенности или снижения, усиления или модификации связывания, аффинности, скорости ассоциации, скорости диссоциации, avidности, специфичности, времени полужизни или любого другого пригодного свойства, как известно в данной области. Как правило, остатки CDR прямо и наиболее существенно вовлечены во влияние на связывание антигена. Необязательно, антитела можно конструировать с сохранением высокой аффинности к антигену и других полезных биологических свойств. Для достижения этой цели, антитела человека необязательно можно получать посредством процесса анализа исходных последовательностей и различных концептуальных сконструированных продуктов с использованием трехмерных моделей исходных, сконструированных и человеческих последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулинов широко доступны и известны специалистам в данной области. Доступными являются компьютерные программы, которые иллюстрируют и воспроизводят возможные трехмерные конформационные структуры выбранных последовательностей иммуноглобулинов-кандидатов. Исследование этих воспроизведенных данных дает возможность анализа вероятной роли остатков в функционировании последовательности иммуноглобулина-кандидата, т.е. анализа остатков, которые влияют на способность иммуноглобулина-кандидата связывать свой антиген. Таким образом, остатки можно выбирать и комбинировать из исходных и эталонных последовательностей, чтобы достигать требуемого свойства антитела, такого как аффинность к антигену(ам)-мишени. Альтернативно или дополнительно указанным выше способам, конструирование можно проводить эмпирически с помощью кассетного разнообразия CDR и выбора по требуемой активности, таких как описано для системы MorphoSys HuCAL (Knappik et al., 2000; Krebs et al., 2001).

Кроме того, антитело против IL-23p19 по настоящему изобретению может содержать каркасную область легкой цепи человека эмбрионального типа. В конкретных вариантах осуществления последовательность эмбрионального типа легкой цепи выбрана из человеческих последовательностей VK, включая, но не ограничиваясь ими, A1, A10, A11, A14, A17, A18, A19, A2, A20, A23, A26, A27, A3, A30, A5, A7, B2, B3, L1, L10, L11, L12, L14, L15, L16, L18, L19, L2, L20, L22, L23, L24, L25, L4/18a, L5, L6, L8, L9, O1, O11, O12, O14, O18, O2, O4 и O8. В определенных вариантах осуществления эта каркасная область легкой цепи человека эмбрионального типа выбрана из V1-11, V1-13, V1-16, V1-17, V1-18, V1-19, V1-2, V1-20, V1-22, V1-3, V1-4, V1-5, V1-7, V1-9, V2-1, V2-11, V2-13, V2-14, V2-15, V2-17, V2-19, V2-6, V2-7, V2-8, V3-2, V3-3, V3-45, V4-1, V4-2, V4-3, V4-4, V4-6, V5-1, V5-2, V5-4 и V5-6. См. PCT WO 2005/005604 для описания различных последовательностей эмбрионального типа.

В других вариантах осуществления антитело против IL-23 по настоящему изобретению может содержать каркасную область тяжелой цепи человека эмбрионального типа. В конкретных вариантах осуществления эта каркасная область тяжелой цепи человека эмбрионального типа выбрана из VH1-18, VH1-2, VH1-24, VH1-3, VH1-45, VH1-46, VH1-58, VH1-69, VH1-8, VH2-26, VH2-5, VH2-70, VH3-11, VH3-13, VH3-15, VH3-16, VH3-20, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-33, VH3-35, VH3-38, VH3-43, VH3-48, VH3-49, VH3-53, VH3-64, VH3-66, VH3-7, VH3-72, VH3-73, VH3-74, VH3-9, VH4-28, VH4-31, VH4-34, VH4-39, VH4-4, VH4-59, VH4-61, VH5-51, VH6-1 и VH7-81. См. PCT WO 2005/005604 для описания различных последовательностей эмбрионального типа.

В конкретных вариантах осуществления вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный участок тяжелой цепи содержит каркасную область или по меньшей мере часть каркасной области (например, содержащую 2 или 3 субфрагмента, таких как FR2 и FR3). В определенных вариантах осуществления, по меньшей мере, FRL1, FRL2, FRL3 или FRL4 являются полностью человеческими. В других вариантах осуществления, по меньшей мере, FRH1, FRH2, FRH3, или FRH4 являются полностью человеческими. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, FRL1, FRL2, FRL3 или FRL4 представляют собой последовательности эмбрионального типа (например, эмбрионального типа человека) или содержат консенсусные последовательности человека для определенной каркасной области (широко доступные из источников известных последовательностей Ig человека, описанных выше). В других вариантах осуществления, по меньшей мере, FRH1, FRH2, FRH3 или FRH4 представляют собой последовательности эмбрионального типа (например, эмбрионального типа человека) или содержат консенсусные последовательности человека для определенной каркасной области. В предпочтительных вариантах осуществления каркасная область представляет собой полностью человеческую область.

Конструирование антител по настоящему изобретению можно проводить с использованием любого

известного способа, такого как, но не ограничиваясь ими, способы, описанные в Winter (Jones et al., Nature 321:522 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323 (1988); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988)), Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), патентах США № 5723323, 5976862, 5824514, 5817483, 5814476, 5763192, 5723323, 5,766886, 5714352, 6204023, 6180370, 5693762, 5530101, 5585089, 5225539; 4816567, PCT/: US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246, все из которых включены в настоящий документ в качестве ссылок в полном объеме, включая приведенные в них ссылки.

В определенных вариантах осуществления антитело содержит измененный (например, мутантный) Fc-участок. Например, в некоторых вариантах осуществления Fc-участок изменен для снижения или повышения эффекторных функций антитела. В некоторых вариантах осуществления Fc-участок представляет собой изотип, выбранный из IgM, IgA, IgG, IgE или другого изотипа.

Альтернативно или дополнительно, может быть полезным комбинирование модификаций аминокислот с одной или несколькими дополнительными модификациями аминокислот, которые изменяют связывание C1q и/или функцию комплементзависимой цитотоксичности Fc-участка связывающей IL-23p19 молекулы. Представляющий особый интерес исходный полипептид может представлять собой полипептид, который связывается с C1q и проявляет комплементзависимую цитотоксичность (CDC).

Полипептиды с предварительно существующей активностью в отношении связывания с C1q, кроме того, необязательно обладающие способностью принимать участие в CDC, можно модифицировать, чтобы один или оба из этих видов активности усиливались. Модификации аминокислот, которые приводят к изменению C1q и/или модифицируют его функцию комплементзависимой цитотоксичности, описаны, например, в WO0042072, которая включена в настоящий документ в качестве ссылки.

Как описано выше, можно сконструировать Fc-участок антитела против IL-23p19 по настоящему изобретению с измененной эффекторной функцией, например, посредством модификации связывания C1q и/или связывания Fc γ R и, таким образом, изменения активности в отношении комплементзависимой цитотоксичности (CDC) и/или активности в отношении антителозависимой клеточно-опосредуемой цитотоксичности (ADCC). "Эффекторные функции" отвечают за активацию или снижение биологической активности (например, у субъекта). Примеры эффекторных функций включают, но не ограничиваются ими: связывание C1q; комплементзависимую цитотоксичность (CDC); связывание Fc-рецептора; антителозависимую цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; снижение активности рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора; BCR) и т.д. Для таких эффекторных функций может быть необходимым, чтобы Fc-участок был объединен со связывающим доменом (например, переменным доменом антитела), и их можно оценивать с использованием различных способов анализа (например, способов анализа связывания Fc, способов анализа ADCC, способов анализа CDC и т.д.).

Например, можно получить вариант Fc-участка антитела против IL-23p19 с повышенным связыванием C1q и с повышенным связыванием Fc γ RIII (например, обладающий повышенной активностью в отношении ADCC и повышенной активностью в отношении CDC). Альтернативно, если необходимо снизить или устранить эту эффекторную функцию, можно сконструировать вариант Fc-участка со сниженной активностью в отношении CDC и/или со сниженной активностью в отношении ADCC. В других вариантах осуществления можно повысить только один из этих видов активности, и, необязательно, также снизить другой вид активности (например, получить вариант Fc-участка с повышенной активностью в отношении ADCC, но со сниженной активностью в отношении CDC, и наоборот).

Также в конструируемые молекулы можно вносить мутации для изменения их взаимодействия с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) и улучшения их фармакокинетических свойств. Описана коллекция Fc-вариантов человека с повышенным связыванием с FcRn (Shields et al. (2001). High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc γ RI/Fc γ RII/Fc γ RIII/and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc γ R, J. Biol. Chem. 276:6591-6604).

Другой тип аминокислотных замен способствует изменению паттерна гликозилирования Fc-участка антитела человека против IL-23p19. Гликозилирование Fc-участка, как правило, является либо N-связанным, либо O-связанным. N-связанное гликозилирование относится к присоединению углеводной группы к боковой цепи остатка аспарагина. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксикарбонильной группе, наиболее часто к серину или треонину, хотя также можно использовать 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин. Распознаваемые последовательности для ферментативного присоединения углеводной группы к пептидным последовательностям с боковой цепью аспарагина представляют собой аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X представляет собой любую аминокислоту, за исключением пролина. Таким образом, наличие любой из этих пептидных последовательностей в полипептиде формирует потенциальный участок гликозилирования.

Паттерн гликозилирования можно изменять, например, удалением одного или нескольких участка(ов) гликозилирования, находящегося в полипептиде, и/или добавлением одного или нескольких уча-

стков гликозилирования, которые отсутствуют в полипептиде. Добавление участков гликозилирования к Fc-участку антитела человека против IL-23p19 удобно проводить посредством изменения аминокислотной последовательности, чтобы она содержала одну или несколько из описанных выше трипептидных последовательностей (для участка N-гликозилирования).

Иллюстративный вариант по гликозилированию обладает аминокислотной заменой остатка Asn 297 тяжелой цепи. Изменение также можно проводить добавлением одного или нескольких остатков серина или треонина к последовательности исходного полипептида (для участков O-гликозилирования), или его заменой. Кроме того, замена Asn 297 на Ala может привести к удалению одного из участков гликозилирования.

В определенных вариантах осуществления антитело человека против IL-23p19 по настоящему изобретению экспрессируют в клетках, которые экспрессируют бета-(1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансферазу III (GnT III), чтобы GnT III присоединяла GlcNAc к антителу человека против IL-23p19. Способы продукции антител таким образом представлены в WO/9954342, WO/03011878, патентной заявке 20030003097A1 и в Umana et al., *Nature Biotechnology*, 17:176-180, Feb. 1999.

Скрининг антител в отношении специфичного связывания со сходными белками или фрагментами удобно проводить с использованием библиотек пептидного дисплея. Этот способ включает скрининг крупных коллекций пептидов в отношении отдельных членов, обладающих требуемой функцией или структурой. Скрининг антител в библиотеках пептидного дисплея хорошо известен в данной области. Длина воспроизводимых пептидных последовательностей может составлять от 3 до 5000 или более аминокислот, часто длина составляет 5-100 аминокислот, и часто длина составляет приблизительно от 8 до 25 аминокислот. В дополнение к способам получения пептидных библиотек прямым химическим синтезом описано несколько способов рекомбинантных ДНК. Один тип включает воспроизведение пептидной последовательности на поверхности бактериофага или клетки. Каждый бактериофаг или клетка содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую конкретную подлежащую воспроизведению пептидную последовательность. Такие способы описаны в патентных заявках РСТ № 91/17271, 91/18980, 91/19818 и 93/08278.

Другие системы для получения библиотек пептидов обладают признаками как химического синтеза, так и рекомбинантных способов *in vitro*. См., публикации патентных заявок РСТ № 92/05258, 92/14843 и 96/19256. См. также патенты США № 5658754 и 5643768. Библиотеки пептидного дисплея, векторы и наборы для скрининга коммерчески доступны у таких поставщиков, как Invitrogen (Carlsbad, CA), и Cambridge antibody Technologies (Cambridgeshire, UK). См., например, патенты США № 4704692, 4939666, 4946778, 5260203, 5455030, 5518889, 5534621, 5656730, 5763733, 5767260, 5856456, выданные Enzon; 5223409, 5403484, 5571698, 5837500, выданные Duax, 5427908, 5580717, выданные Affymax; 5885793, выданный Cambridge antibody Technologies; 5750373, выданный Genentech, 5618920, 5595898, 5576195, 5698435, 5693493, 5698417, выданные Xoma, Colligan, выше; Ausubel, выше или Sambrook, выше.

Также антитела по настоящему изобретению можно получать с использованием по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело против IL-23p19, для создания трансгенных животных или млекопитающих, таких как козы, коровы, лошади, овцы, кролики и т.п., которые продуцируют такие антитела в их молоке. Таких животных можно создавать с использованием известных способов. См., например, но не ограничиваясь ими, патенты США № 5827690; 5849992; 4873316; 5849992; 5994616; 5565362; 5304489 и т.п., все из которых включены в настоящий документ в качестве ссылок в полном объеме.

Антитела по настоящему изобретению, кроме того, можно получать с использованием по меньшей мере одной нуклеиновой кислоты, кодирующей антитело против IL-23p19, для получения трансгенных растений и культивируемых клеток растений (например, но не ограничиваясь ими, табака и маиса), которые продуцируют такие антитела, определенные участки или варианты в отделах растений или в клетках, культивируемых из них. В качестве неограничивающего примера, трансгенные листья табака, экспрессирующие рекомбинантные белки, успешно использовали для получения крупных количеств рекомбинантных белков, например, с использованием индуцибельного промотора. См., например, Cramer et al., *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 240:95-118 (1999) и ссылки, приведенные в ней. Также трансгенный маис использовали для экспрессии на коммерческих уровнях продукции белков млекопитающих с биологической активностью, эквивалентных белкам, которые получают в других рекомбинантных системах или очищают из природных источников. См., например, Hood et al., *Adv. Exp. Med. Biol.* 464:127-147 (1999) и ссылки, приведенные в ней. Антитела, в том числе фрагменты антител, такие как одноцепочечные антитела (scFv), также продуцировали в больших количествах из семян трансгенных растений, в том числе из семян растений и из клубней картофеля. См., например, Conrad et al., *Plant Mol. Biol.* 38:101-109 (1998) и ссылки, приведенные в ней. Таким образом, антитела по настоящему изобретению также можно получать с использованием трансгенных растений, в соответствии с известными способами. См. также, например, Fischer et al., *Biotechnol. Appl. Biochem.* 30:99-108 (Oct., 1999), Ma et al., *Trends Biotechnol.* 13:522-7 (1995); Ma et al., *Plant Physiol.* 109:341-6 (1995); Whitlam et al., *Biochem. Soc. Trans.* 22:940-944

(1994); и ссылки, приведенные в них.

Антитела по этому изобретению могут связывать IL-23p19 человека с аффинностью (K_D), находящейся в широком диапазоне. В предпочтительном варианте осуществления по меньшей мере одно mAb человека по настоящему изобретению необязательно может связывать IL-23p19 человека с высокой аффинностью. Например, mAb человека или другое mAb может связывать IL-23p19 человека с K_D , равной или меньшей чем приблизительно 10^{-7} М, такой как, но не ограничиваясь ими, 0,1-9,9 (или любой диапазон или значение внутри этого диапазона) $\times 10^{-7}$, 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} , 10^{-14} , 10^{-15} или любой диапазон или значение внутри этого диапазона, как определяют посредством поверхностного плазмонного резонанса или способа Кинеха, как применяют специалисты в данной области. В одном варианте осуществления, антитела по этому изобретению связывают IL-23p19 человека с K_D между приблизительно 4 и приблизительно 4400 пМ.

Аффинность или авидность антитела по отношению к антигену можно определять экспериментально с использованием любого пригодного способа (см., например, Berzofsky, et al., "Antibody-Antigen Interactions", в Fundamental Immunology, Paul, W.E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984); Kuby, Janis Immunology, W.H. Freeman and Company: New York, NY (1992); и способы, описанные в них). Измеренная аффинность конкретного взаимодействия антитело-антиген может варьировать при измерениях в различных условиях (например, концентрация соли, pH). Таким образом, измерения аффинности и других параметров связывания антигена (например, K_D , K_{on} , K_{off}) предпочтительно проводят в стандартных растворах антитела и антигена и стандартном буфере, таком как буфер, описанный в настоящем документе.

Конкурентные анализы можно проводить с антителом по настоящему изобретению в целях определения белков, антител и других антагонистов, которые конкурируют за связывание IL-23p19 с антителом по настоящему изобретению и/или обладают общим участком эпитопа. Эти анализы, как хорошо известно специалистам в данной области, оценивают конкуренцию между антагонистами или лигандами за ограниченное количество участков связывания на белке, например, p19. Белок и/или антитело иммобилизуют или переводят в нерастворимую форму до или после конкуренции и образец, связанный с субъединицей p19 отделяют от несвязанного образца, например, отстаиванием (где белок/антитело были предварительно переведены в нерастворимую форму) или центрифугированием (где белок/антитело осаждали после конкурентной реакции). Также конкурентное связывание можно определять по наличию изменения функции посредством связывания или отсутствия связывания антитела с белком, например, по наличию ингибирования или усиления ферментативной активности, например, метки. Можно использовать ELISA и другие функциональные способы анализа, как хорошо известно в данной области.

Определенные варианты осуществления антител против IL-23p19 по этому изобретению имеют последовательности, представленные в таблицах последовательностей, ниже. Например, антитело против IL-23p19 по этому изобретению обладает последовательностями одного из CDR1 легкой цепи SEQ ID NO: 46-51; последовательностями одного из CDR2 легкой цепи SEQ ID NO: 52-57; последовательностями одного из CDR3 легкой цепи SEQ ID NO: 58-79; последовательностями одного из CDR1 тяжелой цепи SEQ ID NO: 1-6; последовательностями одного из CDR2 тяжелой цепи SEQ ID NO: 7-39 и 146; и/или последовательностями одного из CDR3 тяжелой цепи SEQ ID NO: 40-45.

Молекулы нуклеиновых кислот

С использованием представленной в настоящем документе информации, например, последовательностей нуклеотидов, кодирующих по меньшей мере 70-100% смежных аминокислот по меньшей мере одного из вариабельных участков легкой цепи антител по этому изобретению (например, SEQ ID NO: 136-138 и 142-144) и по меньшей мере одного из вариабельных участков тяжелой цепи антител по этому изобретению (например, SEQ ID NO: 133-135 и 139-141), их определенных фрагментов, вариантов или консенсусных последовательностей, или депонированного вектора, содержащего по меньшей мере одну из этих последовательностей, можно получать молекулу нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, кодирующую по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 с использованием способов, описанных в настоящем документе или известных в данной области.

Молекулы нуклеиновых кислот по настоящему изобретению могут находиться в форме РНК, такой как мРНК, гяРНК, тРНК или любая другая форма, или в форме ДНК, включая, но не ограничиваясь ими, кДНК и геномную ДНК, получаемых клонированием или синтетическим способом продукции, или любым их сочетанием. ДНК может представлять собой трехцепочечную, двухцепочечную или одноцепочечную ДНК или любое их сочетание. Любой участок по меньшей мере одной цепи ДНК или РНК может представлять собой кодирующую цепь, также известную как смысловая цепь, или он может представлять собой некодирующую цепь, также называемую антисмысловой цепью.

Выделенные молекулы нуклеиновых кислот по настоящему изобретению могут включать молекулы нуклеиновых кислот, содержащие открытую рамку считывания (ORF), необязательно с одним или несколькими интронами, например, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере для одного определенного участка по меньшей мере одного CDR, такого как CDR1, CDR2 и/или CDR3 по меньшей мере одной легкой цепи (например, SEQ ID NO: 46-51, 52-57 или 58-79) или по меньшей мере одной тяжелой цепи (например, SEQ ID NO: 1-6, 7-39 или 40-45); молекулы нуклеиновых кислот, содержащие кодирующую последовательность для антитела против IL-23p19 или вариабельного участка (например, вариабельных

участков легкой цепи SEQ ID NO: 82-85, 93-98, 100, 102, 113-116 и 128-132 и переменных участков тяжелой цепи SEQ ID NO: 80, 81, 86-92, 99, 101, 103-112, 117-127 и 147); и молекулы нуклеиновых кислот, которые содержат нуклеотидную последовательность, по существу отличающуюся от нуклеотидных последовательностей, описанных выше, но которая, тем не менее, вследствие вырожденности генетического кода, кодирует по меньшей мере одно антитело против IL-23p19, как описано в настоящем документе и/или известно в данной области. Безусловно, генетический код хорошо известен в данной области. Таким образом, получение вырожденных вариантов нуклеиновых кислот, которые кодируют специфичные антитела против IL-23p19 по настоящему изобретению, является обычной задачей для специалиста в данной области. См., например, Ausubel, et al., выше, и такие варианты нуклеиновых кислот относятся к настоящему изобретению.

Как указано в настоящем документе, молекулы нуклеиновых кислот по настоящему изобретению, которые содержат нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело против IL-23p19, могут включать, но не ограничиваться ими, молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие аминокислотную последовательность фрагмента антитела отдельно; кодирующую последовательность для целого антитела или его участка; кодирующую последовательность для антитела, фрагмента или участка, а также дополнительные последовательности, такие как кодирующая последовательность по меньшей мере для одного сигнального лидерного или слитого пептида с наличием или отсутствием вышеупомянутых дополнительных кодирующих последовательностей, таких как по меньшей мере один интрон, совместно с дополнительными некодирующими последовательностями, включая, но не ограничиваясь ими, некодирующие 5'- и 3'-последовательности, такие как транскрибируемые нетранслируемые последовательности, которые участвуют в транскрипции, процессинге мРНК, включая сигналы сплайсинга и полиаденилирования (например, связывание рибосом и стабилизация мРНК); дополнительную кодирующую последовательность, которая кодирует дополнительные аминокислоты, такие как аминокислоты, которые обеспечивают дополнительную функциональность. Таким образом, кодирующая антитело последовательность может быть слитой с маркерной последовательностью, кодирующей пептид, который облегчает очистку слитого антитела, содержащего фрагмент или участок антитела.

Полинуклеотиды, селективно гибридизующиеся с полинуклеотидом, описанным в настоящем документе

Настоящее изобретение относится к выделенным нуклеиновым кислотам, которые гибридизуются в селективных условиях гибридизации с полинуклеотидом, описанным в настоящем документе. Таким образом, полинуклеотиды этого варианта осуществления можно использовать для выделения, выявления и/или количественного определения нуклеиновых кислот, содержащих такие полинуклеотиды. Например, полинуклеотиды по настоящему изобретению можно использовать для выявления, выделения или амплификации неполных или полноразмерных клонов в депонированной библиотеке. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотиды представляют собой геномные последовательности или последовательности кДНК, выделенные из библиотеки нуклеиновых кислот человека или млекопитающих, или в ином случае комплементарные им.

Предпочтительно библиотека кДНК содержит по меньшей мере 80% полноразмерных последовательностей, предпочтительно по меньшей мере 85 или 90% полноразмерных последовательностей и более предпочтительно по меньшей мере 95% полноразмерных последовательностей. Библиотеки кДНК могут быть унифицированными для повышения репрезентации редких последовательностей. Для последовательностей, обладающих сниженной идентичностью последовательностей относительно комплементарных последовательностей, как правило, но не исключительно, используют условия гибридизации низкой или умеренной строгости. Условия умеренной или высокой строгости необязательно можно использовать для последовательностей с более высокой идентичностью. Условия низкой строгости делают возможной селективную гибридизацию последовательностей, обладающих приблизительно 70% идентичностью последовательностей, и их можно использовать для выявления ортологических или паралогических последовательностей.

Необязательно, полинуклеотиды по этому изобретению кодируют по меньшей мере часть антитела, кодируемого полинуклеотидами, описанными в настоящем документе.

Полинуклеотиды по этому изобретению включают последовательности нуклеиновых кислот, которые можно использовать для селективной гибридизации с полинуклеотидом, кодирующим антитело по настоящему изобретению. См., например, Ausubel, выше; Colligan, выше, все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Конструирование нуклеиновых кислот

Выделенные нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению можно получать с использованием (а) рекомбинантных способов, (б) способов синтеза, (с) способов очистки и/или (д) их сочетаний, как хорошо известно в данной области.

Нуклеиновые кислоты для удобства могут содержать последовательности, в дополнение к полинуклеотиду по настоящему изобретению. Например, для упрощения выделения полинуклеотида в нуклеиновую кислоту можно встраивать полилинкер, содержащий один или несколько участков для рестрикции эндонуклеазами. Также для упрощения выделения транслированного полинуклеотида по настоящему

изобретению можно встраивать транскрибируемые последовательности. Например, гексагистидиновая маркерная последовательность обеспечивает удобный способ очистки белков по настоящему изобретению. Нуклеиновая кислота по настоящему изобретению, за исключением кодирующей последовательности, необязательно представляет собой вектор, адаптер или линкер для клонирования и/или экспрессии полинуклеотида по настоящему изобретению.

К таким клонирующим и/или экспрессирующим последовательностям можно добавлять дополнительные последовательности для оптимизации их функционирования в отношении клонирования и/или экспрессии, для упрощения выделения полинуклеотида, или для повышения встраивания полинуклеотида в клетку. Применение векторов для клонирования, экспрессирующих векторов, адаптеров и линкеров хорошо известно в данной области (см., например, Ausubel, выше; или Sambrook, выше).

Рекомбинантные способы конструирования нуклеиновых кислот

Композиции выделенных нуклеиновых кислот по этому изобретению, таких как РНК, кДНК, геномная ДНК или любое их сочетание, можно получать из биологических источников с использованием любого количества способов клонирования, известных специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления для выявления требуемой последовательности в библиотеке кДНК или геномной ДНК, используют олигонуклеотидные зонды, которые в строгих условиях селективно гибридизуются с полинуклеотидами по настоящему изобретению. Выделение РНК и конструирование библиотек кДНК и геномных библиотек хорошо известно средним специалистам в данной области (см., например, Ausubel, выше; или Sambrook, выше).

Способы скрининга и выделения нуклеиновых кислот

Скрининг библиотеки кДНК или геномной библиотеки можно проводить с использованием зонда на основе последовательности полинуклеотида по настоящему изобретению, такой как последовательности, описанные в настоящем документе. Зонды можно использовать для гибридизации с последовательностями геномной ДНК или кДНК в целях выделения гомологичных генов в одном и том же или в различных организмах. Специалисты в данной области поймут, что для анализа можно использовать различные степени строгости гибридизации; и строгими могут быть либо гибридизация, либо среда. По мере того, как условия гибридизации становятся более строгими, для того, чтобы произошло формирование дуплекса, степень комплементарности между зондом и мишенью должна повышаться. Степень строгости можно контролировать с помощью одного или нескольких из температуры, ионной силы, pH и наличия частично денатурирующего растворителя, такого как формамид. Например, строгость гибридизации удобно изменять посредством изменения полярности раствора реагирующего вещества, например, посредством изменения концентрации формамида в диапазоне от 0 до 50%. Степень комплементарности (идентичности последовательностей), требуемая для поддающегося детекции связывания, варьирует в соответствии со строгостью среды для гибридизации и/или среды для промывания. Оптимально, степень комплементарности составляет 100%, или 70-100%, или любой диапазон или значение внутри этого диапазона. Однако следует понимать, что небольшие отклонения в последовательностях зондов и праймеров можно компенсировать снижением строгости среды для гибридизации и/или промывания.

Способы амплификации РНК или ДНК хорошо известны в данной области и их можно использовать в соответствии с настоящим изобретением без излишнего экспериментирования, исходя из указаний и рекомендаций, представленных в настоящем документе.

Известные способы амплификации ДНК или РНК включают, но не ограничиваются ими, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и связанные с ней процессы амплификации (см., например, патенты США № 4683195, 4683202, 4800159, 4965188, выданные Mullis, et al., 4795699 и 4921794, выданные Tabbor, et al., 5142033, выданный Innis; 5122464, выданный Wilson, et al.; 5091310, выданный Innis; 5066584, выданный Gyllensten, et al., 4889818, выданный Gelfand, et al., 4994370, выданный Silver, et al., 4766067, выданный Biswas; 4656134, выданный Ringold) и опосредованную РНК амплификацию, в которой используют антисмысловую РНК к последовательности-мишени в качестве матрицы для синтеза двухцепочечной ДНК (патент США № 5130238, выданный Malek, et al., с торговым названием NASBA), полное содержание всех из этих ссылок включено в настоящее описание в качестве ссылок (см., например, Ausubel, выше; или Sambrook, выше).

Например, технологию полимеразной цепной реакции (ПЦР) можно использовать для амплификации последовательностей полинуклеотидов по настоящему изобретению и связанных с ними генов непосредственно из библиотек геномной ДНК или кДНК. ПЦР и другие способы амплификации *in vitro* также могут быть пригодны, например, для клонирования последовательностей нуклеиновых кислот, которые кодируют подлежащие экспрессии белки, для получения нуклеиновых кислот для применения в качестве зондов в целях детекции наличия требуемой мРНК в образцах, для секвенирования нуклеиновых кислот или для других целей. Примеры способов, достаточные для указания специалистам в данной области способов амплификации *in vitro* можно найти в Berger, выше, Sambrook, выше и Ausubel, выше, а также Mullis, et al., в патенте США № 4683202 (1987); и Innis, et al., PCR Protocols A Guide to Methods and Applications, Eds., Academic Press Inc., San Diego, CA (1990). Коммерчески доступные наборы для амплификации геномной ДНК посредством ПЦР известны в данной области. См., например, Advantage-2C Genomic PCR Kit (Clontech). Кроме того, для повышения выхода длинных продуктов ПЦР можно использо-

вать, например, белок гена 32 Т4 (Boehringer Mannheim).

Синтетические способы конструирования нуклеиновых кислот

Выделенные нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению также можно получать прямым химическим синтезом с помощью известных способов (см., например, Ausubel, et al., выше). Химический синтез, как правило, приводит к получению одноцепочечного олигонуклеотида, который может быть превращен в двухцепочечную ДНК посредством гибридизации с комплементарной последовательностью или посредством полимеризации с помощью ДНК-полимеразы с использованием одной цепи в качестве матрицы. Специалист в данной области поймет, что, несмотря на то что химический синтез ДНК может ограничиваться последовательностями приблизительно из 100 или более оснований, более длинные последовательности можно получать посредством лигирования более коротких последовательностей.

Рекомбинантные экспрессирующие кассеты

Настоящее изобретение, кроме того, относится к рекомбинантным экспрессирующим кассетам, содержащим нуклеиновую кислоту по настоящему изобретению. Последовательность нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, например, последовательность кДНК или геномную последовательность, кодирующую антитело по настоящему изобретению, можно использовать для конструирования рекомбинантной экспрессирующей кассеты, которую можно вводить по меньшей мере в одну требуемую клетку-хозяина. Рекомбинантная экспрессирующая кассета, как правило, содержит полинуклеотид по настоящему изобретению, функционально связанный с регуляторными последовательностями инициации транскрипции, которые регулируют трансляцию полинуклеотида в предназначенной для этого клетке-хозяине. Для регуляции экспрессии нуклеиновых кислот по настоящему изобретению можно использовать как гетерологичные, так и негетерологичные (т.е. эндогенные) промоторы.

В некоторых вариантах осуществления выделенные нуклеиновые кислоты, которые служат в качестве промотора, энхансера или других элементов, можно встраивать в соответствующее положение (выше, ниже или в интроне) негетерологичной формы полинуклеотида по настоящему изобретению таким образом, чтобы активировать или подавлять экспрессию полинуклеотида по настоящему изобретению. Например, эндогенные промоторы можно изменять *in vivo* или *in vitro* посредством внесения мутаций, делеций и/или замен.

Векторы и клетки-хозяева

Также настоящее изобретение относится к векторам, которые включают выделенные молекулы нуклеиновых кислот по настоящему изобретению, к клеткам-хозяевам с рекомбинантными векторами, которые получены способами генетической инженерии, и к продукции по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 с помощью рекомбинантных способов, которые хорошо известны в данной области. См., например, Sambrook, et al., выше; Ausubel, et al., выше, все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Полинуклеотиды необязательно можно связывать с вектором, содержащим селективный маркер, для размножения в хозяине. Как правило, плазмидный вектор вводят в преципитате, таком как преципитат с фосфатом кальция, или в комплексе с заряженным липидом. Если вектор представляет собой вирус, он может быть упакован *in vitro* с использованием соответствующей упаковывающей клеточной линии, а затем трансдуцирован в клетки-хозяева.

Вставка ДНК должна быть функционально связана с пригодным промотором. Экспрессирующие конструкции, кроме того, содержат участки инициации, терминации транскрипции и, в транскрибируемой области, участок связывания рибосомы для трансляции. Кодированная часть зрелых транскриптов, экспрессируемых конструкциями, предпочтительно включает кодон инициации трансляции в начале и терминирующий кодон (например, UAA, UGA или UAG), расположенный соответствующим образом на конце мРНК, подлежащей трансляции, при этом UAA и UAG являются предпочтительными для экспрессии в клетках млекопитающих или в эукариотических клетках.

Экспрессирующие векторы предпочтительно, но необязательно, включают по меньшей мере один селективный маркер. Такие маркеры включают, но не ограничиваются ими, например, гены устойчивости к метотрексату (MTX), дигидрофолатредуктазе (DHFR, патенты США № 4399216; 4634665; 4656134; 4956288; 5149636; 5179017), ампициллину, неомицину (G418), микофеноловой кислоте или глутаминсинтетазе (GS, патенты США № 5122464; 5770359; 5827739) для культуры эукариотических клеток, и гены устойчивости к тетрациклину или ампициллину для культивирования в *E. coli* и других бактериях или прокариотических организмах (приведенные выше патенты включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме). Пригодные культуральные среды и условия культивирования для описанных выше клеток-хозяев известны в данной области. Пригодные векторы будут полностью очевидны специалисту в данной области. Введение векторной конструкции в клетку-хозяина можно проводить с помощью трансфекции посредством фосфата кальция, опосредуемой DEAE-декстраном трансфекции, опосредуемой катионными липидами трансфекции, электропорации, трансдукции, инфицирования или других известных способов. Такие способы описаны в данной области, как, например, Sambrook, выше, главы 1-4 и 16-18; Ausubel, выше, главы 1, 9, 13, 15, 16.

По меньшей мере одно антитело по настоящему изобретению можно экспрессировать в модифицированной форме, такой как слитый белок, и оно может включать не только секреторные сигналы, но так-

же и дополнительные гетерологичные функциональные участки. Например, для повышения стабильности и устойчивости в клетке-хозяине в процессе очистки или в процессе последующей обработки и хранения к N-концу антитела можно добавлять участок из дополнительных аминокислот, в частности, из заряженных аминокислот. Также для упрощения очистки в антитело по настоящему изобретению можно встраивать пептидные группы. Такие участки можно удалять перед окончательным получением антитела или по меньшей мере одного его фрагмента. Такие способы описаны в многих стандартных лабораторных руководствах, таких как Sambrook, выше, главы 17.29-17.42 и 18.1-18.74; Ausubel, выше, главы 16, 17 и 18.

Специалисты в данной области знают множество экспрессирующих систем, доступных для экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей белок по настоящему изобретению. Альтернативно нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению можно экспрессировать в клетке-хозяине посредством запуска экспрессии (посредством манипулирования) в клетке-хозяине, которая содержит эндогенную ДНК, кодирующую антитело по настоящему изобретению. Такие способы хорошо известны в данной области, например, как описано в патентах США № 5580734, 5641670, 5733746 и 5733761, включенных в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Иллюстративными примерами культур клеток, пригодных для продукции антител, их определенных участков или вариантов, являются клетки млекопитающих. Системы клеток млекопитающих часто находятся в виде монослоев клеток, хотя также используют суспензии клеток млекопитающих или биореакторы с клетками млекопитающих. В данной области разработан ряд пригодных линий клеток-хозяев, способных экспрессировать неизменные гликозилированные белки, и они включают клеточные линии COS-1 (например, ATCC CRL 1650), COS-7 (например, ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21 (например, ATCC CRL-10), CHO (например, ATCC CRL 1610) и BSC-1 (например, ATCC CRL-26), клетки Cos-7, клетки CHO, клетки her G2, P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, клетки 293, клетки HeLa и сходные с ними, которые свободно доступны, например, в American Type Culture Collection, Manassas, Va (www.atcc.org). Предпочтительные клетки-хозяева включают клетки лимфоидного происхождения, такие как клетки миеломы и лимфомы. Особенно предпочтительные клетки-хозяева представляют собой клетки P3X63Ag8.653 (регистрационный номер ATCC CRL-1580) и клетки SP2/0-Ag14 (регистрационный номер ATCC CRL-1851). В особенно предпочтительном варианте осуществления, рекомбинантная клетка представляет собой клетку P3X63Ab8.653 или клетку SP2/0-Ag14.

Экспрессирующие векторы для этих клеток могут включать одну или несколько из следующих последовательностей для контроля экспрессии, таких как, но не ограничиваясь ими, ориджин репликации; промотор (например, поздний или ранний промоторы SV40, промотор CMV (патенты США № 5168062; 5385839), промотор tk HSV, промотор pgk (фосфоглицераткиназы), промотор EF-1-альфа (патент США № 5266491), по меньшей мере один промотор иммуноглобулина человека); энхансер и/или информационные участки для процессинга, такие как участки связывания рибосом, участки сплайсинга РНК, участки полиаденилирования (например, участок присоединения поли-А большого Т-Ag SV40) и последовательности терминаторов транскрипции. См., например, Ausubel et al., выше; Sambrook, et al., выше. Другие клетки, пригодные для продукции нуклеиновых кислот или белков по настоящему изобретению известны и/или являются доступными, например, в American Type Culture Collection Catalogue of Cell Lines and Hybridomas (www.atcc.org) или в других известных или коммерческих источниках.

Если используют эукариотические клетки-хозяева, то, как правило, в вектор встраивают последовательности полиаденилирования или терминации транскрипции. Примером последовательности терминатора является последовательность полиаденилирования из гена бычьего гормона роста. Также в вектор могут быть включены последовательности для правильного сплайсинга транскрипта. Примером последовательности для сплайсинга является интрон VP1 из SV40 (Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983)). Кроме того, в вектор могут быть включены последовательности генов для контроля репликации в клетке-хозяине, как известно в данной области.

Очистка антитела

Антитело против IL-23p19 можно выделять из рекомбинантных клеточных культур и очищать хорошо известными способами, включая, но не ограничиваясь ими, очистку с помощью белка А, осаждение сульфатом аммония или этанолом, экстракцию кислотой, анионную или катионообменную хроматографию, хроматографию с фосфоцеллюлозой, хроматографию гидрофобного взаимодействия, аффинную хроматографию, хроматографию с гидроксилпатитом и хроматографию с лектином. Также для очистки можно использовать высокоэффективную жидкостную хроматографию ("ВЭЖХ"). См., например, Colligan, Current Protocols in Immunology, or Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001), например, главы 1, 4, 6, 8, 9, 10, все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Антитела по настоящему изобретению включают природные очищенные продукты, продукты процессов химического синтеза и продукты, получаемые рекомбинантными способами из эукариотического хозяина, включая, например, дрожжи, высшее растение, клетки насекомых или млекопитающих. В зависимости от хозяина, используемого в способе рекомбинантной продукции, антитело по настоящему изобретению может быть гликозилированным или может быть негликозилированным, при этом гликозили-

рованное антитело является предпочтительным. Такие способы описаны во множестве стандартных лабораторных руководствах, таких как Sambrook, выше, разделы 17.37-17.42; Ausubel, выше, главы 10, 12, 13, 16, 18 и 20, Colligan, Protein Science, выше, главы 12-14, все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Антитела против IL-23p19

Антитело против IL-23p19 в соответствии с настоящим изобретением включает любой белок или пептид, содержащий молекулу, которая содержит по меньшей мере часть молекулы иммуноглобулина, такую как, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере один связывающий лиганд участок (LBP), такой как, но не ограничиваясь ими, определяющий комплементарность участок (CDR) тяжелой или легкой цепи или его связывающий лиганд участок, переменный участок тяжелой или легкой цепи, каркасная область (например, FR1, FR2, FR3, FR4 или их фрагмент, кроме того, необязательно содержащие по меньшей мере одну замену, вставку или делецию), константный участок тяжелой или легкой цепи, (например, содержащий по меньшей мере один CH1, шарнирная область 1, шарнирная область 2, шарнирная область 3, шарнирная область 4, CH2 или CH3 или их фрагмент, кроме того, необязательно содержащие по меньшей мере одну замену, вставку или делецию), или любая их часть, которая может быть встроена в антитело по настоящему изобретению. Антитело по этому изобретению может включать антитело любого млекопитающего, или может быть получено из любого млекопитающего, такого как, но не ограничиваясь ими, человек, мышь, кролик, крыса, грызун, примат или любое их сочетание и т.п.

Выделенные антитела по настоящему изобретению содержат аминокислотные последовательности антител, описанных в настоящем документе, кодируемые любым пригодным полинуклеотидом, или любое выделенное или полученное антитело. Предпочтительно, антитело человека или антигенсвязывающий фрагмент связывает IL-23p19 человека и, таким образом, частично или значительно нейтрализует по меньшей мере один вид биологической активности белка. Антитело или его определенный участок или вариант, который частично или значительно нейтрализует по меньшей мере один вид биологической активности по меньшей мере одного белка или фрагмента IL-23, может связывать белок или фрагмент и, таким образом, ингибировать активность, опосредуемую связыванием IL-23 с рецептором для IL-23 или другими зависимыми от IL-23 или опосредуемыми IL-23 механизмами. Как используют в настоящем документе, термин "нейтрализующее антитело" относится к антителу, которое может ингибировать зависимость от IL-23 активность приблизительно на 20-120%, предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% или более, в зависимости от способа анализа. Способность антитела против IL-23p19 ингибировать зависимость от IL-23 активность предпочтительно оценивают посредством по меньшей мере одного пригодного способа анализа белка IL-23 или рецептора для IL-23, как описано в настоящем изобретении и/или как известно в данной области. Антитело человека по этому изобретению может представлять собой антитело любого класса (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD и т.д.) или изотипа и может содержать легкую цепь каппа или лямбда. В одном варианте осуществления антитело человека содержит тяжелую цепь или определенный фрагмент IgG, например, по меньшей мере одного из изотипов IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 (например, $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$, $\gamma 4$). Антитела этого типа можно получать с использованием трансгенной мыши или другого трансгенного не относящегося к человеку млекопитающего, содержащего трансгены по меньшей мере одной легкой цепи человека (например, IgG, IgA и IgM), как описано в настоящем документе и/или как известно в данной области. В другом варианте осуществления антитело человека против IL-23p19 человека содержит тяжелую цепь IgG1 и легкую цепь IgG1.

По меньшей мере одно антитело по этому изобретению связывает по меньшей мере один определенный эпитоп, специфичный по меньшей мере для одного белка IL-23p19, его субъединицы, фрагмента, участка или любого их сочетания. По меньшей мере один эпитоп может содержать по меньшей мере один участок для связывания антитела, который содержит по меньшей мере один участок белка, при этом эпитоп предпочтительно состоит по меньшей мере из одного внеклеточного, растворимого, гидрофильного, внешнего или цитоплазматического участка белка. По меньшей мере один определенный эпитоп может содержать любое сочетание по меньшей мере из одной аминокислотной последовательности по меньшей мере из от 1-3 аминокислот до целого определенного участка соседних аминокислот из аминокислот 93-105 SEQ ID NO: 145 (которые содержат начальную сигнальную последовательность из 19 аминокислотных остатков для субъединицы белка p19), например, аминокислотные остатки 93, 93-94, 93-95, 93-96, 97-99, 100-102 SEQ ID NO: 145 и т.д, которые включают любые участки и сочетания этих последовательностей.

Как правило, антитело человека или антигенсвязывающий фрагмент по настоящему изобретению содержит антигенсвязывающий участок, который содержит по меньшей мере один определяющий комплементарность участок (CDR1, CDR2 и CDR3) или вариант по меньшей мере одного переменного участка тяжелой цепи и по меньшей мере одного определяющего комплементарность участка человека (CDR1, CDR2 и CDR3) или вариант по меньшей мере одного переменного участка легкой цепи. Необязательно, последовательности CDR могут быть получены из последовательностей эмбрионального типа человека или они могут обладать близким сходством с последовательностями эмбрионального типа. Например, можно использовать CDR из синтетической библиотеки, полученной из естественных мышинных

CDR. В качестве неограничивающего примера, антитело или антигенсвязывающий участок или вариант могут содержать по меньшей мере один из CDR3 тяжелых цепей, например, выбранных из SEQ ID NO: 46-51, 52-57 или 58-79. В конкретном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент может обладать антигенсвязывающим участком, который содержит по меньшей мере часть по меньшей мере одного CDR тяжелой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и/или CDR3), обладающего аминокислотной последовательностью соответствующих CDR (т.е. CDR1, CDR2 и/или CDR3) (например, CDR, описанных в настоящем документе). В другом конкретном варианте осуществления антитело или антигенсвязывающий участок или вариант может обладать антигенсвязывающим участком, который содержит по меньшей мере часть по меньшей мере одного CDR легкой цепи (т.е. CDR1, CDR2 и/или CDR3) (например, CDR, описанных в настоящем документе).

В предпочтительном варианте осуществления, три CDR тяжелой цепи и три CDR легкой цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента можно получать химическим связыванием совместно различных участков (например, CDR, каркасной области) антитела с использованием общепринятых способов, получением и экспрессией (одной или нескольких) молекул нуклеиновой кислоты, которые кодируют антитело с использованием общепринятых способов технологии рекомбинантных ДНК или с использованием любого другого пригодного способа.

Антитело против IL-23p19 может содержать по меньшей мере один переменный участок тяжелой или легкой цепи, имеющий определенную аминокислотную последовательность. Например, в предпочтительном варианте осуществления, Антитело против IL-23p19 содержит по меньшей мере один из по меньшей мере одного переменного участка тяжелой цепи, необязательно выбранного из SEQ ID NO: 80, 81, 86-92, 99, 101, 103-112, 117-127 и 147 и/или по меньшей мере одного переменного участка легкой цепи, необязательно выбранного из SEQ ID NO: 82-85, 93-98, 100, 102, 113-116 и 128-132. Антитела, которые связываются с IL-23p19 человека и которые содержат определенный переменный участок тяжелой или легкой цепи можно получать с использованием пригодных способов. Антитело, определенный участок или вариант можно экспрессировать с использованием кодирующей нуклеиновой кислоты или ее участка в пригодной клетке-хозяине.

Коды аминокислот

Аминокислоты, которые входят в состав антител против IL-23p19 по настоящему изобретению, часто приводят в сокращенном виде. Обозначения аминокислот могут быть представлены посредством обозначения аминокислоты с помощью ее однобуквенного кода, ее трехбуквенного кода, названия или кодона(ов) из трех нуклеотидов, как хорошо понятно в данной области (см. Alberts, B., et al., *Molecular Biology of The Cell*, Third Ed., Garland Publishing, Inc., New York, 1994). Антитело против IL-23p19 по настоящему изобретению может включать одну или несколько аминокислотных замен, делеций или вставок либо вследствие природных мутаций, либо вследствие воздействия человека, как описано в настоящем описании. Аминокислоты в антителе против IL-23p19 по настоящему изобретению, которые необходимы для функционирования, можно выявлять известными в данной области способами, такими как сайт-направленный мутагенез или сканирующий аланином мутагенез (например, Ausubel, выше, главы 8, 15; Cunningham and Wells, *Science* 244:1081-1085 (1989)). В последнем способе в каждый остаток молекулы вносят единичные мутации с заменой на аланин. Затем полученные молекулы тестируют на биологическую активность, такую как, но не ограничиваясь этим, по меньшей мере один вид нейтрализующей IL-23 активности. Участки, которые важны для связывания антитела, также можно выявлять посредством структурного анализа, такого как кристаллизация, ядерный магнитный резонанс или фотоаффинное мечение (Smith, et al., *J. Mol. Biol.* 224:899-904 (1992) и de Vos, et al., *Science* 255:306-312 (1992)).

Антитела против IL-23p19 по настоящему изобретению могут включать, но не ограничиваться ими, по меньшей мере один участок, последовательность или сочетание, выбранные из от 5 до всех соседних аминокислот переменного участка последовательностей SEQ ID NO: 82-85, 93-98, 100, 102, 113-116 и 128-132 и SEQ ID NO: 80, 81, 86-92, 99, 101, 103-112, 117-127 и 147.

Неограничивающие варианты, которые могут усиливать или поддерживать по меньшей мере один из перечисленных видов активности, включают, но не ограничиваются ими, любой из указанных выше полипептидов, далее содержащих по меньшей мере одну мутацию, соответствующую по меньшей мере одной замене в остатках, варьирующих среди описанных аминокислотных последовательностей вариантов.

Антитело против IL-23p19 далее может необязательно содержать полипептид с аминокислотной последовательностью, которая отличается от последовательностей, описанных в настоящем описании (например, с одной или несколькими консервативными заменами в последовательностях, представленных в настоящем описании). Также, более конкретно, настоящее изобретение включает варианты аминокислотной последовательности переменного участка легкой цепи SEQ ID NO: 82-85, 93-98, 100, 102, 113-116 и 128-132 или аминокислотной последовательности переменного участка SEQ ID NO: 80, 81, 86-92, 99, 101, 103-112, 117-127 и 147.

Как поймут специалисты, настоящее изобретение относится по меньшей мере к одному биологически активному антителу по настоящему изобретению. Биологически активные антитела обладают специфичной активностью по меньшей мере 20, 30 или 40% и предпочтительно по меньшей мере 50, 60 или

70% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80, 90 или 95-1000% или более относительно активности нативного (несинтетического), эндогенного или сходного и известного антитела. Способы анализа и количественного определения показателей ферментативной активности и субстратной специфичности хорошо известны специалистам в данной области.

В другом аспекте это изобретение относится к антителам человека и антигенсвязывающим фрагментам, как описано в настоящем документе, которые модифицированы посредством ковалентного присоединения органической группы. Такая модификация может приводить к получению антитела или антигенсвязывающего фрагмента с улучшенными фармакокинетическими свойствами (например, повышенным периодом полураспада в сыворотке *in vivo*). Органическая группа может представлять собой линейную или разветвленную гидрофильную полимерную группу, группу жирной кислоты или группу сложного эфира жирной кислоты. В конкретных вариантах осуществления гидрофильная полимерная группа может обладать молекулярной массой, составляющей от приблизительно 800 до приблизительно 120000 Дальтон (Да) и может представлять собой полиалкангликоль (например, полиэтиленгликоль (PEG), полипропиленгликоль (PPG)), углеводный полимер, полимер из аминокислот или поливинилпирролидон, и группа жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты может содержать от приблизительно восьми до приблизительно сорока атомов углерода.

Модифицированные антитела и антигенсвязывающие фрагменты по этому изобретению могут содержать одну или несколько органических групп, которые ковалентно связаны, прямо или непрямо, с антителом. Каждая органическая группа, которая связана с антителом или антигенсвязывающим фрагментом по этому изобретению, может независимо представлять собой гидрофильную полимерную группу, группу жирной кислоты или группу сложного эфира жирной кислоты. Как используют в настоящем документе, термин "жирная кислота" включает монокарбоновые кислоты и дикарбоновые кислоты. "Гидрофильная полимерная группа", в качестве используемого в настоящем документе термина, относится к органическому полимеру, который является более растворимым в воде, чем в октане. Например, полилизин более растворим в воде, чем в октане. Таким образом, антитело, модифицированное посредством ковалентного присоединения полилизина, относится к этому изобретению. Гидрофильные полимеры, пригодные для модификации антител по этому изобретению могут быть линейными или разветвленными, и включают, например, полиалкангликоли (например, PEG, монометоксиполиэтиленгликоль (mPEG), PPG и т.п.), углеводы (например, декстран, целлюлозу, олигосахариды, полисахариды и т.п.), полимеры гидрофильных аминокислот (например, полилизин, полиаргинин, полиаспарат и т.п.), оксиды полиалканов (например, оксид полиэтилена, оксид полипропилена и т.п.) и поливинилпирролидон. Предпочтительно, гидрофильный полимер, который модифицирует антитело по этому изобретению, обладает молекулярной массой от приблизительно 800 до приблизительно 150000 Да в качестве отдельного молекулярного элемента. Например, можно использовать PEG₅₀₀₀ и PEG₂₀₀₀₀; где подстрочный знак представляет собой среднюю молекулярную массу полимера в Дальтонах. Гидрофильная полимерная группа может быть замещена от одной до шести алкильными группами, группами жирных кислот или группами сложных эфиров жирных кислот. Гидрофильные полимеры, которые замещены жирной кислотой или группой сложного эфира жирной кислоты, можно получать, используя пригодные способы. Например, полимер, содержащий аминогруппу, можно присоединять к карбоксилату жирной кислоты или сложного эфира жирной кислоты, и активированный карбоксилат (например, активированный посредством N,N-карбонилдимидазола) на жирной кислоте или сложном эфире жирной кислоты можно присоединять к гидроксильной группе на полимере.

Жирные кислоты и сложные эфиры жирных кислот, пригодные для модификации антител по этому изобретению могут быть насыщенными или могут содержать один или несколько ненасыщенных элементов. Жирные кислоты, которые пригодны для модификации антител по этому изобретению, включают, например, n-додеканоат (C₁₂, лаурат), n-тетрадеканоат (C₁₄, мирилат), n-октадеканоат (C₁₈, стеарат), n-эйкозаноат (C₂₀, арахидат), n-докозаноат (C₂₂, бегенат), n-триаконтаноат (C₃₀), n-тетрааконтаноат (C₄₀), цис-Δ⁹-октадеканоат (C₁₈, олеат), полностью цис-Δ^{5,8,11,14}-эйкозатетраеноат (C₂₀, арахидонат), октандиовую кислоту, тетрадекандиовую кислоту, октадекандиовую кислоту, докозандиовую кислоту и т.п. Пригодные сложные эфиры жирных кислот включают моноэфиры дикарбоновых кислот, которые содержат линейную или разветвленную группу низшего алкила. Группа низшего алкила может содержать от одного до приблизительно двенадцати, предпочтительно от одного до приблизительно шести атомов углерода.

Модифицированные антитела человека и антигенсвязывающие фрагменты можно получать с использованием пригодных способов, таких как реакция с одним или несколькими модифицирующими веществами. "Модифицирующее вещество", в качестве используемого в настоящем документе термина, относится к пригодной органической группе (например, к группе гидрофильного полимера, жирной кислоты, сложного эфира жирной кислоты), которая содержит активирующую группу. "Активирующая группа" представляет собой химическую группу или функциональную группу, которая в соответствующих условиях может реагировать со второй химической группой, образуя, таким образом, ковалентную связь между модифицирующим веществом и второй химической группой. Например, реагирующие с аминами группы включают электрофильные группы, такие как тозилат, мезилат, гало (хлор, бром, фтор,

йод), сложные эфиры N-гидроксисукцинимидила (NHS), и т.п. Активирующие группы, которые могут реагировать с тиолами, включают, например, малеинимид, йодацетил, акрилолил, пиридилдисульфиды, тиол 5-тиол-2-нитробензойной кислоты (TNB-тиол) и т.п. Альдегидную функциональную группу можно присоединять к содержащим амин или гидразид молекулам, и азидная группа может реагировать с тривалентной фосфорной группой с образованием связей фосфорамидата или фосфоримида. Пригодные способы встраивания активирующих групп в молекулы известны в данной области (см., например, Hermanson, G.T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Активирующая группа может быть прямо связана с органической группой (например, с группой гидрофильного полимера, жирной кислоты, сложного эфира жирной кислоты), или через линкерную группу, например, двухвалентную группу C₁-C₁₂, где один или несколько атомов углерода могут быть замещены гетероатомом, таким как кислород, азот или сера. Пригодные линкерные группы включают, например, тетраэтиленгликоль, -(CH₂)₃-, -NH-(CH₂)₆-NH-, -(CH₂)₂-NH- и -CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₂-NH-. Модифицирующие вещества, которые содержат линкерную группу можно получать, например, посредством проведения реакции моно-Вос-алкилдиамин (например, моно-Вос-этилендиамин, моно-Вос-диаминогексан) с жирной кислотой в присутствии 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) с образованием амидной связи между свободным амином и карбоксилатом жирной кислоты. Защитную группу Вос можно удалить из продукта посредством обработки трифторуксусной кислотой (TFA), что делает доступным первичный амин, который можно присоединять к другому карбоксилату, как описано, или который можно подвергать реакции с малеиновым ангидридом, и полученный продукт подвергать циклизации с получением активированного малеимида-производного жирной кислоты (см., например, Thompson, et al., WO 92/16221, полное описание которой включено в настоящее описание в качестве ссылки).

Модифицированные антитела по этому изобретению можно получать посредством проведения реакции антитела человека или антигенсвязывающего фрагмента с модифицирующим веществом. Например, органические группы можно присоединять к антителу не специфичным в отношении участка способом с использованием реагирующего с амином модифицирующего вещества, например, сложного эфира NHS и PEG. Модифицированные антитела человека или антигенсвязывающие фрагменты также можно получать восстановлением дисульфидных связей (например, дисульфидных связей между цепями) антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Восстановленное антитело или антигенсвязывающий фрагмент затем можно подвергать реакции с реагирующим с тиолом модифицирующим веществом с получением модифицированного антитела по этому изобретению. Модифицированные антитела человека и антигенсвязывающие фрагменты, содержащие органическую группу, которая связана с определенными участками антитела по настоящему изобретению, можно получать с использованием пригодных способов, таких как обратный протеолиз (Fisch et al., *Bioconjugate Chem.*, 3:147-153 (1992); Werlen et al., *Bioconjugate Chem.*, 5:411-417 (1994); Kumaran et al., *Protein Set* 6 (10):2233-2241 (1997); Itoh et al., *Bioorg. Chem.*, 24(1):59-68 (1996); Capellas et al., *Biotechnol Bioeng.*, 56(4):456-463 (1997)), и способов, описанных в Hermanson, G.T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996).

Композиции антиидиотипических антител к антителам против IL-23p19

В дополнение к моноклональным антителам против IL-23p19, настоящее изобретение также относится к антиидиотипическому (анти-Id) антителу, специфичному к таким антителам по этому изобретению. Анти-Id-антитело представляет собой антитело, которое распознает определенные детерминанты, как правило, ассоциированные с антигенсвязывающим участком другого антитела. Анти-Id можно получать посредством иммунизации животного того же вида и генетического типа (например, линии мыши), в качестве источника Id-антитела, антителом или его содержащим CDR участком. В иммунизированном животном происходит распознавание и ответ на идиотипические детерминанты иммунизирующего антитела и продукция анти-Id антитела. Анти-Id антитело также можно использовать в качестве "иммуногена" для индуцирования иммунного ответа у другого животного, продуцирующего так называемое анти-Id антитело.

Также настоящее изобретение относится по меньшей мере к одной композиции антител против IL-23p19, содержащей в ней по меньшей мере одно, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть или более антител против IL-23p19, как описано в настоящем документе и/или как известно в данной области, которые предоставлены в не встречающейся в природе композиции, смеси или форме. Такие композиции включают не встречающиеся в природе композиции, содержащие по меньшей мере один или два полноразмерных варианта, варианта с C- и/или N-концевой делецией, домена или фрагмента, или определенных варианта аминокислотной последовательности антитела против IL-23p19, выбранной из группы, состоящей из 70-100% соседних аминокислот SEQ ID NO: 1-132, 146 и 147 или их определенных фрагментов, доменов или вариантов. Предпочтительные композиции антител против IL-23p19 включают по меньшей мере один или два полноразмерных участка, фрагмента, домена или варианта участков, содержащих по меньшей мере одну CDR или LBP, последовательности антитела против IL-23p19, описанного в настоящем документе, например, 70-100% SEQ ID NO: 1-132, 146 и 147, или их определенных фрагментов, доменов или вариантов. Следующие предпочтительные композиции содержат, например, 40-99% по меньшей мере одного из 70-100% из SEQ ID NO: 1-132, 146 и 147, и т.д., или их определенных фрагменты, домены или варианты.

Такие процентные содержания композиции представляют собой процентные содержания по массе, объему, концентрации, молярности или моляльности, в качестве жидких или сухих растворов, смесей, суспензии, эмульсий, частиц, порошка или коллоидных веществ, как известно в данной области или как описано в настоящем документе.

Композиции антител, содержащие дополнительные терапевтически активные ингредиенты

Композиции антитела по этому изобретению, кроме того, необязательно могут содержать эффективное количество по меньшей мере одного соединения или белка, выбранного по меньшей мере из одного противомикробного лекарственного средства, лекарственного средства для сердечно-сосудистой (CV) системы, лекарственного средства для центральной нервной системы (ЦНС), лекарственного средства для автономной нервной системы (ANS), лекарственного средства для дыхательных путей, лекарственного средства для желудочно-кишечного (GI) тракта, гормонального лекарственного средства, лекарственного средства для жидкостного или электролитного баланса, гематологического лекарственного средства, противоопухолевого средства, иммуномодулирующего лекарственного средства, лекарственного средства для глаз, ушей и носа, лекарственного средства для местного применения, диетологического лекарственного средства или сходных с ними. Такие лекарственные средства хорошо известны в данной области, включая составы, показания, дозирование и введение для каждого представленного в настоящем описании лекарственного средства (см., например, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT, все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме).

Противомикробное лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амебицидов или по меньшей мере одного из противопротозойных средств, противогельминтных средств, противогрибковых средств, противомаларийных, противотуберкулезных средств или по меньшей мере одного из противолепрозных средств, аминогликозидов, пенициллинов, цефалоспоринов, тетрациклинов, сульфонамидов, фторхинолонов, противовирусных средств, макролидных противомикробных средств и прочих противомикробных средств. CV лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из инотропных средств, антиаритмических средств, антиангинальных средств, антигипертензивных средств, антилипидемических средств и прочих сердечно-сосудистых лекарственных средств.

Лекарственное средство для ЦНС может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из ненаркотических анальгетиков, или по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из жаропонижающих средств, нестероидных противовоспалительных лекарственных средств, наркотического или по меньшей мере одного из опиоидных анальгетиков, седативных гипнотических средств, противосудорожных препаратов, антидепрессантов, седативных лекарственных средств, антипсихотических лекарственных средств, стимуляторов центральной нервной системы, противопаркинсонических средств и прочих лекарственных средств для центральной нервной системы. Лекарственное средство для ANS может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из холинергических средств (парасимпатомиметиков), антихолинергических средств, адренергических средств (симпатомиметиков), адренергических блокаторов (симпатолитиков), релаксантов скелетной мускулатуры и нервно-мышечных блокаторов. Лекарственное средство для дыхательных путей может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из антигистаминов, бронходилататоров, отхаркивающих средств или по меньшей мере одного из средств от кашля и прочих лекарственных средств для дыхательной системы. Лекарственное средство для GI тракта может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из антацидов или по меньшей мере одного из адсорбентов, или по меньшей мере одного из устраняющих метеоризм средств, пищеварительных ферментов, или по меньшей мере одного из растворяющих желчные камни средств, средств против диареи, слабительных средств, противорвотных средств и лекарственных средств против язвы. Гормональное лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из кортикостероидов, андрогенов, или по меньшей мере одного анаболического стероида, эстрогена или по меньшей мере одного прогестина, гонадотропина, противодиабетического лекарственного средства или по меньшей мере одного из глюкагона, гормона щитовидной железы, антагониста гормона щитовидной железы, гормона гипофиза, и лекарственного средства, подобного гормону парашитовидной железы. Лекарственное средство для жидкостного и электролитного баланса может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из диуретиков, электролитов или по меньшей мере одного замещающего раствора, подкисляющего или по меньшей мере одного подщелачивающего средства. Гематологическое лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из повышающих количество гемоглобина в крови средств, антикоагулянтов, производных крови, и тромболитических ферментов. Средства против злокачественной опухоли могут представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из алкилирующих лекарственных средств, антиметаболитов, антибиотиков против злокачественной опухоли, средств против злокачественной опухоли, которые изменяют гормональный баланс, и прочих

средств против злокачественной опухоли.

Иммуномодулирующее лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из иммунодепрессантов, вакцин или по меньшей мере одного токсоида, антигистамина или по меньшей мере одного антивитамина, иммунной сыворотки и модификаторов биологического ответа. Лекарственное средство для глаз, ушей и носа может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из офтальмических противомикробных средств, офтальмических противовоспалительных средств, миотиков, мидриатиков, офтальмических сосудосуживающих средств, прочих лекарственных средств для глаз, ушей и носа. Местное лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из противомикробных средств, скабицидов или по меньшей мере одного педикулицида или местного кортикостероида. Диетологическое лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из витаминов, минералов или калорийных средств. См., например, содержание Nursing 2001 Drug Handbook, выше.

По меньшей мере одно амебицидное или противопрозоидное средство может представлять собой по меньшей мере одно лекарственное средство, выбранное из атоваквона, хлороквина гидрохлорида, хлороквина фосфата, метронидазола, метронидазола гидрохлорида и пентамидина изетионата. По меньшей мере одно противогельминтное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из мебендазола, пирантела памоата и тиабендазола. По меньшей мере одно противогрибковое средство может представлять собой, по меньшей мере, средство, выбранное из амфотерицина В, холестерил-сульфатного комплекса амфотерицина В, липидного комплекса амфотерицина В, липосомального амфотерицина В, флуконазола, флуцитозина, микроразмерного гризеофульвина, ультрамикроразмерного гризеофульвина, итраконазола, кетоконазола, нистатина и тербинафина гидрохлорида. По меньшей мере одно противомаларийное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из хлороквина гидрохлорида, хлороквина фосфата, доксицилина, гидроксихлороквина сульфата, мефлоквина гидрохлорида, примаквина фосфата, пириметамин и пириметамин с сульфадоксином. По меньшей мере одно противотуберкулезное или противолепрозное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из клофазимина, циклосерина, дапсона, этамбутола гидрохлорида, изониазида, пиразинамида, рифабутина, рифампина, рифапентина и стрептомицина сульфата. По меньшей мере один аминогликозид может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амикацина сульфата, гентамицина сульфата, неомицина сульфата, стрептомицина сульфата и тобрамицина сульфата. По меньшей мере один пенициллин может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амоксициллин/клавуланата калия, амоксициллина тригидрата, ампициллина, ампициллина натрия, ампициллина тригидрата, ампициллин натрия/сульбактама натрия, клоксациллина натрия, диклоксациллина натрия, мезлоциллина натрия, нафциллина натрия, оксациллина натрия, пенициллина G бензатина, пенициллина G калия, пенициллина G прокаина, пенициллина G натрия, пенициллина V калия, пиперациллина натрия, пиперациллин натрия/тазобактама натрия, тикарциллина динатрия и тикарциллин динатрия/клавуланата калия. По меньшей мере один цефалоспорин может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из цефалора, цефадроксил, цефазолин натрия, цефдинира, цефепима гидрохлорида, цефиксима, цефметазола натрия, цефоницида натрия, цефоперазона натрия, цефотаксима натрия, цефотетана динатрия, цефокситина натрия, цефподоксима проксетила, цефпрозила, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима натрия, цефтриаксона натрия, цефуросима аксетила, цефуросима натрия, цефалексина гидрохлорида, цефалексина моногидрата, цефрадина и лораксабефа. По меньшей мере один тетрациклин может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из демеклоциклина гидрохлорида, доксицилина кальция, доксицилина гиклата, доксицилина гидрохлорида, доксицилина моногидрата, миноциклина гидрохлорида и тетрациклина гидрохлорида. По меньшей мере один сульфонамид может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ко-тримоксазола, сульфадиазина, сульфаметоксазола, сульфизоксазола и ацетилсульфизоксазола. По меньшей мере один фторхинолон может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из алатрофлоксацина мезилата, цiproфлоксацина, эноксацина, левофлоксацина, ломефлоксацина гидрохлорида, налидиксовой кислоты, норфлоксацина, офлоксацина, спарфлоксацина и тровафлоксацина мезилата. По меньшей мере один фторхинолон может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из алатрофлоксацина мезилата, цiproфлоксацина, эноксацина, левофлоксацина, ломефлоксацина гидрохлорида, налидиксовой кислоты, норфлоксацина, офлоксацина, спарфлоксацина и тровафлоксацина мезилата. По меньшей мере одно противовирусное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из абакавира сульфата, ацикловира натрия, амантадина гидрохлорида, ампренавира, цидофовира, делавирдина мезилата, диданозина, эфавиренца, фамивирона, фомивирсена натрия, фоскарнета натрия, ганцикловира, индинавира сульфата, ламивудина, ламивудин/зидовудина, нельфинавира мезилата, невирапина, озельтамивира фосфата, рибавирина, римантидина гидрохлорида, ритонавира, саквинавира, саквинавира мезилата, ставудина, валацикловира гидрохлорида, зальцитабина, занамивира, и зидовудина. По меньшей мере одно макролидное противомикробное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из азитромицина, кларитромицина, диритромицина, основания эритромицина, эритромицина эстолата, эритромицина этил-

сукцината, эритромицина лактобионата и эритромицина стеарата. По меньшей мере одно прочее противовоспалительное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из азтреонама, бацитрацина, хлорамфеникола натрия сукцината, клиндамицина гидрохлорида, клиндамицина пальмитата гидрохлорида, клиндамицина фосфата, имипенема и циластатина натрия, меропенема, макрокристаллов нитрофурантоина, микрокристаллов нитрофурантоина, квинупристин/дальфопристина, спектиномицина гидрохлорида, триметоприма и ванкомицина гидрохлорида (см., например, р. 24-214 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере одно инотропное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амринона лактата, дигоксина и милринона лактата. По меньшей мере одно противоаритмическое средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из аденозина, амиодарона гидрохлорида, атропина сульфата, бретилиума тозилата, дилтиазема гидрохлорида, дизопирамида, дизопирамида фосфата, эсмолола гидрохлорида, флечианида ацетата, ибутилида фумарата, лидокаина гидрохлорида, мексилетина гидрохлорида, морицизина гидрохлорида, фенитоина, фенитоина натрия, прокаинамида гидрохлорида, пропафенона гидрохлорида, пропранолола гидрохлорида, квинидина бисульфата, квинидина глюконата, квинидина полигалактоуроната, квинидина сульфата, соталола, токаицида гидрохлорида и верапамила гидрохлорида. По меньшей мере одно антиангинальное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амлодипидина безилата, амила нитрита, бепридила гидрохлорида, дилтиазема гидрохлорида, изосорбита динитрата, изосорбита мононитрата, надолола, никардипина гидрохлорида, нифедипина, нитроглицерина, пропранолола гидрохлорида, верапамила и верапамила гидрохлорида. По меньшей мере одно антигипертензивное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацебутолола гидрохлорида, амлодипина безилата, атенолола, беназеприла гидрохлорида, бетоксалолола гидрохлорида, бизопролола фумарата, кандесартана цилексетила, каптоприла, картеолола гидрохлорида, карведилола, клонидина, клонидина гидрохлорида, диазоксиды, дилтиазема гидрохлорида, доксазозина мезилата, эналаприлата, эналаприла малеата, эпросартана мезилата, фелодипина, фенолдопама мезилата, фосиноприла натрия, гуанабенца ацетата, гуанадрела сульфата, гуанфацина гидрохлорида, гидралазина гидрохлорида, ирбесартана, израдипина, лабеталолола гидрохлорида, лизиноприла, лозартана калия, метилдопы, метилдопат-гидрохлорида, метопролола сукцината, метопролола тартрата, миноксидила, мозексиприла гидрохлорида, надолола, никардипина гидрохлорида, нифедипина, низолдипина, нитропруссиды натрия, пентбутолола сульфата, периндоприла эрбумина, фентоламина мезилата, пиндолола, празосина гидрохлорида, пропранолола гидрохлорида, квинаприла гидрохлорида, рамиприла, телмисартана, теразозина гидрохлорида, тимолола малеата, трандолаприла, валсартана и верапамила гидрохлорида. По меньшей мере одно антилипидемическое средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из аторвастатина кальция, церивастатина натрия, холестирамина, колестипола гидрохлорида, фенофибрата (микронизированного), флувастатина натрия, гемфиброзила, ловастатина, ниацина, правастатина натрия и симвастатина. По меньшей мере одно прочее CV лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из абциксимаба, алпростатида, арбутамин гидрохлорида, цилостазола, клопидогрела бисульфата, дипиридамола, эптифибатида, мидодрина гидрохлорида, пентоксифиллина, тиклопидина гидрохлорида и тирофибана гидрохлорида (см., например, р. 215-336 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере один ненаркотический анальгетик или жаропонижающее средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацетаминофена, аспирина, холина магния трисалицилата, дифлунизала и магния салицилата. По меньшей мере одно нестероидное противовоспалительное лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из цефекоксиба, диклофенака калия, диклофенака натрия, этодолака, фенопрофена кальция, флупрофена, ибупрофена, индометацина, индометацина натрия тригидрата, кетопрофена, каторолака трометамин, набуметона, напроксена, напроксена натрия, оксaproзина, пироксикама, рофекоксиба и сулиндака. По меньшей мере один наркотический или опиодный анальгетик может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из альфентанила гидрохлорида, бупренорфина гидрохлорида, буторфанолола тартрата, кодеина фосфата, кодеина сульфата, фентанила цитрата, трансдермальной системы фентанила, фентанила для введения через слизистую оболочку, гидроморфона гидрохлорида, меперидина гидрохлорида, метадона гидрохлорида, морфина гидрохлорида, морфина сульфата, морфина тартрата, нальбуфина гидрохлорида, оксикодона гидрохлорида, оксикодона пектината, оксиморфона гидрохлорида, пентазоцина гидрохлорида, пентазоцина гидрохлорида и налоксона гидрохлорида, пентазоцина лактата, пропоксифена гидрохлорида, пропоксифена напсилата, ремифентанила гидрохлорида, суфентанила цитрата и трамадола гидрохлорида. По меньшей мере одно седативное гипнотическое средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из хлоралгидрата, эстазолама, флуразепама гидрохлорида, пентобарбитала, пентобарбитала натрия, фенобарбитала натрия, секобарбитала натрия, темазепама, триазолама, залеплона и золпидема тартрата. По меньшей мере одно противосудорожное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацетазоламида натрия, карбамазепина, клонезапама, клоразепата дикалия, диазепам, дивалпрекса натрия, этосуксимиды, фосфенитоина натрия, габапентина, ламотригина, сульфата магния, фенобарбитала, фенобарбитала

натрия, фенитоина, фенитоина натрия, фенитоина натрия (длительного действия), примидона, тиагабина гидрохлорида, топирамата, вальпроата натрия и вальпроевой кислоты. По меньшей мере один антидепрессант может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амитриптилина гидрохлорида, амитриптилина памоата, амоксапина, бупропиона гидрохлорида, циталопрама гидробромида, клопирамина гидрохлорида, дезипрамина гидрохлорида, доксепина гидрохлорида, флуоксетина гидрохлорида, имипрамина гидрохлорида, имипрамина памоата, миртазапина, нефадозона гидрохлорида, нортриптилина гидрохлорида, пароксетина гидрохлорида, фенелзина сульфата, сертралина гидрохлорида, транилципромина сульфата, тримипрамина малеата и венлафаксина гидрохлорида. По меньшей мере одно седативное лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из альпразолама, буспирона гидрохлорида, хлордиазепоксида, хлордиазепоксида гидрохлорида, клоразепата дикалия, диазепам, доксепина гидрохлорида, гидроксизина эмбоната, гидроксизина гидрохлорида, гидроксизина памоата, лоразепам, мефробамата, мидазолама гидрохлорида и оксазепам. По меньшей мере одно антипсихотическое лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из хлорпромазина гидрохлорида, клозапина, флуфеназина деканоата, галоперидола деканоата, галоперидола лактата, локсапина гидрохлорида, локсапина сукцината, мезоридазина безилата, молидона гидрохлорида, оланзапина, перфеназина, пимозид, прохлорперазина, кветиапина fumarата, рисперидона, тиоридазина гидрохлорида, тиотиксена, тиотиксена гидрохлорида и трифлуоперазина гидрохлорида. По меньшей мере один стимулятор центральной нервной системы может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амфетамина сульфата, кофеина, декстроамфетамина сульфата, доксапрама гидрохлорида, метамфетамина гидрохлорида, метилфенидата гидрохлорида, модафинила, пемолина и фентермина гидрохлорида. По меньшей мере одно противопаркинсоническое средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из амантадина гидрохлорида, бензтропина мезилата, биперидена гидрохлорида, биперидена лактата, бромкриптина мезилата, карбидопа-леводопы, энтакапона, леводопы, перголида мезилата, прамипексола дигидрохлорида, ропинирола гидрохлорида, селегилина гидрохлорида, толкапона и тригексилфенидила гидрохлорида. По меньшей мере одно прочее средство для центральной нервной системы может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из бупропиона гидрохлорида, донепезила гидрохлорида, дроперидола, флувоксамина малеата, карбоната лития, цитрата лития, нарatriптана гидрохлорида, никотина полакриллекса, трансдермальной системы никотина, пропофола, ризатриптана бензоата, сибутамина гидрохлорида моногидрата, суматриптана сукцината, такрина гидрохлорида и золмитриптана (см., например, p. 337-530 of Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере одно холинергическое средство (например, парасимпатомиметик) может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из бетанехола хлорида, эдрофония хлорида, неостигмина бромида, неостигмина метилсульфата, физостигмина салицилата и пиридостигмина бромида. По меньшей мере одно антихолинергическое средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из атропина сульфата, дициломина гидрохлорида, гликопирролата, хиосциамина, хиосциамина сульфата, пропентелина бромида, скополамина, скополамина бутилбромида и скополамина гидробромида. По меньшей мере одно адренергическое средство (симпатомиметик) может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из добутамина гидрохлорида, дофамина гидрохлорида, метараминола битартрата, норадrenalина битартрата, фенилэфрина гидрохлорида, псевдоэфедрина гидрохлорида и псевдоэфедрина сульфата. По меньшей мере один адренергический блокатор (симпатолитик) может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из дигидроэрготамина мезилата, эрготамина тартрата, метисергида малеата и пропранолола гидрохлорида. По меньшей мере один релаксант скелетной мускулатуры может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из баклофена, карисопродола, хлорзоксазона, циклобензаприна гидрохлорида, дантролена натрия, метокарбамола и тизанидина гидрохлорида. По меньшей мере один нервно-мышечный блокатор может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из атракурия безилата, цисатракурия безилата, доксакурия хлорида, мивакурия хлорида, панкурония бромида, пипекурония бромида, рапакурония бромида, рокурония бромида, сукцинила хлорида, турбокурарина хлорида и венокурония бромида (см., например, p. 531-84 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере одно антигистаминное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из бромфенирамина малеата, цетиразина гидрохлорида, хлорфенирамина малеата, клемастина fumarата, ципрогептадина гидрохлорида, дифенгидрамина гидрохлорида, фексофенадина гидрохлорида, лоратидина, прометазина гидрохлорида, прометазина теоклата и трипролидина гидрохлорида. По меньшей мере один бронходилататор может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из альбутерола, альбутерола сульфата, аминофиллина, атропина сульфата, эфедрина сульфата, адреналина, адреналина битартрата, адреналина гидрохлорида, ипратропиума бромида, изопротеренола, изопротеренола гидрохлорида, изопротеренола сульфата, левальбутерола гидрохлорида, метапротеренола сульфата, окситрифиллина, пиребутерола ацетата, сальметерола ксинафоата, тербуталидина сульфата и теофиллина. По меньшей мере одно отхаркивающее средство или средство против кашля может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из бензоната, кодеина фосфата,

кодеина сульфата, дектраметорафана гидробромида, дифенгидрамина гидрохлорида, гуайфенезина и гидроморфона гидрохлорида. По меньшей мере одно прочее лекарственное средство для дыхательных путей может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацетилцистеина, беклометазона дипропионата, берактанга, будезонида, кальфактанга, кромолина натрия, дорназы альфа, эпопростенола натрия, флунизотида, флуказона пропионата, монтелукаста натрия, недокромила натрия, паливизумаба, триамцинолона ацетонида, зафирлукаста и zileутона (см., например, р. 585-642 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере один антацид, адсорбент или средство, устраняющее метеоризм, может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из карбоната алюминия, гидроксида алюминия, карбоната кальция, магалдрата, гидроксида магния, оксида магния, симетикона и бикарбоната натрия. По меньшей мере один пищеварительный фермент или средство, растворяющее желчные камни, может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из панкреатина панкрелипазы и урсодиола. По меньшей мере одно средство против диареи может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из аттапульгита, субсалицилата висмута, кальция поликарбофила, дифеноксилата гидрохлорида и атропина сульфата, лоперамида, октреотида ацетата, настойки опиума и настойки опиума (камфорной). По меньшей мере одно слабительное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из бисакодила, кальция поликарбофила, каскара саграда, ароматического жидкого экстракта каскара саграда, жидкого экстракта каскара саграда, касторового масла, докузата кальция, докузата натрия, глицерина, лактулозы, цитрата магния, гидроксида магния, сульфата магния, метилцеллюлозы, минерального масла, полиэтиленгликоля или раствора электролита, псилиума, сенны и фосфата натрия. По меньшей мере одно противорвотное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из хлорпромазина гидрохлорида, дименгидрината, долазетрона мезилата, дронабинола, гранизетрона гидрохлорида, меклизина гидрохлорида, метоклопрамида гидрохлорида, ондансетрона гидрохлорида, перфеназина, прохлорперазина, прохлорперазина эдизилата, прохлорперазина малеата, прометазина гидрохлорида, скополамина, триэтилперазина малеата и триметобензамида гидрохлорида. По меньшей мере одно лекарственное средство против язвы может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из циметидина, циметидина гидрохлорида, фамотидина, ланзопразола, мизопростола, низатидина, омепразола, рабепразола натрия, ранитидина висмута цитрата, ранитидина гидрохлорида и сукралфата (см., например, р. 643-95 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере один кортикостероид может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из бетаметазона, бетаметазона ацетата или бетаметазона натрия фосфата, бетаметазона натрия фосфата, ацетата кортизона, дексаметазона, дексаметазона ацетата, дексаметазона натрия фосфата, флудроацетата кортизона, гидрокортизона, гидроацетата кортизона, гидрокортизона ципионата, гидрокортизона натрия фосфата, гидрокортизона натрия сукцината, метилпреднизолона, метилпреднизолона ацетата, метилпреднизолона натрия сукцината, преднизолона, преднизолона ацетата, преднизолона натрия фосфата, преднизолона тебута, преднизона, триамцинолона, триамцинолона ацетонида и триамцинолона диацетата. По меньшей мере один андроген или анаболический стероид может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из даназола, флуоксиместерона, метилтестостерона, нандролона деканоата, нандролона фенпропионата, тестостерона, тестостерона ципионата, тестостерона энантата, тестостерона пропионата и трансдермальной системы тестостерона. По меньшей мере один эстроген или прогестин может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из этерифицированных эстрогенов, эстрадиола, эстрадиола ципионата, трансдермальной системы эстрадиол/норэтиндрона ацетата, эстрадиола валерата, эстрогенов (конъюгированных), эстропипата, этинилэстрадиола, этинилэстрадиола и дезогестрела, этинилэстрадиола и этиндиола диацетата, этинилэстрадиола и дезогестрела, этинилэстрадиола и этиндиола диацетата, этинилэстрадиола и левоноргестрела, этинилэстрадиола и норэтиндрона, этинилэстрадиола и норэтиндрона ацетата, этинилэстрадиола и норгестимата, этинилэстрадиола и норгестрела, этинилэстрадиола и норэтиндрона и ацетата и фумарата железа, левоноргестрела, медроксипрогестерона ацетата, местранола и норэтиндрона, норэтиндрона, норэтиндрона ацетата, норгестрела и прогестерона. По меньшей мере один гонадотропин может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ганиреликса ацетата, гонадорелина ацетата, гистрелина ацетата и менотропинов. По меньшей мере одно противодиабетическое средство или глюкагон может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из акарбозы, хлорпропамида, глимепирида, глипизида, глюкагона, глибурида, инсулина, метформина гидрохлорида, миглитола, пиоглитазона гидрохлорида, репаглинида, розиглитазона малеата и троглитазона. По меньшей мере один гормон щитовидной железы может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из левотироксина натрия, лиотиронина натрия, лиотрикса и тироида. По меньшей мере один антагонист гормона щитовидной железы может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из метимазола, йодида калия, йодида калия (насыщенный раствор), пропилиотиурацила, радиоактивного йода (йодид натрия ¹³¹I) и концентрированного раствора йода. По меньшей мере один гормон гипофиза может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из кортикотропина, козинотропина, десмопрессина ацетата, леупролида ацетата, кортикотропина продленного действия, соматрема, соматропина и вазопрессина. По меньшей мере одно лекарственное средство, подобное гормону парашитовидной железы,

может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из кальцифедиола, кальцитонина (человека), кальцитонина (лосося), кальцитриола, дигидротрахистерола и этидроната натрия (см., например, р. 696-796 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере один диуретик может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацетазоламида, ацетазоламида натрия, амилорида гидрохлорида, буметанида, хлорталидона, этакрината натрия, этакриновой кислоты, фуросемида, гидрохлортиазида, индапамида, маннита, метолазона, спиронолактона, торсемида, триамтерена и мочевины. По меньшей мере один раствор электролита или замещающий раствор может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацетата кальция, карбоната кальция, хлорида кальция, цитрата кальция, глюбионата кальция, глюцептата кальция, глюконата кальция, лактата кальция, фосфата кальция (двухосновного), фосфата кальция (трехосновного), декстрана (высокомолекулярного), декстрана (низкомолекулярного), гетакрахмала, хлорида магния, сульфата магния, ацетата калия, бикарбоната калия, хлорида калия, глюконата калия, раствора Рингера для инъекций, раствора Рингера для инъекций (лактатного) и хлорида натрия. По меньшей мере одно подкисляющее или подщелачивающее средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из бикарбоната натрия, лактата натрия и трометаминна (см., например, р. 797-833 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере одно средство для повышения уровня гемоглобина в крови может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из fumarата железа, глюконата железа, сульфата железа, сульфата железа (высушенного), декстрана железа, сорбита железа, комплекса полисахарид-железо и комплекса глюконата железа с натрием. По меньшей мере один антикоагулянт может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ардепарина натрия, дальтепарина натрия, данапароида натрия, эноксапарина натрия, гепарина кальция, гепарина натрия и варфарина натрия. По меньшей мере одно производное крови может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из альбумина 5%, альбумина 25%, антигемофильного фактора, антиингибиторного коагулянтного комплекса, антитромбина III (человека), фактора IX (человека), комплекса фактора IX и фракций белков плазмы. По меньшей мере один тромболитический фермент может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из альтеплазы, анистреплазы, ретеплазы (рекомбинантной), стрептокиназы и урокиназы (см., например, р. 834-66, Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере одно алкилирующее лекарственное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из бисульфана, карбоплатина, кармустина, хлорамбуцила, цисплатина, циклофосамида, ифосаамида, ломустина, мехлорэтамидина гидрохлорида, мелфалана, мелфалана гидрохлорида, стрептозоцина, темозололмида и тиотепы. По меньшей мере один антиметаболит может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из капецитабина, кладрибина, цитарабина, флоксуридина, флударабина фосфата, фторурацила, гидроксимочевины, меркаптопурина, метотрексата, метотрексата натрия и тиогуанина. По меньшей мере одно антибиотическое противоопухолевое средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из блеомицина сульфата, дактиномицина, даунорубицина липосомального цитрата, даунорубицина гидрохлорида, доксорубицина гидрохлорида, липосомального доксорубицина гидрохлорида, эпирубицина гидрохлорида, идарубицина гидрохлорида, митомицина, пентостатина, пликамицина и валрубицина. По меньшей мере одно противоопухолевое средство, которое изменяет гормональный баланс может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из анастрозола, бикалутамида, эстрамустина фосфата натрия, экземестана, флутамида, гозерелина ацетата, лектрозола, леупролида ацетата, магестрола ацетата, нилутамида, тамоксифена цитрата, тостолактона и торемифена цитрата. По меньшей мере одно прочее противоопухолевое средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из аспарагиназы, бацилл Кальметта-Герена (BCG) (живых интравезикулярных), декарбазина, доцетаксела, этопзида, этопзида фосфата, гемцитабина гидрохлорида, иринотекана гидрохлорида, митотана, митоксантрона гидрохлорида, паклитаксела, пегаспаргазы, порфимера натрия, прокарбазина гидрохлорида, ритуксимаба, тенипозида, топотекана гидрохлорида, трастузумаба, третиноина, винбластина сульфата, винкристина сульфата и винорелбина тартрата (см., например, р. 867-963 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере один иммунодепрессант может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из азатиоприна, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба, лимфоцитарного иммуноглобулина, муромонаб-CD3, микофенолята мофетила, микофенолята мофетила гидрохлорида, сиролимуса и такролимуса. По меньшей мере одна вакцина или токсин может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из вакцины BCG, противохолерной вакцины, токсинидов дифтерии и столбняка (адсорбированных), адсорбированных токсинидов дифтерии и столбняка и бесклеточной вакцины против коклюша, токсинидов дифтерии и столбняка и вакцины против коклюша с цельными клетками, вакцины против *Haemophilus b* на основе конъюгата, вакцины против гепатита А (инактивированной), вакцины против гепатита В (рекомбинантной), трехвалентной вакцины против вируса гриппа типов А и В 1999-2000 (очищенный поверхностный антиген), трехвалентной вакцины против вируса гриппа типов А и В 1999-2000 (субвирион или очищенный субвирион), трехвалентной вакцины против вируса гриппа типов А и В 1999-2000 (целый вирион), вакцины против вируса японского энцефалита (инактивированной), вакцины против болезни Лайма (рекомбинантной OspA), вакцины против вируса кори и свинки и крас-

нухи (живой), вакцины против вируса кори и свинки и краснухи (живой аттенуированной), вакцины против вируса кори (живой аттенуированной), вакцины на основе менингококкового полисахарида, вакцины против вируса кори (живой), вакцины против чумы, пневмококковой вакцины (поливалентный), вакцины против вируса полиомиелита (инактивированной), вакцины против вируса полиомиелита (живой, пероральной, трехвалентной), вакцины против бешенства (адсорбированной), вакцины против бешенства (диплоидные клетки человека), вакцины против вируса краснухи и свинки (живой), вакцины против вируса краснухи (живой аттенуированной), токсоида столбняка (адсорбированного), токсоида столбняка (жидкого), вакцины против тифа (пероральной), вакцины против тифа (парентеральной), вакцины на основе полисахарида против Vi тифа, вакцины против вируса ветряной оспы и вакцины против желтой лихорадки. По меньшей мере один антитоксин или антивенин может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из антивенина паука черной вдовы, антитоксина против змеиного яда *Crotalidae* (поливалентного), антитоксина дифтерии (эквина) и антивенина *Micropus fulvius*. По меньшей мере одна иммунная сыворотка может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из иммуноглобулина против цитомегаловируса (внутривенного), иммуноглобулина против гепатита В (человека), внутримышечного иммуноглобулина, внутривенного иммуноглобулина, иммуноглобулина против бешенства (человека), внутривенного иммуноглобулина против респираторно-синцитиального вируса (человека), иммуноглобулина Rh₀(D) (человека), внутривенного иммуноглобулина Rh₀(D) (человека), иммуноглобулина против столбняка (человека) и иммуноглобулина против varicella-zoster. По меньшей мере одно модифицирующее биологический ответ средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из альдеслейкина, эпоэтина-альфа, филграстима, глатирамера ацетата для инъекций, интерферона альфакон-1, интерферон альфа-2а (рекомбинантного), интерферона альфа-2b (рекомбинантного), интерферона бета-1а, интерферона бета-1b (рекомбинантного), интерферона гамма-1b, левамизола гидрохлорида, опрелвекима и сарграмостима (см., например, р. 964-1040 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере одно противомикробное средство для глаз может быть выбрано из бацитрацина, хлорамфеникола, ципрофлоксацина гидрохлорида, эритромицина, гентамицина сульфата, офлоксацина 0,3%, полимиксина В сульфата, сульфациетамида натрия 10%, сульфациетамида натрия 15%, сульфациетамида натрия 30%, тобрамицина и видарабина. По меньшей мере одно противовоспалительное средство для глаз может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из дексаметазона, дексаметазона натрия фосфата, диклофенака натрия 0,1%, фторметолона, флубипрофена натрия, каторолака трометамина, преднизолона ацетата (суспензии) и преднизолона натрия фосфата (раствора). По меньшей мере один миотик может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацетилхолина хлорида, карбахола (внутриглазного), карбахола (местного), экотиофата иодида, пилокарпина, пилокарпина гидрохлорида и пилокарпина нитрата. По меньшей мере один мидриатик может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из атропина сульфата, циклопентолята гидрохлорида, адреналина гидрохлорида, эпинефрина бората, гоматропина гидробромида, фенилэфрина гидрохлорида, скополамина гидробромида и тропикамида. По меньшей мере одно сосудосуживающее средство для глаз может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из нафазолина гидрохлорида, оксиметазолина гидрохлорида и тетрагидрозолина гидрохлорида. По меньшей мере одно прочее средство для глаз может представлять по меньшей мере одно средство, выбранное из апраклонидина гидрохлорида, бетоксалола гидрохлорида, бримонидина тартрата, картеолола гидрохлорида, дипивефрина гидрохлорида, дорзоламида гидрохлорида, эмедастина дифумарата, флуоресцеина натрия, кетотифена фумарата, латанопроста, левобунолола гидрохлорида, метипранолола гидрохлорида, хлорида натрия (гипертонического) и тимолола малеата. По меньшей мере одно средство для ушей может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из борной кислоты, пероксида карбамида, хлорамфеникола и конденсата олеата триэтанолamina полипептида. По меньшей мере одно лекарственное средство для носа может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из беклометазона дипропионата, будезонида, эфедрина сульфата, адреналина гидрохлорида, флунизолида, флуказона пропионата, нафазолина гидрохлорида, оксиметазолина гидрохлорида, фенилэфрина гидрохлорида, тетрагидрозолина гидрохлорида, триамцинолона ацетонида и ксилометазолина гидрохлорида (см., например, р. 1041-97 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере одно противомикробное средство для местного применения может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из ацикловира, амфотерицина В, крема с азелаиновой кислотой, бацитрацина, бутконазола нитрата, клиндамицина фосфата, клотримазола, эконазола нитрата, эритромицина, гентамицина сульфата, кетоконазола, мафенида ацетата, метронидазола (для местного применения), миконазола нитрата, мупироцина, нафтифина гидрохлорида, неомицина сульфата, нитрофуразона, нистатина, сульфадиазина серебра, тербинафина гидрохлорида, терконазола, тетрациклина гидрохлорида, тиокконазола и толнафтата. По меньшей мере один скабицид или педикулицид может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из кротамитона, линдана, перметрина и пиретринов. По меньшей мере один кортикостероид для местного применения может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из бетаметазона дипропионата, бетаметазона валерата, клобетазола пропионата, дезонида, дезоксиметазона, дексаметазона, дексаметазона натрия фосфата, дифло-

разона диацетата, флуоцинолона ацетонида, флуоционида, флурандренолида, флуказона пропионата, галционида, гидрокортизона, гидроацетата кортизона, гидрокортизона бутирата, гидрокортизона валерата, мометазона фууроата и триамцинолона ацетонида (см., например, р. 1098-1136 Nursing 2001 Drug Handbook).

По меньшей мере один витамин или минерал может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из витамина А, комплекса витаминов В, цианкобаламина, фолиевой кислоты, гидроксикобаламина, лейковорина кальция, ниацина, ниацинамида, пиридоксина гидрохлорида, рибофлавина, тиамин гидрохлорида, витамина С, витамина D, хлоркальциферола, эргокальциферола, аналога витамина D, доксеркальциферола, парикальцитолола, витамина Е, аналога витамина К, фитонадиона, фторида натрия, фторида натрия (местного), микроэлементов, хрома, меди, йода, марганца, селена и цинка. По меньшей мере одно калорийное средство может представлять собой по меньшей мере одно средство, выбранное из аминокислот для инфузий (кристаллических), аминокислот для инфузий в декстрозе, аминокислот для инфузий с электролитами, аминокислот для инфузий с электролитами в декстрозе, аминокислот для инфузий при печеночной недостаточности, аминокислот для инфузий при высоком метаболическом стрессе, аминокислот для инфузий при почечной недостаточности, декстрозы, жировых эмульсий и триглицеридов средней цепи (см., например, р. 1137-63 Nursing 2001 Drug Handbook).

Композиции антител против IL-23p19 по настоящему изобретению, кроме того, могут содержать по меньшей мере одно из любых пригодных и эффективных количеств композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело против IL-23p19, которое приводят в контакт с клеткой, тканью, органом, животным или пациентом, или вводят в клетку, ткань, орган, животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, воздействии или терапии, кроме того, необязательно содержащей по меньшей мере одно средство, выбранное из антагониста TNF (например, но не ограничиваясь ими, химического или белкового антагониста TNF, моноклонального или поликлонального антитела против TNF или фрагмента, растворимого рецептора для TNF (например, p55, p70 или p85) или фрагмента, их слитых полипептидов или низкомолекулярного антагониста TNF, например, связывающего TNF белка I или II (TBP-I или TBP-II), нерелимомаба, инфликсимаба, энтерацепта, CDP-571, CDP-870, афелимомаба, ленерцепта и т.п.), противоревматического средства (например, метотрексата, ауранфина, ауротиоглюкозы, азатиоприна, этанерцепта, золота натрия гиомалата, гидроксихлороквина сульфата, лефлуномида, сульфасалзина), мышечного релаксанта, наркотического средства, нестероидного противовоспалительного лекарственного средства (NSAID), обезболивающего средства, анестетика, седативного средства, местного анестетика, нервно-мышечного блокатора, противомикробного средства (например, аминогликозида, противогрибкового средства, противопаразитарного средства, противовирусного средства, карбапенема, цефалоспорины, фторхинолона, макролида, пенициллина, сульфонамида, тетрациклина, другого противомикробного средства), противопсориазного средства, кортикостероида, анаболического стероида, средства против диабета, минерала, питательного вещества, средства для щитовидной железы, витамина, связанного с кальцием гормона, средства против диареи, средства против кашля, противорвотного средства, средства против язвы, слабительного средства, антикоагулянта, эритропоэтина (например, эпоэтина альфа), филграстима (например, G-CSF, Neupogen), сарграмостима (GM-CSF, Leukine), средства для иммунизации, иммуноглобулина, иммунодепрессанта (например, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба), гормона роста, заместительного гормонального лекарственного средства, модулятора эстрогеновых рецепторов, мидриатика, средства против циклоплегии, алкилирующего средства, антиметаболита, ингибитора митоза, радиофармацевтического средства, антидепрессанта, средства против мании, антипсихотического средства, анксиолитика, гипнотического средства, симпатомиметика, стимулирующего средства, донепезила, такрина, лекарственного средства от астмы, бета-агониста, стероида для ингаляции, ингибитора лейкотриена, метилксантина, кромолина, адреналина или аналога, дорназы альфа (пульмозим), цитокина или антагониста цитокина. Неограничивающие примеры таких цитокинов включают, но не ограничиваются ими, любой из от IL-1 до IL-23 (например, IL-1, IL-2 и т.д.). Пригодные дозы хорошо известны в данной области. См., например, Wells et al., eds., *Pharmacotherapy Handbook*, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); *PDR Pharmacopoeia*, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000), все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Такие противоопухолевые или противоиные средства также могут включать молекулы токсинов, которые ассоциированы, связаны, которые совместно составляют или совместно вводят по меньшей мере с одним антителом по настоящему изобретению. Действие токсина необязательно может быть направлено на селективное уничтожение патологической клетки или ткани. Патологическая клетка может представлять собой злокачественную или другую клетку. Такие токсины могут представлять собой, но не ограничиваться ими, очищенный или рекомбинантный токсин или фрагмент токсина, содержащий по меньшей мере один функциональный цитотоксический домен токсина, например, выбранного по меньшей мере из одного из рицина, дифтерийного токсина, токсина змеиного яда или бактериального токсина. Термин "токсин" также включает как эндотоксины, так и экзотоксины, продуцируемые природными, мутантными или рекомбинантными бактериями или вирусами, которые могут вызывать любое патологическое состояние у человека и других млекопитающих, в том числе токсинный шок, который

может привести к смерти. Такие токсины могут включать, но не ограничиваться ими, термолabileльный (LT) энтеротоксин энтеротоксигенных *E. coli*, термостабильный энтеротоксин (ST), цитотоксин *Shigella*, энтеротоксины *Aeromonas*, токсин-1 синдрома токсического шока (TSST-1), стафилококковый энтеротоксин А (SEA), В (SEB) или С (SEC), стрептококковые энтеротоксины и т.п. Такие бактерии включают, но не ограничиваются ими, штаммы или виды энтеротоксигенных *E. coli* (ETEC), энтерогеоморрагических *E. coli* (например, штаммы серотипа 0157:H7), штаммы *Staphylococcus* (например, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes*), штаммы *Shigella* (например, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* и *Shigella sonnei*), штаммы *Salmonella* (например, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholera-suis*, *Salmonella enteritidis*), штаммы *Clostridium* (например, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Clostridium botulinum*), штаммы *Campylobacter* (например, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fetus*), штаммы *Helicobacter* (например, *Helicobacter pylori*), штаммы *Aeromonas* (например, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*), *Plesiomonas shigelloides*, *Yersinia enterocolitica*, штаммы *Vibrios* (например, *Vibrios cholerae*, *Vibrios parahemolyticus*), штаммы *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Streptococci*. См., например, Stein, ed., INTERNAL MEDICINE, 3rd ed., pp 1-13, Little, Brown and Co., Boston, (1990); Evans et al., eds., Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control, 2d. Ed., pp 239-254, Plenum Medical Book Co., New York (1991); Mandell et al., Principles and Practice of Infectious Diseases, 3d. Ed., Churchill Livingstone, New York (1990); Berkow et al., eds., The Merck Manual, 16th edition, Merck и Co., Rahway, NJ., 1992; Wood et al., FEMS Microbiology Immunology, 76:121-134 (1991); Marrack et al., Science, 248:705-711 (1990), содержание которых включено в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Соединения, композиции или сочетания антител против IL-23p19 по настоящему изобретению, кроме того, могут содержать по меньшей мере одно из любых пригодных дополнительных веществ, таких как, но не ограничиваясь ими, разбавитель, связующее вещество, стабилизатор, буферы, соли, липофильные растворители, консервант, адъювант или сходные с ними. Фармацевтически приемлемые дополнительные вещества являются предпочтительными. Неограничивающие примеры и способы получения таких стерильных растворов хорошо известны в данной области, такие как, но не ограничиваясь этим, Gennaro, Ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Обычно можно выбирать фармацевтически приемлемые носители, которые являются приемлемыми для способа введения, растворимости и/или стабильности композиции антитела против IL-23p19, фрагмента или варианта, как хорошо известно в данной области или как описано в настоящем описании.

Фармацевтические эксципиенты и добавки, пригодные для композиции по настоящему изобретению включают, но не ограничиваются ими, белки, пептиды, аминокислоты, липиды и углеводы (например, сахара, в том числе моносахариды, ди-, три-, тетра- и олигосахариды; производные сахаров, такие как альдиты, альдоновые кислоты, этерифицированные сахара и т.п.; и полисахариды или полимеры сахаров), которые могут быть представлены отдельно или в сочетании, составляя отдельно или в сочетании 1-99,99% по массе или по объему. Иллюстративные белковые эксципиенты включают сывороточный альбумин, такой как сывороточный альбумин человека (HSA), рекомбинантный альбумин человека (rHA), желатин, казеин и т.п. Репрезентативные компоненты аминокислот/антител, которые также могут функционировать с буферной емкостью, включают аланин, глицин, аргинин, бетаин, гистидин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, цистеин, лизин, лейцин, изолейцин, валин, метионин, фенилаланин, аспартам и т.п. Одной предпочтительной аминокислотой является глицин.

Углеводные эксципиенты, пригодные для применения в соответствии с этим изобретением, включают, например, моносахариды, такие как фруктоза, мальтоза, галактоза, глюкоза, D-манноза, сорбоза и т.п.; дисахариды, такие как лактоза, сахароза, трегалоза, целлобиоза и т.п.; полисахариды, такие как рафиноза, меллизитоza, мальтодекстрины, декстраны, крахмалы, и т.п.; и альдиты, такие как маннит, ксилит, мальтит, лактит, ксилит сорбит (глюцит), миоинозитол и т.п. Предпочтительные углеводные эксципиенты для применения в соответствии с настоящим изобретением представляют собой маннит, трегалозу и рафинозу.

Композиции антител против IL-23p19 также могут включать буфер или изменяющее pH вещество; как правило, буфер представляет собой соль, полученную из органической кислоты или основания. Репрезентативные буферы включают соли органических кислот, такие как соли лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты, глюконовой кислоты, угольной кислоты, виннокаменной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты или фталевой кислоты; Tris, гидроксид триметамин или фосфатные буферы. Предпочтительными буферами для применения в композициях по настоящему изобретению являются соли органических кислот, такие как цитрат.

Кроме того, композиции антител против IL-23p19 по этому изобретению могут включать полимерные эксципиенты/добавки, такие как поливинилпирролидоны, фиколлы (полимерный сахар), декстраты (например, циклодекстрины, такие как 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин), полиэтиленгликоли, вкусовые добавки, противомикробные средства, подсластители, антиоксиданты, антистатические средства, поверхностно-активные вещества (например, полисорбаты, такие как "TWEEN 20" и "TWEEN 80"), липиды (например, фосфолипиды, жирные кислоты), стероиды (например, холестерин) и хелатирующие агенты (например, ЭДТА).

Эти и дополнительные известные фармацевтические эксципиенты и/или добавки, пригодные для

применения в композициях антител против IL-23p19, участков или вариантов в соответствии с этим изобретением известны в данной области, например, как приведено в "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19th ed., Williams & Williams, (1995), и в "Physician's Desk Reference", 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), описания которых полностью включены в настоящее описание в качестве ссылок. Предпочтительные вещества носителей или эксципиентов представляют собой углеводы (например, сахараиды и альдиты) и буферы (например, цитрат) или полимерные вещества. Иллюстративная молекула носителя представляет собой мукополисахарид, гиалуроновую кислоту, которые могут быть пригодны для внутрисуставной доставки.

Составы

Как указано выше, это изобретение относится к стабильным составам, которые предпочтительно содержат фосфатный буфер с физиологическим раствором или выбранной солью, а также к поддающимся хранению растворам и составам, содержащим консервант, а также к поддающимся хранению составам для многократного применения, пригодным для фармацевтического или ветеринарного применения, содержащим по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 в фармацевтически приемлемом составе. Поддающиеся хранению составы содержат по меньшей мере один известный консервант или необязательно выбранный из группы, состоящей из по меньшей мере одного из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, нитрита фенилртути, феноксиэтанола, формальдегида, хлорбутанола, хлорида магния (например, гексагидрата), алкилпарабена (метил, этил, пропил, бутил и т.п.), хлорида бензалкония, хлорида бензетония, дегидроацетата натрия и тимеросала или их смесей в водном разбавителе. Можно использовать любую пригодную концентрацию или смесь, которые известны в данной области, такие как 0,0015%, или любой диапазон, значение, или часть в этой области. Неограничивающие примеры включают отсутствие консерванта, приблизительно 0,1-2% м-крезол (например, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,9, 1,0%), приблизительно 0,1-3 бензиловый спирт (например, 0,5, 0,9, 1,1, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5%), приблизительно 0,001-0,5% тимеросал (например, 0,005-1,0%), приблизительно 0,001-2,0% фенол (например, 0,05, 0,25, 0,28, 0,5, 0,9, 1,0%), 0,0005-1,0% алкилпарабен(ы) (например, 0,00075, 0,0009, 0,001, 0,002, 0,005, 0,0075, 0,009, 0,01, 0,02, 0,05, 0,075, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,75, 0,9, 1,0%) и т.п.

Как указано выше, это изобретение относится к изделию, содержащему упаковочный материал и по меньшей мере один флакон, содержащий раствор по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 с предусмотренными буферами и/или консервантами, необязательно в водном разбавителе, где указанный упаковочный материал содержит этикетку, на которой указано, что такой раствор можно хранить в течение периода времени 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 ч или более. Кроме того, это изобретение относится к изделию, содержащему упаковочный материал, первый флакон, содержащий по меньшей мере одно лиофилизированное антитело против IL-23p19, и второй флакон, содержащий водный разбавитель, состоящий из предусмотренного буфера или консерванта, где указанный упаковочный материал содержит этикетку, на которой приведена инструкция для пациента о том, что необходимо разбавить по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 антитело в водном разбавителе с получением раствора, который можно хранить в течение периода времени двадцать четыре часа или более.

По меньшей мере одно антитело против IL-23p19, используемое в соответствии с настоящим изобретением, можно получать рекомбинантными способами, в том числе из клеток млекопитающего или трансгенных препаратов, или его можно очищать из других биологических источников, как описано в настоящем описании или как известно в данной области.

Количество по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 в продукте по настоящему изобретению включает количества, которые после разбавления приводят, в случае влажной/сухой системы, к концентрациям от приблизительно 1,0 мкг/мл до приблизительно 1000 мг/мл, хотя более низкие и более высокие концентрации являются пригодными, и они зависят от предполагаемого носителя для доставки, например, составы раствора различаются для способа с трансдермальным пластырем, легочного способа, способа доставки через слизистые, или осмотического способа или способа с микродозатором.

Предпочтительно водный разбавитель, кроме того, необязательно содержит фармацевтически приемлемый консервант. Предпочтительные консерванты включают консерванты, выбранные из группы, состоящей из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, алкилпарабена (метил, этил, пропил, бутил и т.п.), хлорида бензалкония, хлорида бензетония, дегидроацетата натрия и тимеросала или их смесей. Концентрация консерванта, используемая в составе, представляет собой концентрацию, достаточную для достижения противомикробного эффекта. Такие концентрации зависят от выбранного консерванта, и их легко определит квалифицированный специалист.

В разбавитель необязательно и предпочтительно можно добавлять другие эксципиенты, например, изотонические вещества, буферы, антиоксиданты и усилители консервантов. Изотоническое вещество, такое как глицерин, широко используют в известных концентрациях. Физиологически допустимый буфер предпочтительно добавляют для обеспечения повышенного контроля pH. Составы могут охватывать широкий диапазон значений pH, такой как от приблизительно pH 4 до приблизительно pH 10, предпочтительный диапазон составляет от приблизительно pH 5 до приблизительно pH 9 и наиболее предпочтительный диапазон составляет от приблизительно pH 6,0 до приблизительно pH 8,0. Предпочтительно составы по настоящему изобретению обладают pH между приблизительно 6,8 и приблизительно 7,8. Предпочти-

тельные буферы включают фосфатные буферы, наиболее предпочтительно фосфат натрия, в частности фосфатно-солевой буфер (PBS).

В составы или композиции можно добавлять другие добавки, такие как фармацевтически приемлемые солубилизаторы, такие как Tween 20 (полиоксиэтилен (20) монолаурат сорбитана), Tween 40 (полиоксиэтилен (20) монопальмитат сорбитана), Tween 80 (полиоксиэтилен (20) моноолеат сорбитана), Pluronic F68 (блок-сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена), и PEG (полиэтиленгликоль) или неионные поверхностно-активные вещества, такие как полисорбат 20 или 80 или полуксамер 184 или 188, полиолы Pluronic®, другие блок-сополимеры и хелатирующие агенты, такие как EDTA и EGTA, для снижения агрегации. Эти добавки особенно пригодны в случае, когда для введения состава используют дозатор или пластиковый контейнер. Наличие фармацевтически приемлемого поверхностно-активного вещества снижает склонность белка к агрегации.

Составы по настоящему изобретению можно получать посредством процесса, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 и консерванта, выбранного из группы, состоящей из фенола, м-крезола, п-крезола, о-крезола, хлоркрезола, бензилового спирта, алкилпарабена, (метил, этил, пропил, бутил и т.п.), хлорида бензалкония, хлорида бензетония, дегидроацетата натрия и тимеросала или их смесей в водном разбавителе. Смешивание по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 и консерванта в водном разбавителе проводят с использованием общепринятых способов растворения и смешивания. Для получения пригодного состава, например, рассчитанное количество по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 в буферном растворе смешивают с требуемым консервантом в буферном растворе в количествах, достаточных для получения требуемой концентрации белка и консерванта. Варианты этого способа будут понятны среднему специалисту в данной области. Например, порядок добавления компонентов, использование дополнительных добавок, температура и pH, при которых получают состав, представляют собой факторы, которые можно оптимизировать для используемой концентрации и способа введения.

Заявленные составы могут быть предоставлены пациентам в виде прозрачных растворов или в виде двух флаконов, содержащих флакон по меньшей мере с одним лиофилизированным антителом против IL-23p19, которое разбавляют находящейся во втором флаконе водой, консервантом и/или эксципиентами, предпочтительно, фосфатным буфером и/или физиологическим раствором и выбранной солью, в водном разбавителе. Как флакон с единым раствором, так и два флакона, в случае которых требуется разбавление, можно повторно использовать несколько раз и их может быть достаточно для одного или нескольких курсов лечения пациента и таким образом, они могут обеспечить более удобную схему лечения, чем доступные в настоящее время средства.

Заявленные изделия по настоящему изобретению пригодны для введения в течение периода времени, находящегося в диапазоне от немедленного введения до двадцати четырех часов или более. Таким образом, заявленные изделия по настоящему изобретению обладают значительными преимуществами для пациента. Составы по этому изобретению необязательно могут безопасно храниться при температурах от приблизительно 2 до приблизительно 40°C и сохранять биологическую активность белка в течение длительных периодов времени что, таким образом, позволяет указывать на этикетке на упаковке, что раствор можно хранить и/или использовать в течение периода времени 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 или 96 ч или более. Если используют поддающийся хранению разбавитель, то такая этикетка может включать указание о применении в течение вплоть до 1-12 месяцев, полугодия, полутора и/или двух лет.

Растворы по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 по этому изобретению можно получать посредством процесса, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела с водным разбавителем. Смешивание проводят с использованием общепринятых способов растворения и смешивания. Для получения пригодного разбавителя, например, рассчитанное количество по меньшей мере одного антитела в воде или буфере смешивают в количествах, достаточных для получения белка и, необязательно, консерванта или буфера в требуемых концентрациях. Варианты этого способа будут понятны среднему специалисту в данной области. Например, порядок добавления компонентов, использование дополнительных добавок, температура и pH, при которых получают состав, представляют собой факторы, которые можно оптимизировать для используемой концентрации и способа введения.

Заявленные продукты могут быть предоставлены пациентам в виде прозрачных растворов или в виде двух флаконов, содержащих флакон по меньшей мере с одним лиофилизированным антителом против IL-23p19, которое разбавляют находящимся во втором флаконе водным разбавителем. Как флакон с единым раствором, так и два флакона, в случае которых требуется разбавление, можно повторно использовать несколько раз и их может быть достаточно для одного или нескольких курсов лечения пациента и таким образом, они могут обеспечить более удобную схему лечения, чем доступные в настоящее время схемы.

Заявленные продукты могут быть предоставлены не непосредственно пациентам, посредством снабжения аптек, клиник, или других таких институтов и учреждений прозрачными растворами или двумя флаконами, содержащими по меньшей мере одно лиофилизированное антитело против IL-23p19, которое разбавляют водным разбавителем, находящимся во втором флаконе. Объем прозрачного раствора в этом случае может составлять вплоть до 1 л или даже более, что предусматривает большой резерву-

ар, из которого меньшие порции по меньшей мере одного раствора антитела можно извлекать один или несколько раз для переноса в меньшие флаконы и распространять через аптеки или клиники среди их потребителей и/или пациентов.

Общепризнанные устройства, содержащие системы с одним флаконом, включают устройство для инъекций карандашного типа BD Pens, BD Autojector®, Humaject® NovoPen®, B-D®Pen, AutoPen® и OptiPen®, GenotropinPen®, Genotronorm Pen®, Humatro Pen®, Reco-Pen®, Roferon Pen®, Biojector®, Iject®, J-tip Needle-Free Injector®, Intraject®, Medi-Ject®, например, которые изготовлены и разработаны Becton Dickenson (Franklin Lakes, NJ, www.bectondickenson.com), Disetronic (Burgdorf, Switzerland, www.disetronic.com); Bioject, Portland, Oregon (www.bioject.com); National Medical Products, Weston Medical (Peterborough, UK, www.weston-medical.com), Medi-Ject Corp (Minneapolis, MN, www.mediject.com) и сходные пригодные устройства. Общепринятые устройства, содержащие систему с двумя флаконами, включают системы для инъекций карандашного типа для разбавления лиофилизированного лекарственного средства в резервуаре для доставки разбавленного раствора, такие как HumatroPen®. Примеры других пригодных устройств включают предварительно заполненные шприцы, автоматические устройства для инъекций, безыгольные устройства для инъекций и безыгольные устройства для внутривенных инфузий.

Продукты, заявленные в настоящем изобретении, включают упаковочный материал. Упаковочный материал предусматривает, в дополнение к информации, которую требуют контролирующие органы, условия, в которых продукт можно использовать. Упаковочный материал по настоящему изобретению предусматривает инструкции для пациента о том, что необходимо разбавить по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 в водном разбавителе с получением раствора и использовать раствор в течение периода времени 2-24 ч или более для двух флаконов с жидким/сухим продуктом. В случае одного флакона с продуктом в виде раствора, на этикетке указывают, что такой раствор можно использовать в течение периода времени 2-24 ч или выше. Заявленные в настоящем изобретении продукты пригодны для фармацевтического применения продукта у человека.

Составы по настоящему изобретению можно получать с помощью процесса, который включает смешивание по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 и выбранного буфера, предпочтительно, фосфатного буфера, содержащего физиологический раствор или выбранную соль. Смешивание по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 и буфера в водном разбавителе проводят с использованием общепринятых способов растворения и смешивания. Для получения пригодного состава, например, рассчитанное количество по меньшей мере одного антитела в воде или буфере объединяют с требуемым буферным веществом в воде в количествах, достаточных для получения белка и буфера в требуемых концентрациях. Варианты этого способа будут понятны среднему специалисту в данной области. Например, порядок добавления компонентов, использование дополнительных добавок, температура и pH, при которых получают состав, представляют собой факторы, которые можно оптимизировать для используемой концентрации и способа введения.

Заявленные стабильные или поддающиеся хранению составы могут быть предоставлены пациентам в виде прозрачных растворов или в виде двух флаконов, содержащих флакон по меньшей мере с одним лиофилизированным антителом против IL-23p19, которое разбавляют находящимся во втором флаконе консервантом или буфером и эксципиентами в водном разбавителе. Как флакон с единым раствором, так и два флакона, для которых требуется разбавление, можно повторно использовать несколько раз и их может быть достаточно для одного или нескольких курсов лечения пациента и таким образом, они могут обеспечить более удобную схему лечения, чем доступные в настоящее время схемы.

Другие составы или способы для стабилизации антитела против IL-23p19 могут приводить к средству, отличному от прозрачного раствора лиофилизированного порошка, содержащего антитело. Среди непрозрачных растворов находятся составы, содержащие суспензии твердых частиц, где указанные твердые частицы представляют собой композицию, содержащую антитело против IL-23p19, в виде структуры с непостоянными размерами и широко известной как микросфера, микрочастица, наночастица или липосома. Такие относительно гомогенные по существу сферические составы в виде твердых частиц, содержащие активное вещество, можно получать контактированием водной фазы, содержащей активное вещество, и полимера и неводной фазы с последующим выпариванием неводной фазы для обеспечения коалесценции частиц из водной фазы, как указано в US 4589330. Пористые микрочастицы можно получать с использованием первой фазы, содержащей активное вещество, и полимера, диспергированного в однородном растворителе, и с удалением указанного растворителя из суспензии посредством лиофилизации или разбавления-экстракции-осаждения, как указано в US 4818542. Предпочтительные полимеры для такого осаждения представляют собой синтетические сополимеры или полимеры, выбранные из группы, состоящей из желатинового агара, крахмала, арабиногалактана, альбумина, коллагена, полигликолевой кислоты, полимолочной кислоты, гликолид-L-лактида полиэпсилон-капролактона, сополимера эпсилон-капролактона и молочной кислоты, сополимера эпсилон-капролактона и гликолевой кислоты, поли-β-гидроксимасляной кислоты, оксида полиэтилена, полиэтилена, полиалкил-2-цианоакрилата, полигидроксипропилакрилата, полиамидов, полиаминокислот, поли-2-гадроксиэтил-DL-аспартамида, полимера

сложного эфира мочевины, поли-L-фенилаланин/этиленгликоль/1,6-диизоцианатгексана и полиметилметакрилата. Особенно предпочтительными полимерами являются полимеры сложных эфиров, такие как полигликолевая кислота, полимолочная кислота, гликолид-L-лактид полиэпсилон-капролактона, сополимер эпсилон-капролактона и молочной кислоты, и сополимер эпсилон-капролактона и гликолевой кислоты. Растворители, пригодные для растворения полимера и/или активного вещества, включают: воду, гексафторизопропанол, метилхлорид, тетрагидрофуран, гексан, бензол или сесквигидрат гексафтороацетона. Процесс диспергирования, содержащий активное вещество фазы со второй фазы, может включать пропускание под давлением указанной первой фазы через отверстие в насадке для достижения образования капель.

Составы сухих порошков можно получать в результате процесса, отличного от лиофилизации, такого как высушивание распылением или экстракция растворителя посредством выпаривания или посредством осаждения кристаллической композиции с последующей одной или несколькими стадиями удаления водного или неводного растворителя. Получение высушенного распылением антигена описано в US 6019968. Композиции сухих порошков на основе антигена можно получать с помощью высушивания распылением растворов и суспензий антигена и, необязательно, эксципиентов, в растворителе в условиях, позволяющих получить пригодный для вдыхания сухой порошок. Растворители могут включать полярные соединения, такие как вода и этанол, которые можно быстро высушить. Стабильность антигенов можно повышать посредством проведения процессов высушивания распылением в отсутствие кислорода, таких как, например, высушивание слоем азота, или применением азота в качестве газа для высушивания. Другой относительно сухой состав представляет собой дисперсию множества перфорированных микроструктур, диспергированных в среде, которая, как правило, содержит пропеллент на основе гидрофторалкана, как описано в WO 9916419. Стабилизированные дисперсии можно вводить в легкое пациента с использованием ингалятора с измеряемой дозой. Оборудование, пригодное для коммерческого изготовления высушенных распылением лекарственных средств изготавливают в Buchi Ltd. or Niro Corp.

По меньшей мере одно антигено против IL-23p19 либо в стабильных составах или в составах, поддающихся хранению, либо в растворах, описанных в настоящем описании, можно вводить пациенту в соответствии с настоящим изобретением посредством множества способов доставки, включая инъекцию SC или IM; трансдермальный, легочный способ, способ доставки через слизистую оболочку, способ посредством имплантата, осмотического дозатора, кассеты, микродозатора или других способов, понятных специалисту в данной области, как хорошо известно в данной области.

Терапевтическое применение

Также настоящее изобретение относится к способу модулирования или лечения по меньшей мере одного связанного с IL-23 заболевания в клетке, ткани, органе, у животного или у пациента, как известно в данной области или как описано в настоящем описании, с использованием по меньшей мере одного антигена против IL-23p19 по настоящему изобретению, например, посредством введения или контактирования клетки, ткани, органа, животного или пациента с терапевтически эффективным количеством антигена против IL-23p19. Также настоящее изобретение относится к способу модулирования или лечения по меньшей мере одного связанного с IL-23 заболевания в клетке, ткани, органе, у животного или пациента, включая, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере одно заболевание из ожирения, опосредуемого иммунной системой заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, инфекционного заболевания, злокачественного заболевания или неврологического заболевания.

Также настоящее изобретение относится к способу модулирования или лечения по меньшей мере одного связанного с IL-23 опосредуемого иммунной системой заболевания в клетке, ткани, органе, у животного или у пациента, включая, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере одно заболевание из ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита с генерализованным началом, псориазического артрита, акилозирующего спондилита, язвы желудка, серонегативных артропатий, остеоартрита, остеолизиса, асептического ослабления ортопедических имплантатов, воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, системной красной волчанки, антифосфолипидного синдрома, иридоциклита/увеита/оптического неврита, идиопатического фиброза легких, системного васкулита/гранулематоза Вегенера, саркоидоза, орхита/обратных процессов при вазэктомии, аллергических/атопических заболеваний, астмы, аллергического ринита, экземы, аллергического контактного дерматита, аллергического конъюнктивита, пневмонита вследствие гиперчувствительности, трансплантатов, отторжения трансплантированного органа, реакции "трансплантат против хозяина", синдрома системного воспалительного ответа, септического синдрома, вызванного грамположительными бактериями, сепсиса, вызванного грамотрицательными бактериями, негативного в отношении культуры сепсиса, вызванного грибами сепсиса, нейтропенической лихорадки, уросепсиса, менингококкемии, травмы/геморрагии, ожогов, воздействия ионизирующей радиации, острого панкреатита, взрослого респираторного дистресс-синдрома, ревматоидного артрита, вызванного алкоголем гепатита, хронических воспалительных патологий, саркоидоза, болезни Крона, серповидно-клеточной анемии, диабета, нефроза, атопических заболеваний, реакций гиперчувствительности, аллергического ринита, сенной лихорадки, хронического ринита, конъюнктивита, эндометриоза, астмы, крапивницы, системной анафилаксии, дерматита, пернициозной анемии, гемолитического заболевания, тромбоцитопении, отторжения трансплан-

тата любого органа или ткани, отторжения трансплантата почки, отторжения трансплантата сердца, отторжения трансплантата печени, отторжения трансплантата поджелудочной железы, отторжения трансплантата легких, отторжения трансплантата костного мозга (ВМТ), отторжения аллотрансплантата кожи, отторжения трансплантата хряща, отторжения трансплантата кости, отторжения трансплантата тонкого кишечника, отторжения имплантата эмбрионального тимуса, отторжения трансплантата паразитовидной железы, отторжения ксенотрансплантата любого органа или ткани, отторжения аллотрансплантата, реакций гиперчувствительности против рецептора, болезни Грэйва, болезни Рейно, устойчивого к инсулину диабета типа В, астмы, миастении, опосредуемой антителами цитотоксичности, реакций гиперчувствительности III типа, синдрома POEMS (полиневропатия, органомегалия, эндокринопатия, моноклональная гаммопатия и синдром изменений кожи), полиневропатии, органомегалии, эндокринопатии, моноклональной гаммопатии, синдрома изменений кожи, антифосфолипидного синдрома, пемфигуса, склеродермии, смешанного заболевания соединительной ткани, идиопатической болезни Аддисона, диабета, хронического активного гепатита, первичного билиарного цирроза, витилиго, васкулита, синдрома пост-Мі кардиомиопии, гиперчувствительности IV типа, контактного дерматита, пневмонита вследствие гиперчувствительности, отторжения аллотрансплантата, гранулем вследствие внутриклеточных организмов, чувствительности к лекарственному средству, метаболической/идиопатической болезни Вильсона, гемахроматоза, дефицита альфа-1-антитрипсина, диабетической ретинопатии, тиреоидита Хашимото, остеопороза, обследования гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, первичного билиарного цирроза, тиреоидита, энцефаломиелита, кахексии, кистозного фиброза, хронического заболевания легких новорожденных, хронического обструктивного заболевания легких (COPD), семейного гематофагоцитарного лимфогистоцитоза, дерматологических состояний, псориаза, алопеции, нефротического синдрома, нефрита, гломерулярного нефрита, острой почечной недостаточности, гемодиализа, уремии, токсичности, преэклампсии, терапии окт3, терапии против cd3, цитокиновой терапии, химиотерапии, лучевой терапии (например, включая, но не ограничиваясь ими, астению, анемию, кахексию и т.п.), хронической интоксикации салицилатами и т.п. См., например, Merck Manual, 12th-17th Editions, Merck & Company, Rahway, NJ (1972, 1977, 1982, 1987, 1992, 1999), Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., eds., Second Edition, Appleton и Lange, Stamford, Conn. (1998, 2000), все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Также настоящее изобретение относится к способу модулирования или лечения по меньшей мере одного сердечнососудистого заболевания в клетке, ткани, органе, у животного или у пациента, включая, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере одно заболевание из синдрома "оглушения" сердца, инфаркта миокарда, застойной сердечной недостаточности, инсульта, ишемического инсульта, кровоизлияния, острого коронарного синдрома, артериосклероза, атеросклероза, рестеноза, диабетического атеросклеротического заболевания, гипертензии, артериальной гипертензии, вазоренальной гипертензии, обморока, шока, сифилиса сердечно-сосудистой системы, сердечной недостаточности, легочного сердца, первичной легочной гипертензии, аритмий сердца, эктопической экстрасистолии предсердий, трепетания предсердий, фибрилляции предсердий (постоянной или пароксизмальной), постперфузионного синдрома, воспалительного ответа на сердечно-легочный шунт, беспорядочной или многоочаговой тахикардии предсердий, регулярной тахикардии с узким QRS, определенных видов аритмий, фибрилляции желудочков, аритмий пучка Гиса, атриовентрикулярной блокады, блокады ножки пучка, ишемических нарушений миокарда, болезни коронарных артерий, стенокардии, инфаркта миокарда, кардиомиопатии, застойной кардиомиопатии с дилатацией, кардиомиопатии с сужением, заболеваний клапанов сердца, эндокардита, заболевания перикарда, опухолей сердца, аневризмы аорты и периферических аневризм, расслоения аорты, воспаления аорты, окклюзии брюшного отдела аорты и ее ветвей, нарушений периферических сосудов, окклюзионных нарушений артерий, периферического атеросклеротического заболевания, облитерирующего тромбангиита, функциональных нарушений периферических сосудов, феномена и болезни Рейно, акроцианоза, эритромелалгии, заболеваний вен, тромбоза вен, варикозного расширения вен, артериовенозного свища, лимфодермы, жирового отека, нестабильной стенокардии, реперфузионного повреждения, постперфузионного синдрома, повреждения вследствие ишемии-реперфузии и т.п. Такой способ необязательно может включать введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело против IL-23p19, в клетку, ткань, орган, животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, воздействии или терапии.

Также настоящее изобретение относится к способу модулирования или лечения по меньшей мере одного связанного с IL-23 инфекционного заболевания в клетке, ткани, органе, у животного или пациента, включая, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере одно заболевание из: острой или хронической бактериальной инфекции, острого и хронического паразитарного или инфекционного процессов, включая бактериальные, вирусные и грибковые инфекции, ВИЧ инфекцию/ВИЧ невропатию, менингит, гепатит (например, А, В или С или сходные с ними), септический артрит, перитонит, пневмонию, эпиглоттит, *e. coli* 0157:h7, гемолитический уремический синдром/тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру, малярию, геморрагическую лихорадку денге, лейшманиоз, лепру, синдром токсического шока, стрептококковый миозит, газовую гангрену, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium intracellulare*, пневмонию *Pneumocystis carinii*, воспалительное заболевание таза, орхит/эпидермит, легионеллу,

болезнь Лайма, грипп, вирус Эпштейна-Барр, ассоциированный с вирусом гемофагоцитарный синдром, вирусный энцефалит/асептический менингит и т.п.

Также настоящее изобретение относится к способу модулирования или лечения по меньшей мере одного связанного с IL-23 злокачественного заболевания в клетке, ткани, органе, у животного или у пациента, включая, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере одно заболевание из: лейкоза, острого лейкоза, острого лимфобластного лейкоза (ALL), острого лимфоцитарного лейкоза, В-клеточного, Т-клеточного или FAB ALL, острого миелоидного лейкоза (AML), острого миелогенного лейкоза, хронического миелоцитарного лейкоза (CML), хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), волосатоклеточного лейкоза, миелодиспластического синдрома (MDS), лимфомы, болезни Ходжкина, злокачественной лимфомы, неходжкинской лимфомы, лимфомы Беркитта, множественной миеломы, саркомы Капоши, колоректальной карциномы, панкреатической карциномы, назофарингеальной карциномы, злокачественного гистоцитоза, паранеопластического синдрома/гиперкальциемии при злокачественной опухоли, солидных опухолей, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака ободочной и прямой кишки, рака эндометрия, рака головы, рака шеи, наследственного непוליозного рака, лимфомы Ходжкина, рака печени, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, рака яичника, аденокарцином, сарком, злокачественной меланомы, гемангиомы, метастатизирующего заболевания, обусловленной злокачественной опухолью резорбции костей, обусловленной злокачественной опухолью болью в костях и т.п.

Также настоящее изобретение относится к способу модулирования или лечения по меньшей мере одного связанного с IL-23 неврологического заболевания в клетке, ткани, органе, у животного или пациента, включая, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере одно заболевание из: нейродегенеративного заболевания, рассеянного склероза, мигренозной боли, СПИД-дементного комплекса, демиелинизирующего заболевания, такого как рассеянный склероз и острый поперечный миелит; экстрапирамидных и мозжечковых нарушений, таких как очаги повреждения в кортикоспинальной системе; нарушений базальных ганглиев; нарушений с гиперкинетическими движениями, таких как хорья Гентингтона и сенильная хорья; индуцированных лекарственными средствами двигательных нарушений, таких как нарушения, индуцированные лекарственными средствами, которые блокируют рецепторы для дофамина в ЦНС; гипокинетических двигательных нарушений, таких как болезнь Паркинсона; прогрессирующего супрануклеарного паралича; структурных очагов повреждения в мозжечке; спинозжечковых дегенерации, таких как спинальная атаксия, атаксия Фридрейха, церебеллярные кортикальные дегенерации, множественные системные дегенерации (Менцеля, Дежерина-Томаса, Шай-Дрэгера и Мачадо-Джозефа); системных нарушений (болезнь Рефсума, абеталипопротемиа, атаксия, телеангиэктозия, митохондриальное мультисистемное нарушение); центральных демиелинизирующих нарушений, таких как рассеянный склероз, острый поперечный миелит; и нарушений мотонейрона, таких как неврогенные мышечные атрофии (клеточная дегенерация переднего рога, такая как боковой амиотрофический склероз, детская спинальная мышечная атрофия и ювенильная спинальная мышечная атрофия); болезни Альцгеймера; синдрома Дауна в среднем возрасте; диффузного заболевания с тельцами Леви; сенильной деменции по типу деменции с тельцами Леви; синдрома Вернике-Корсакова; хронического алкоголизма; болезни Крейтцфельда-Якоба; подострого склерозирующего панэнцефалита, болезни Галлервордена-Шпатца; деменции боксеров; нейротравматического повреждения (например, повреждения спинного мозга, повреждения головного мозга, сотрясения мозга, повторного сотрясения мозга); боли; воспалительной боли; аутизма; депрессии; инсульта; когнитивных нарушений; эпилепсии и т.п. Такой способ необязательно может включать введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело против TNF или определенный участок или вариант в клетку, ткань, орган, животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, воздействии или терапии. См., например, Merck Manual, 16th Edition, Merck & Company, Rahway, NJ (1992).

Настоящее изобретение также относится к способу модулирования или лечения по меньшей мере одной связанной с IL-23 раны, травмы или повреждения ткани или сходного хронического состояния, в клетке, ткани, органе, у животного или пациента, включая, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере одно из: телесного повреждения или травмы, ассоциированной с хирургической операцией в полости рта, в том числе с периодонтальной хирургической операцией, удалением(ями) зуба, эндодонтическим лечением, вставкой зубных имплантатов, наложением и применением зубных протезов; или где рана выбрана из группы, состоящей из асептических ран, ушибленных ран, резаных ран, рваных ран, непроникающих ран, открытых ран, проникающих ран, сквозных ран, колющих ран, септических ран, инфекций и подкожных ран; или где рана выбрана из группы, состоящей из ишемических язв, пролежней, свищей, тяжелых укусов, термических ожогов и ран в области донорского лоскута; или где рана представляет собой афтозную рану, травматическую рану или ассоциированную с герпесом рану.

Раны и/или язвы в норме находятся в качестве выступов на коже или на слизистой поверхности или в результате инфаркта в органе ("инсульта"). Рана может быть результатом дефекта мягких тканей или очага повреждения или основного состояния. В контексте настоящего изобретения, термин "кожа" относится к самой внешней поверхности тела животного, в том числе человека, и охватывает неповрежденную или почти неповрежденную кожу, а также поврежденную поверхность кожи. Термин "слизистая

оболочка" относится неповрежденной или поврежденной слизистой оболочке животного, такого как человек, и может представлять собой слизистую оболочку полости рта, щеки, уха, носа, легкого, глаза, желудочно-кишечного тракта, влагалища или прямой кишки.

В контексте настоящего изобретения термин "рана" означает телесное повреждение с разрушением нормальной целостности тканевых структур. Также подразумевают, что термин включает термины "очаг воспаления", "очаг повреждения", "некроз" и "язва". В норме, термин "очаг воспаления" является общим термином почти для любого очага повреждения кожи или слизистых оболочек и термин "язва" представляет собой локальный дефект поверхности органа или ткани или углубление, которое возникает вследствие отторжения некротической ткани. Очаг повреждения, как правило, относится к любому дефекту ткани. Некроз относится к гибели ткани вследствие инфекции, повреждения, воспаления или инфарктов.

Термин "рана", используемый в контексте настоящего изобретения, означает любую рану (см. ниже классификацию ран) и находящуюся на любой конкретной стадии процесса заживления, в том числе на стадии до начала какого-либо заживления или даже до получения определенного ранения, такого как хирургический разрез (профилактическое лечение). Примеры ран, которые можно предотвращать и/или лечить в соответствии с настоящим изобретением, например, представляют собой асептические раны, ушибленные раны, резаные раны, рваные раны, непроникающие раны (т.е. раны, в которых нет разрушения кожи, однако есть повреждение лежащих ниже структур), открытые раны, проникающие раны, сквозные раны, колющие раны, септические раны, подкожные раны и т.д. Примерами очагов воспаления являются пролежни, афтозный стоматит, изъязвление, герпетическая лихорадка, травматический дифтерит и т.д. Примерами язв являются, например, пептическая язва, дуоденальная язва, язва желудка, язва при подагре, диабетическая язва, гипертоническая ишемическая язва, варикозная язва, трофическая язва (венозная язва), подъязычная язва, язва подслизистой оболочки, симптоматическая язва, трофическая язва, тропическая язва и венерическая язва, например, вызванная гонореей (включая уретрит, эндоцервицит и проктит). Состояния, связанные с ранами или очагами воспаления, которые можно успешно лечить в соответствии с этим изобретением представляют собой ожоги, сибирскую язву, столбняк, газовую гангрену, скарлатину, рожу, сикоз, фолликулит, контагиозное импетиго или буллезное импетиго и т.д. Часто существует определенное совпадение в применении терминов "рана" и "язва", и "рана" и "очаг воспаления" и, более того, термины часто используют случайным образом. Таким образом, как упоминалось выше, в контексте настоящего изобретения термин "рана" включает термины "язва", "очаг повреждения", "очаг воспаления" и "инфаркт", и термины используют без проведения различий, если нет иных указаний.

Типы ран, подлежащие лечению в соответствии с этим изобретением, также включают (i) неспецифические раны, такие как, например, хирургические, травматические, инфекционные, ишемические, термические, химические и буллезные раны; (ii) раны, специфичные для полости рта, такие как, например, постэкстракционные раны, эндодонтические раны, особенно связанные с лечением кист и абсцессов, язв и очагов повреждения бактериального, вирусного или аутоиммунного происхождения, механических, химических, термических, инфекционных и лихеноидных ран; конкретные примеры представляют собой герпетические язвы, афтозный стоматит, острый некротический язвенный гингивит и синдром жжения в полости рта; и (iii) раны кожи, такие как, например, неоплазия, ожоги (например химические, термические), очаги повреждения (бактериальный, вирусный, аутоиммунный), укусы и хирургические разрезы. Другим способом классификации является (i) небольшая потеря тканей вследствие хирургических разрезов, небольшие эрозии и небольшие укусы или (ii) значительная потеря тканей. Последняя группа включает ишемические язвы, пролежни, свищ, рваные раны, тяжелые укусы, термические ожоги и раны области донорского лоскута (в мягких и твердых тканях) и инфаркты.

Другие раны, которые представляют интерес с точки зрения настоящего изобретения, представляют собой раны, такие как ишемические язвы, пролежни, свищи, тяжелые укусы, термические ожоги и раны области донорского лоскута. Ишемические язвы и пролежни представляют собой раны, которые даже в норме заживают очень медленно, и в таких случаях, особенно, усовершенствованный и более быстрый процесс заживления, безусловно, имеет большое значение для пациента. Более того, затраты, связанные с лечением пациентов, страдающих от таких ран, значительно снижаются, если процесс заживления является усиленным и происходит более быстро.

Раны области донорского лоскута представляют собой раны, которые, например, возникают в связи с перемещением твердой ткани из одной части организма в другую часть организма, например, в связи с трансплантацией. Раны, возникающие вследствие таких операций, являются очень болезненными и усиленное заживление, таким образом, является наиболее ценным. Термин "кожа" используют в наиболее широком смысле, охватывающем эпидермальный слой кожи и - в случаях, когда поверхность кожи является более или менее поврежденной, - также дермальный слой кожи. Помимо рогового слоя, эпидермальный слой кожи представляет собой наружный (эпителиальный слой), а более глубокий слой соединительной ткани кожи называют дермой.

Также настоящее изобретение относится к способу модулирования или лечения псориаза, псориатического артрита, болезни Крона, рассеянного склероза и оптического неврита, среди прочих заболеваний, представленных выше в качестве связанных с IL-23 заболеваний, в клетке, ткани, органе, у живот-

ного или пациента, включая, но не ограничиваясь ими, по меньшей мере одно из опосредуемого иммунной системой заболевания, сердечно-сосудистого заболевания, инфекций, злокачественного и/или неврологического заболевания. Такой способ необязательно может включать введение эффективного количества по меньшей мере одной композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 в клетку, ткань, орган, животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, воздействии или терапии.

Любой способ по настоящему изобретению может включать введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 в клетку, ткань, орган, животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, воздействии или терапии. Такой способ необязательно может дополнительно включать совместное введение или комбинированную терапию для лечения такого заболевания или нарушения, где введение указанного по меньшей мере одного антитела против IL-23p19, его определенного участка или варианта, кроме того, включает введение до, одновременно и/или после по меньшей мере одного средства, выбранного из по меньшей мере одного антагониста TNF (например, но не ограничиваясь ими, химического или белкового антагониста TNF, моноклонального или поликлонального антитела против TNF или фрагмента, растворимого рецептора для TNF (например, p55, p70 или p85) или фрагмента, его слитых полипептидов или низкомолекулярного антагониста TNF, например, связывающего TNF белка I или II (TBP-I или TBP-II), нерелимонмаба, инфликсимаба, этанерцепта (Enbrel™), адалимулаба (Humira™), CDP-571, CDP-870, афелимомаба, ленерцепта и т.п.), противоревматического средства (например, метотрексата, ауранофина, аурутиоглюкоза, азатиоприна, золота натрия тиомалата, гидроксихлороквина сульфата, лефлуномида, сульфасалзина), мышечного релаксанта, наркотического средства, нестероидного противовоспалительного лекарственного средства (NSAID), обезболивающего средства, анестетика, седативного средства, местного анестетика, нервно-мышечного блокатора, противомикробного средства (например, аминогликозида, противогрибкового средства, противопаразитарного средства, противовирусного средства, карбапенема, цефалоспорина, фторхинолона, макролида, пенициллина, сульфонида, тетрациклина, другого противомикробного средства), противосориазного средства, кортикостероида, анаболического стероида, средства против диабета, минерального средства, питательного средства, средства для щитовидной железы, витамина, связанного с кальцием гормона, средства против диареи, средства против кашля, противорвотного средства, средства против язвы, слабительного средства, антикоагулянта, эритропоэтина (например, эпоэтина альфа), филграстима (например, G-CSF, Neupogen), сарграмостима (GM-CSF, Leukine), средства для иммунизации, иммуноглобулина, иммунодепрессанта (например, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба), гормона роста, заместительного гормонального лекарственного средства, модулятора рецепторов эстрогена, мидриатика, средства против циклоплегии, алкилирующего средства, антиметаболита, ингибитора митоза, радиофармацевтического средства, антидепрессанта, средства против мании, антипсихотического средства, анксиолитического средства, гипнотического средства, симпатомиметика, стимулирующего средства, донепезила, такрина, лекарственного средства против астмы, бета-агониста, стероида для ингаляции, ингибитора лейкотриена, метилксантина, кромоллина, адреналина или аналога, дорназы альфа (пульмозима), цитокина или антагониста цитокина. Пригодные дозы хорошо известны в данной области. См., например, Wells et al., eds., *Pharmacotherapy Handbook*, 2nd Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT (2000); *PDR Pharmacopoeia*, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, Deluxe Edition, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000); *Nursing 2001 Handbook of Drugs*, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; *Health Professional's Drug Guide 2001*, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, NJ, все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Антагонисты TNF, пригодные для композиций, комбинированной терапии, совместного введения, устройств и/или способов по настоящему изобретению (кроме того, содержащих по меньшей мере одно антитело, его определенный участок и вариант по настоящему изобретению) включают, но не ограничиваются ими, антитела против TNF (например, по меньшей мере один антагонист TNF, как определено выше), их антигенсвязывающие фрагменты, и молекулы рецепторов, которые специфично связываются с TNF; соединения, которые предотвращают и/или ингибируют синтез TNF, его высвобождение TNF или его действие на клетки-мишени, такие как талидомид, тенидап, ингибиторы фосфодиэстеразы (например, пентоксифиллин и ролипрам), агонисты рецепторов для аденозина A2b и усиливающие рецептор для аденозина A2b средства; соединения, которые предотвращают и/или ингибируют передачу сигнала рецептора для TNF, такие как ингибиторы киназы активируемого митогеном белка (MAP); соединения, которые блокируют и/или ингибируют расщепление мембранного TNF, такие как ингибиторы металлопротеиназы; соединения, которые блокируют и/или ингибируют активность TNF, такие как ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ACE) (например, каптоприл); и соединения, которые блокируют и/или ингибируют продукцию и/или синтез TNF, такие как ингибиторы MAP-киназы.

Как используют в настоящем описании, "антитело против фактора некроза опухоли", "антитело против TNF", "антитело против TNF α " или фрагмент и т.п. снижает, блокирует, ингибирует, устраняет активность TNF α , или препятствует ей, *in vitro*, *in situ* и/или, предпочтительно, *in vivo*. Например, при-

годное антитело против TNF человека по настоящему изобретению может связывать TNF α и включает антитела против TNF, их антигенсвязывающие фрагменты и их определенные мутантные формы или домены, которые специфично связываются с TNF α . Пригодное антитело против TNF или фрагмент также может снижать, блокировать, устранять, препятствовать, предотвращать и/или ингибировать синтез РНК, ДНК или белка TNF, высвобождение TNF, передачу сигнала рецептора TNF, расщепление мембранного TNF, активность TNF, продукцию и/или синтез TNF.

Примером антитела против TNF или антагониста TNF является химерное антитело сA2. Дополнительные примеры моноклональных антител против TNF, которые можно использовать в соответствии с настоящим изобретением, описаны в данной области (см., например, патент США № 5231024; Moller, A. et al., *Cytokine* 2(3):162-169 (1990); заявку США № 07/943852 (поданную 11 сентября 1992 г.); Rathjen et al., международная заявка № WO 91/02078 (опубликованная 21 февраля 1991 г.); Rubin et al., патентная заявка ЕРО № 0218868 (опубликованная 22 апреля 1987 г.); Yone et al., патентная заявка ЕРО № 0288088 (26 октября 1988 г.); Liang, et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 737:847-854 (1986); Meager, et al., *Hybridoma* 5:305-311 (1987); Fendly et al., *Hybridoma* 6:359-369 (1987); Bringman, et al., *Hybridoma* 5:489-507 (1987); и Hirai, et al., *J. Immunol. Meth.* 96:57-62 (1987).

Молекулы рецептора для TNF

Предпочтительные молекулы рецептора для TNF, пригодные в соответствии с настоящим изобретением, представляют собой молекулы, которые связывают TNF α с высокой аффинностью (см., например, Feldmann et al., международную заявку № WO 92/07076 (опубликованную 30 апреля 1992 г.); Schall et al., *Cell* 61:361-370 (1990); и Loetscher et al., *Cell* 57:351-359 (1990), все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме) и необязательно обладают низкой иммуногенностью. В частности, в соответствии с настоящим изобретением пригодными являются рецепторы клеточной поверхности для TNF массой 55 кДа (p55 TNF-R) и 75 кДа (p75 TNF-R). Укороченные формы этих рецепторов, содержащие внеклеточные домены (ECD) рецепторов или их функциональные части (см., например, Corcoran et al., *Eur. J. Biochem.* 223:831-840 (1994)), также являются пригодными в соответствии с настоящим изобретением. Укороченные формы рецепторов для TNF, содержащие ECD, выявлены в моче и сыворотке в качестве ингибиторных связывающих TNF α белков массой 30 и 40 кДа (Engelmann, H. et al., *J. Biol. Chem.* 255:1531-1536 (1990)). Мультимерные молекулы рецептора для TNF и слитые молекулы иммунорецептора для TNF, и производные и их фрагменты или участки, являются дополнительными примерами молекул рецептора для TNF, которые пригодны в способах и композициях по настоящему изобретению.

Мультимерные молекулы рецептора для TNF, пригодные в соответствии с настоящим изобретением, содержат целый ECD или функциональную часть ECD двух или более рецепторов для TNF, связанных с помощью одного или нескольких полипептидных линкеров или других непептидных линкеров, таких как полиэтиленгликоль (PEG). Примерами такой слитой молекулы иммунорецептора для TNF является слитый белок рецептор для TNF/IgG. Слитые молекулы иммунорецептора для TNF и способы их продукции описаны в данной области (Lesslauer et al., *Eur. J. Immunol.* 27:2883-2886 (1991); Ashkenazi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10535-10539 (1991); Peppel et al., *J. Exp. Med.* 174:1483-1489 (1991); Rolls et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:215-219 (1994); Butler et al., *Cytokine* 6(6):616-623 (1994); Baker et al., *Eur. J. Immunol.* 24:2040-2048 (1994); Beutler et al., патент США № 5447851; и заявка США № 08/442133 (поданная 16 мая 1995 г.), все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме). Способы получения слитых молекул иммунорецептора также можно найти в Caron et al., патент США № 5116964; Caron et al., патент США № 5225538; и Caron et al., *Nature* 337:525-531 (1989), все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

Цитокины включают любые известные цитокины. См., например, CopewithCytokines.com. Антагонисты цитокинов включают, но не ограничиваются ими, любое антитело, фрагмент или миметик, любой растворимый рецептор, фрагмент или миметик, любой низкомолекулярный антагонист или любое их сочетание.

Терапевтические способы лечения

Любой способ по настоящему изобретению может включать лечение опосредуемого IL-23 нарушения, включающее введение эффективного количества композиции или фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 в клетку, ткань, орган, животному или пациенту, нуждающемуся в таком модулировании, воздействии или терапии. Такой способ необязательно может дополнительно включать совместное введение или комбинированную терапию для лечения таких заболеваний или нарушений, где введение указанного по меньшей мере одного антитела против IL-23p19, его определенного участка или варианта, кроме того, включает введение до, одновременно и/или после по меньшей мере одного средства, выбранного из противомикробного лекарственного средства, лекарственного средства для сердечно-сосудистой (CV) системы, лекарственного средства для центральной нервной системы (ЦНС), лекарственного средства для автономной нервной системы (АНС), лекарственного средства для дыхательных путей, лекарственного средства для желудочно-кишечного (GI) тракта, гормонального лекарственного средства, лекарственного средства для жидкостного или

электролитного баланса, гематологического лекарственного средства, противоопухолевого средства, иммуномодулирующего лекарственного средства, лекарственного средства для глаз, ушей и носа, лекарственного средства для местного применения, диетологического лекарственного средства или сходных с ними, по меньшей мере одного антагониста TNF (например, но не ограничиваясь ими, антитела или фрагмента против TNF, растворимого рецептора или фрагмента для TNF, их слитых белков или низкомолекулярного антагониста TNF), противоревматического средства (например, метотрексата, ауранофина, ауротиоглюкозы, азатиоприна, этанерцепта, золота натрия тиомалата, гидроксихлороквина сульфата, лефлуномида, сульфасалзина), мышечного релаксанта, наркотического, нестероидного противовоспалительного лекарственного средства (NSAID), обезболивающего средства, анестетика, седативного средства, местного анестетика, нервно-мышечного блокатора, противомикробного средства (например, аминогликозида, противогрибкового средства, противопаразитарного средства, противовирусного средства, карбапенема, цефалоспорина, фторхинолона, макролида, пенициллина, сульфонида, тетрациклина, другого противомикробного средства), противосориазного средства, кортикостероида, анаболического стероида, относящегося к лечению диабета средства, минерального средства, питательного средства, средства для щитовидной железы, витамина, связанного с кальцием гормона, средства против диареи, средства против кашля, средства против рвоты, средства против язвы, слабительного средства, антикоагулянта, эритропоэтина (например, эпоэтина альфа), филграстима (например, G-CSF, Neupogen), сарграмостима (GM-CSF, Leukine), средства для иммунизации, иммуноглобулина, иммунодепрессанта (например, базиликсимаба, циклоспорина, даклизумаба), гормона роста, заместительного гормонального лекарственного средства, модулятора рецепторов эстрогена, мидриатика, средства против циклопегии, алкилирующего средства, антимаболита, ингибитора митоза, радиофармацевтического средства, антидепрессанта, средства против мании, антипсихотического средства, анксиолитического средства, гипнотического средства, симпатомиметика, стимулирующего средства, донепезила, такрина, лекарственных средств против астмы, бета-агониста, стероида для ингаляции, ингибитора лейкотриена, метилксантина, кромолина, адреналина или аналога, дорназы альфа (пульмозима), цитокина или антагониста цитокина. Такие лекарственные средства хорошо известны в данной области, включая составы, показания, дозирование и введение для каждого из представленных в настоящем описании (см., например, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21st edition, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; Pharmacotherapy Handbook, Wells et al., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT, все из которых включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме).

Как правило, лечение патологических состояний проводят посредством введения эффективного количества или дозы по меньшей мере одной композиции антитела против IL-23p19, общее количество которого, в среднем, находится в диапазоне по меньшей мере приблизительно от 0,01 до 500 мг по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 на килограмм пациента на дозу и предпочтительно по меньшей мере приблизительно от 0,1 до 100 мг антитела/килограмм пациента для однократного или многократного введения в зависимости от специфичной активности активного вещества, содержащегося в композиции. Альтернативно эффективная сывороточная концентрация может включать концентрацию 0,1-5000 мкг/мл сыворотки для однократного или многократного введения. Пригодные дозы известны врачам и, безусловно, зависят от конкретной стадии заболевания, конкретной активности композиции, подлежащей введению, и конкретного пациента, подвергающегося лечению. В некоторых случаях для достижения требуемого терапевтического количества может быть необходимым проведение повторного введения, т.е. повторных отдельных введений конкретной контролируемой или измеренной дозы, где отдельные введения повторяют до достижения требуемой суточной дозы или эффекта.

Предпочтительные дозы могут необязательно включать приблизительно 0,1-99 и/или 100-500 мг/кг/введение, или любой диапазон, значение или часть этого диапазона, или количество для достижения концентрации в сыворотке приблизительно 0,1-5000 мкг/мл на однократное введение или многократные введения, или любой диапазон, значение или часть этого диапазона. Предпочтительный диапазон дозировки антитела против IL-23p19 по настоящему изобретению составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 3, приблизительно 6 или приблизительно 12 мг/кг массы тела пациента.

Альтернативно вводимые дозы могут варьировать, в зависимости от известных факторов, таких как фармакодинамические свойства конкретного средства, и способ и путь его введения; возраст, состояние здоровья и масса реципиента; природа и степень выраженности симптомов, тип сопутствующего лечения, частота введения, и требуемый эффект. Как правило, доза активного ингредиента может составлять приблизительно от 0,1 до 100 мг на 1 кг массы тела. Как правило, доза от 0,1 до 50 и предпочтительно от 0,1 до 10 мг на 1 кг на одно введение или форму с замедленным высвобождением является эффективной для получения требуемых результатов.

В качестве неограничивающего примера, лечение человека или животных можно проводить в виде однократного или периодического дозирования по меньшей мере одного антитела по настоящему изобретению приблизительно от 0,1 до 100 мг/кг, или любой диапазон, значение или часть этого диапазона, в сутки, в течение по меньшей мере одного периода из 1-40 суток, или, альтернативно или дополнительно, по меньшей мере одного периода из 1-52 недель, или, альтернативно или дополнительно, по меньшей

тавку веществами, такими как диметилсульфоксид, либо для модификации структуры кожи, либо для повышения концентрации лекарственного средства в трансдермальном пластыре (Junginger, et al., In "Drug Permeation Enhancement"; Hsieh, D. S., Eds., p. 59-90 (Marcel Dekker, Inc. New York 1994, включенная в настоящее описание в качестве ссылки в полном объеме), или с окисляющими средствами, которые облегчают нанесение составов, содержащих белки и пептиды, на кожу (WO 98/53847), или посредством применения электрического поля для обеспечения временных транспортных путей, таких как электропорация, или для повышения подвижности заряженных лекарственных средств через кожу, таких как ионофорез, или посредством применения ультразвука, такого как сонофорез (патенты США № 4309989 и 4767402) (приведенные выше публикации и патенты включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме).

Легочное/назальное введение

В случае легочного введения предпочтительно по меньшей мере одну композицию антитела против IL-23p19 доставляют в виде частиц с размером, эффективным для достижения наиболее низких дыхательных путей легкого или пазух. В соответствии с этим изобретением, для введения лекарственного средства посредством ингаляции по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 можно доставлять с помощью любого из множества устройств для ингаляции или назальных устройств, известных в данной области.

Эти устройства, способные приводить к оседанию распыленных составов в полости пазухи или альвеолах пациента, включают ингаляторы с измеряемой дозой, устройства для распыления, генераторы сухих порошков, распылителей и т.п. Другие устройства, пригодные для обеспечения легочного или назального введения антител также известны в данной области. Во всех таких устройствах можно использовать пригодные для введения составы для измельчения антитела в аэрозоль. Такие аэрозоли могут состоять либо из растворов (как водных, так и неводных), либо из твердых частиц.

В ингаляторах с измеряемой дозой, таких как ингалятор с измеряемой дозой Ventolin®, как правило, используется газ для распыления, и для них требуется воздействие в процессе вдыхания (см., например, WO 94/16970, WO 98/35888). В ингаляторах для сухого порошка, таких как Turbuhaler™ (Astra), Rotahaler® (Glaxo), Diskus® (Glaxo), ингалятор Spiros™ (Dura), устройства, поставляемые Inhale Therapeutics, и ингалятор для порошка Spinhaler® (Fisons), осуществляют воздействие при вдохе смешанного порошка (US 4668218 Astra, EP 237507 Astra, WO 97/25086 Glaxo, WO 94/08552 Dura, US 5458135 Inhale, WO 94/06498 Fisons, включенные в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме). Устройства для распыления, такие как AERx™ Aradigm, устройство для распыления Ultravent® (Mallinckrodt), и устройство для распыления Acorn II® (Marquest Medical Products) (US 5404871 Aradigm, WO 97/22376), все из указанных выше ссылок включены в настоящее описание в полном объеме, производят аэрозоли из растворов, в то время как ингаляторы с измеряемой дозой и т.д. формируют аэрозоли в виде мелких частиц. Подразумевают, что эти конкретные примеры коммерчески доступных устройств для ингаляции, являются репрезентативными примерами конкретных устройств, пригодных для применения на практике этого изобретения, и они не предназначены для ограничения объема этого изобретения.

Предпочтительно, композицию, содержащую по меньшей мере одно антитело против IL-23p19, доставляют посредством ингалятора с сухим порошком или устройства для распыления.

Существует несколько желательных характеристик устройства для ингаляции в целях введения по меньшей мере одного антитела по настоящему изобретению. Например, доставка с помощью устройства для ингаляции преимущественно является надежной, воспроизводимой и точной. Устройство для ингаляции необязательно может доставлять частицы небольших размеров, например, менее чем приблизительно 10 мкм, предпочтительно приблизительно 1-5 мкм, для возможности правильного вдыхания.

Введение композиций антитела против IL-23p19 в качестве аэрозоля

Аэрозоль, содержащий композицию антитела против IL-23p19, можно получать посредством пропускания суспензии или раствора по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 через распылитель под давлением. Для достижения требуемого выхода и размера частиц размер и форму распылителя, применяемое давление и скорость подачи жидкого вещества можно подбирать. Электрораспыление можно проводить, например, с помощью электрического поля, соединенного с устройством для подачи в виде капилляра или распылителя. Предпочтительно, частицы по меньшей мере одной композиции антитела против IL-23p19, доставленные с помощью устройства для распыления, обладают размером частиц менее приблизительно 10 мкм, предпочтительно в диапазоне приблизительно от 1 до приблизительно 5 мкм и наиболее предпочтительно приблизительно от 2 до приблизительно 3 мкм.

Составы по меньшей мере одной композиции антитела против IL-23p19, пригодные для применения с устройством для распыления, как правило, включают композиции антитела в водном растворе в концентрации от приблизительно 0,1 до приблизительно 100 мг по меньшей мере одной композиции антитела против IL-23p19 на мл раствора или мг/г, или любой диапазон, значение или часть этого диапазона. Состав может включать вещества, такие как эксципиент, буфер, изотоническое вещество, консервант, поверхностно-активное вещество и предпочтительно цинк. Также состав может включать эксципиент или вещество для стабилизации композиции антитела, такое как буфер, восстановитель, объемный белок

или углеводов. Объемные белки, пригодные для составления композиций антитела, включают альбумин, протамин или сходные с ними. Типичные углеводы, пригодные для составления композиций антитела, включают сахарозу, маннит, лактозу, трегалозу, глюкозу или сходные с ними. Состав композиции антитела также может включать поверхностно-активное вещество, которое может снижать или предотвращать поверхностно-индуцируемую агрегацию композиции антитела, вызванную распылением раствора при образовании аэрозоля. Можно использовать различные общепринятые поверхностно-активные вещества, такие как сложные эфиры жирных кислот и спиртов полиоксиэтилена, и сложные эфиры жирных кислот сорбита полиоксиэтилена. Количества, как правило, находятся в диапазоне между 0,001 и 14% по массе состава. Особенно предпочтительные поверхностно-активные вещества для целей этого изобретения представляют собой моноолеат сорбитана полиоксиэтилена, полисорбат 80, полисорбат 20 или сходные с ними. Дополнительные вещества, известные в данной области для составления белка, такие как антитела против IL-23p19, или определенные участки или варианты, также можно включать в состав.

Введение композиций антитела против IL-23p19 с помощью устройства для распыления

Композиции антитела по этому изобретению можно вводить посредством устройства для распыления, такого как струйное устройство для распыления или ультразвуковое устройство для распыления. Как правило, в струйном устройстве для распыления используют источник сжатого воздуха для создания воздушного потока через отверстие с высокой скоростью. По мере того, как газ расширяется после распылителя, создается область с низким давлением, которая прокачивает раствор композиции антитела через капиллярную трубку, соединенную с емкостью с жидкостью. При нахождении в трубке поток жидкости из капиллярной трубки разделяется на нестабильные струи и капли создавая аэрозоль. Для достижения требуемых эксплуатационных характеристик из данного струйного устройства для распыления можно использовать ряд форм, скоростей потока и типов дефлектора. В ультразвуковом устройстве для распыления, используют высокочастотную электрическую энергию для достижения вибрационной механической энергии, как правило, с использованием пьезоэлектрического преобразователя. Эту энергию передают составу композиции антитела, либо непосредственно, либо посредством передающей жидкости, получая аэрозоль, включающий композицию антитела. Предпочтительно, частицы композиции антитела, доставляемые посредством устройства для распыления, обладают размером частиц менее чем приблизительно 10 мкм, предпочтительно в диапазоне от приблизительно 1 до приблизительно 5 мкм и наиболее предпочтительно приблизительно от 2 до приблизительно 3 мкм.

Составы по меньшей мере одного антитела против IL-23p19, пригодные для применения совместно с либо струйным, либо ультразвуковым устройством для распыления, как правило, включают концентрацию от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 100 мг по меньшей мере одного белка антитела против IL-23p19 на мл раствора. Состав может включать вещества, такие как эксципиент, буфер, изотоническое вещество, консервант, поверхностно-активное вещество и предпочтительно цинк. Также состав может включать эксципиент или вещество для стабилизации композиции по меньшей мере одного антитела против IL-23p19, такие как буфер, восстановитель, объемный белок или углевод. Объемные белки, пригодные для составления композиции по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 включают альбумин, протамин или сходные с ними. Типичные углеводы, пригодные для составления по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 включают сахарозу, маннит, лактозу, трегалозу, глюкозу или сходные с ними. Состав по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 также может включать поверхностно-активное вещество, которое может снижать или предотвращать поверхностно-индуцируемую агрегацию по меньшей мере одного антитела против IL-23p19, вызываемую распылением раствора при образовании аэрозоля. Можно использовать различные общепринятые поверхностно-активные вещества, такие как сложные эфиры жирных кислот и спиртов полиоксиэтилена, и сложные эфиры жирных кислот сорбита полиоксиэтилена. Количества, как правило, находятся в диапазоне между приблизительно 0,001 и 14% по массе состава. Особенно предпочтительные поверхностно-активные вещества для целей этого изобретения представляют собой моноолеат сорбитана полиоксиэтилена, полисорбат 80, полисорбат 20 или сходные с ними. Также в состав можно включать дополнительные вещества, известные в данной области, для составления белка, такие как антитела против IL-23p19, или определенные участки или варианты.

Введение композиции антитела против IL-23p19 посредством ингалятора с измеряемой дозой

В ингаляторе с измеряемой дозой (MDI), пропеллент, по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 и любые эксципиенты или другие добавки находятся в контейнере в виде смеси, включающей сжиженный сжатый газ. Действие дозирующего клапана приводит к высвобождению смеси в качестве аэрозоля, предпочтительно содержащего частицы с размером, находящимся в диапазоне от менее чем приблизительно 10 мкм, предпочтительно от приблизительно 1 до приблизительно 5 мкм и наиболее предпочтительно от приблизительно 2 до приблизительно 3 мкм. Требуемый размер частиц аэрозоля можно получать с использованием состава композиции антитела, изготавливаемого различными способами, известными специалистам в данной области, включающие измельчение на струйной мельнице, высушивание распылением, конденсацию в критической точке или сходные с ними. Предпочтительные ингаляторы с измеряемой дозой включают ингаляторы, изготавливаемые 3M или Glaxo, и в которых применяют пропеллент на основе гидрофторуглерода. Составы по меньшей мере одного антитела против

IL-23p19 для применения совместно с устройством для ингаляции с измеряемой дозой, как правило, включают высокодисперсный порошок, содержащий по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 в виде суспензии в неводной среде, например, суспендированное в пропелленте с помощью поверхностно-активного вещества. Пропеллент может представлять собой любое общепринятое вещество, используемое для этой цели, такое как хлорфторуглерод, гидрохлорфторуглерод, гидрофторуглерод или углеводород, в том числе трихлорфторметан, дихлордифторметан, дихлортетрафторэтанол и 1,1,1,2-тетрафторэтан, HFA-134a (гидрофторалкан-134a), HFA-227 (гидрофторалкан-227) или сходные с ними. Предпочтительно, пропеллент представляет собой гидрофторуглерод. Поверхностно-активное вещество можно выбирать для стабилизации по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 в виде суспензии в пропелленте для защиты активного вещества от химической деградации и т.п. Пригодные поверхностно-активные вещества включают триолеат сорбитана, соевый лецитин, олеиновую кислоту или сходные с ними. В некоторых случаях, раствор аэрозоля является предпочтительным с использованием растворителей, таких как этанол. Дополнительные вещества, известные в данной области для составления белка, также можно включать в состав. Средний специалист в данной области поймет, что способы по настоящему изобретению можно осуществлять посредством легочного введения композиции по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 посредством устройств, которые не описаны в настоящем описании.

Пероральные составы и введение

Составы для перорального введения основаны на совместном введении адъювантов (например, реорцина и неионных поверхностно-активных веществ, таких как олеиловый эфир полиоксиэтилена и эфир n-гексадецилполиэтилена) для искусственного повышения проницаемости стенок кишечника, а также на совместном введении ингибиторов ферментов (например, ингибиторов панкреатического трипсина, диизопропилфторфосфата (DFF) и тразилола) для ингибирования ферментативной деградации. Составы для доставки гидрофильных веществ, включающих белки и антитела и сочетание по меньшей мере двух поверхностно-активных веществ, предназначенные для перорального введения, введения на слизистую, для назального, легочного, вагинального, трансмембранного или ректального введения описаны в патенте США 6309663. Активный компонент соединения дозированной формы твердого типа для перорального введения можно смешивать по меньшей мере с одной добавкой, в том числе с сахарозой, лактозой, целлюлозой, маннитом, трегалозой, рафинозой, мальтитом, декстраном, крахмалами, агаром, аргинатами, хитинами, хитозанами, пектинами, трагакантовой камедью, гуммиарабиком, желатином, коллагеном, казеином, альбумином, синтетическим или полусинтетическим полимером и глицеридом. Эти дозированные формы также могут содержать добавки другого типа(ов), например, неактивный разбавитель, смазывающее вещество, такое как стеарат магния, парааминобензойная кислота, консервант, такой как сорбиновая кислота, аскорбиновая кислота, альфа-токоферол, антиоксидант, такой как цистеин, дезинтегрирующее вещество, связующее вещество, загуститель, буферное средство, подсластитель, вкусовую добавку, ароматизирующую добавку и т.д.

Таблеткам и пилюлям можно дополнительно придавать форму покрытых растворимой в кишечнике оболочкой препаратов. Жидкие препараты для перорального введения включают эмульсию, сироп, эликсир, суспензию и растворимые препараты, приемлемые для медицинского применения. Эти препараты могут содержать неактивные разбавители, обычно используемые в указанной области, например, воду. Также в качестве систем для доставки лекарственного средства для инсулина и гепарина описаны липосомы (патент США № 4239754). Позднее, для доставки фармацевтических средств применили микросферы из искусственных полимеров смешанных аминокислот (протеноидов) (патент США № 4925673). Более того, в данной области известны соединения носителей описанные в патенте США № 5879681 и патенте США № 55871753 и используемые для пероральной доставки биологически активных веществ.

Составы и введение на слизистую оболочку Состав для перорального введения биологически активного вещества инкапсулируют в один или несколько эксципиентов на основе биологически совместимых полимеров или сополимеров, предпочтительно биологически деградируемого полимера или сополимера, с получением микрокапсул, которые вследствие соответствующего размера полученных микрокапсул приводят к достижению веществом скоплений лимфатических фолликулов и захвату вещества скоплениями лимфатических фолликулов, иначе известных как "Пейеровы бляшки" или "GALT" животного без утраты эффективности при прохождении вещества через желудочно-кишечный тракт. Сходные скопления лимфатических фолликулов можно найти в бронхиальных трубках (BALT) и в толстом кишечнике. Описанные выше ткани, как правило, называют ассоциированными со слизистой оболочкой лимфоретикулярными тканями (MALT). Для всасывания через поверхности слизистых оболочек, композиции и способы введения по меньшей мере одного антитела против IL-23p19 включают эмульсию, содержащую множество субмикронных частиц, мукоадгезивную макромолекулу, биологически активный пептид и водную однородную фазу, которая обеспечивает всасывание через поверхности посредством осуществления адгезии к слизистой оболочке частиц эмульсии (патенты США № 5514670). Поверхности слизистых оболочек, пригодные для применения эмульсий по настоящему изобретению, могут включать конъюнктивный, конъюнктивный способ введения, введение на слизистую оболочку щеки, сублингвальный, назальный, вагинальный, легочный, желудочный, кишечный и ректальный способы введения. Составы для вагинального или ректального введения, например, суппозитории, в качестве эксципиентов

могут содержать, например, полиалкиленгликоли, вазелин, масло какао и т.п. Составы для интраназального введения могут представлять собой твердые составы и в качестве эксципиентов могут содержать, например, лактозу, или они могут представлять собой водные или масляные растворы в виде капель для носа. В случае введения на слизистую оболочку щеки, эксципиенты включают сахара, стеарат кальция, стеарат магния, прежелатинизированный крахмал и т.п. (патенты США № 5849695).

Трансдермальные составы и введение

В случае чрескожного введения, по меньшей мере одно антитело против IL-23p19 инкапсулируют в средство для доставки, такое как липосома или полимерные наночастицы, микрочастица, микрокапсула или микросферы (в собирательном значении обозначаемые как микрочастицы, если нет иных указаний). Известно множество пригодных средств, включающих микрочастицы, изготовленные из синтетических полимеров, таких как полигидроксикислоты, такие как полимолочная кислота, полигликолевая кислота и их сополимеры, полиортоэферы, полиангидриды и полифосфазены и нейтральные полимеры, такие как коллаген, полиаминокислоты, альбумин и другие белки, альгинат и другие полисахариды и их сочетание (патенты США № 5814599).

Введение и составы для пролонгированного введения Может быть желательной доставка соединения по настоящему изобретению субъекту в течение пролонгированных периодов времени, например, в течение периодов от одной недели до одного года при однократном введении. Можно использовать различные дозированные формы с замедленным высвобождением, депонируемые или имплантируемые дозированные формы. Например, дозированная форма может содержать фармацевтически приемлемую нетоксичную соль соединений, которая обладает низкой растворимостью в жидкостях организма, например, (a) кислотно-аддитивную соль с многоосновной кислотой, такой как фосфорная кислота, серная кислота, лимонная кислота, виннокаменная кислота, таниновая кислота, памовая кислота, альгиновая кислота, полиглутаминовая кислота, нафталин моно- или ди-сульфоновые кислоты, полигалактуронозная кислота и т.п.; (b) соль с поливалентным катионом металла, такого как цинк, кальций, висмут, барий, магний, алюминий, медь, кобальт, никель, кадмий и т.п., или с органическим катионом, образованным, например, из N,N'-дибензил-этилендиамин или этилендиамина; или (c) сочетание (a) и (b), например, соль танната цинка. Кроме того, соединения по настоящему изобретению или предпочтительно относительно нерастворимая соль, такая как соли, описанные выше, может быть изготовлена в геле, например, в геле моностеарата алюминия, например, с кунжутным маслом, пригодным для инъекции. Особенно предпочтительные соли представляют собой соли цинка, соли танната цинка, соли памоата и т.п. Другой тип депонируемого состава с замедленным высвобождением для инъекций может содержать соединение или соль, диспергированную для инкапсулирования в медленно деградируемом нетоксичном неантигенном полимере, таком как полимер полимолочной кислоты и полигликолевой кислоты, например, как описано в патенте США № 3773919. Соединения или предпочтительно относительно нерастворимые соли, такие как соли, описанные выше, также можно изготавливать в драже на основе силастика с холестеринным матриксом, в частности, для применения у животных. Дополнительные составы с медленным высвобождением, депонируемые или имплантируемые составы, например, газовые или жидкостные липосомы, известны в литературе (патенты США № 5770222 и "Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems", J.R. Robinson ed., Marcel Dekker, Inc, N. Y., 1978).

После описания, в целом, этого изобретения, оно будет более понятным с помощью следующих примеров, которые предоставлены в качестве иллюстрации и не предназначены для ограничения.

Примеры

Пример 1. Выделение человеческих специфичных антител против IL-23 с помощью фагового дисплея.

Основные способы описаны для селекции антигенспецифичных антител из библиотек HuCALTM, созданных в MorphoSys (Knappik et al., 2000; Krebs et al., 2001; Rauchenberger et al., 2003). Для селекции антител против рекомбинантного IL-23 человека (hrIL-23) использовали специфичные к Vh-участку субпулы библиотеки HuCAL GoldTM Fab (Kretzschmar & von Ruden, 2002). Использовали несколько различных стратегий селекции и они включают.

1. Селекцию против рекомбинантного белка hIL-23, который был иммобилизован непосредственно на пластике, с предварительной адсорбцией библиотеки на рекомбинантный белок IL-12 человека (hrIL-12), также адсорбированном непосредственно на пластике, или без нее. Рекомбинантные белки hIL-23 и hIL-12 были получены в Sepcosog.

2. Селекцию с рекомбинантным человеческим белком IL-23 в растворе, с последующим выделением связанного фага захватом белка hIL-23 иммобилизованным hrIL-12p40mAb. Селекцию проводили с предварительной адсорбцией библиотеки на рекомбинантном белке hrIL-12, захваченным тем же mAb, либо без нее.

3. Селекцию с химически биотинилированным белком hrIL-23 в растворе, с последующим улавливанием связанного фага покрытыми SA магнитными гранулами. Селекцию проводили с белком hrIL-12, или без него в молярном избытке, в качестве конкурента.

Выделенную фагмидную ДНК превращали целиком в экспрессирующий Fab вектор, и отдельные

клоны после трансформации подвергали скринингу в отношении связывания с hrIL-23 и не с hrIL-12. Секвенирование положительных клонов выявило 76 уникальных Fab.

Пример 2. Охарактеризация Fab.

Получали положительные Fab и очищали как описано ранее (Knappik et al., 2000; Rrebs et al., 2001; Rauchenberger et al., 2003) и специфичность связывания с hrIL-23 но не с hrIL-12 или с субъединицей p40 hrIL-12 (hrp40) подтверждали в анализах, сходных с анализами, описанными в примере 3, ниже. Подтвержденные Fab тестировали в отношении (1) ингибирования связывания hrIL-23 с человеческим рецептором для IL-23 (hIL-23R) или с человеческим рецептором для IL-12 β 1 (hIL-12R β 1), (2) отсутствия ингибирования связывания hrIL-12 с IL-12RIL β 1, (3) ингибирования связывания hrIL-23 с клетками TALL-104 естественным образом экспрессирующих IL-23R и IL-12R β 1, и (4) аффинность связывания с hrIL-23, hrIL-12 и субъединицей hrp40. Специфичность и аффинность связывания приведена в табл. 1 и ингибирование связывания hrIL-23 с hIL-23R приведено в табл. 2. Fab12A в табл. 1 представляет собой стандарт для сравнения, источником которого является специфичное к IL-12p40 mAb. IL-23R-Fc в табл. 2 представляет собой стандарт для сравнения, соответствующий внеклеточному домену IL-23R человека, слитому с Fc человека.

Главным образом, анализы ингибирования рецептора были сходными с анализами, описанными ниже в примере 4 для производных mAb для этих Fab. Один дополнительный анализ проводили для измерения ингибирования связывания rhIL-23 с клетками TALL 104. Эти клетки экспрессируют как IL-23 человека, так и рецепторы для IL-12R- β 1. 10 из 13 Fab-кандидатов обладали требуемым профилем активности, представляющим собой отсутствие реактивности с белками IL-12 или p40 человека в любом анализе, и по меньшей мере частичным ингибированием связывания hrIL-23 с рецептором для IL-23. Последовательности CDR шести из Fab (4083, 4190, 4205, 4217, 4649 и 4658) представлены в табл. 4 (полужирный шрифт). Полные последовательности V-области для этих Fab представлены в табл. 8.

Продукция Fab в форме IgG1 человека.

Fab-кандидаты клонировали в векторы для структур mAb IgG1/каппа или лямбда и продуцировали временной трансфекцией в клетках HEK293 для последующего анализа в качестве mAb. В общем, одиннадцать из 13 активных Fab показывают требуемый профиль в качестве mAb. Они являются специфичными для к IL-23 и по меньшей мере частично ингибируют связывание IL-23 человека с слитым белком человеческий IL-23R-FC (табл. 3). Анализы и их результаты приведены в следующих ниже примерах.

Пример 3. Специфичность к субъединицам hIL-23p19 mAb, полученного посредством фагового дисплея антитела.

Очищенные mAb мыши против hIL-23 оценивали в анализе улавливания ELISA в целях определения их антигенной специфичности к субъединицам. В кратком изложении, mAb против IL-23 наносили на планшеты и инкубировали со 100 нг/мл hrIL-23, hrIL-12 и hrp40 соответственно. После инкубации с биотинилированным mAb против-p40, связывание подвергали детекции с использованием HRP-конъюгированного стрептавидина. mAb против-p40 и mAb против IL-12 (20C2, Catalog № 555065, BD Pharmingen, San Diego, CA) с известной специфичностью использовали в качестве контролей.

На фиг. 1A и 1B показана специфичность связывания для двух из этих mAb, MOR04083 (то же что и 4083) и MOR04190 (то же что и 4190). На фиг. 1A показано, что mAb специфично связывают hrIL-23, но не hrIL-12 или мономер hrp40. Поскольку для секреции из клеток млекопитающих субъединица IL-23p19 должна ковалентно связываться с p40, mAb против IL-23, которые не распознают мономер p40, должны связывать либо субъединицу IL-23p19 отдельно, либо объединенный эпитоп гетеродимера p19-p40. Таким образом, эти IL-23 mAb обозначают как mAb против IL-23p19. При сравнении все 3 белка (hrIL-23, hrIL-12 и hrp40) связывались с mAb 12A, специфичным нейтрализующим антителом против p40 человека. На фиг. 1B показано, что указанные mAb не связываются с мышинным IL-23 или с мышинным p40. Наоборот, иммобилизованные mAb обладают сходными кривыми связывания с hrIL-23 в растворе (фиг. 2), что согласуется с их сравнимой с Fab аффинностью связывания (табл. 1). Специфичность связывания этих и других mAb-кандидатов приведена в табл. 3.

Пример 4. Ингибирование связывания рецептора для IL-23 посредством mAb против IL-23p19.

Для того чтобы показать, что mAb против IL-23p19 представляют собой нейтрализующие антитела против субъединицы p19, mAb тестировали в отношении ингибирования ими связывания IL-23 и IL-23R. В этом эксперименте, слитый белок IL-23R-FC человека иммобилизовывали на планшете. Этот слитый белок состоит из внеклеточного домена рецептора для IL-23 человека, слитого с Fc-сегментом человека. В планшет добавляли биотинилированный hrIL-23 либо отдельно, либо после предварительной инкубации с индивидуальными mAb против IL-23p19. В качестве положительного контроля использовали растворимый IL-23R (IL-23R-Fc). Связывание IL-23 выявляли с помощью HRP-конъюгированного стрептавидина. Как показано на фиг. 3A, mAb MOR04083 и MOR04190 препятствуют связыванию IL-23/IL-23R с эффективностью, приблизительно в 3 раза меньшей эффективности растворимого IL-23R-Fc. Не происходило ингибирования посредством B21M, mAb с неродственной специфичностью. Напротив, когда IL-12R β 1 иммобилизовывали на планшете, эти mAb не ингибировали связывание IL-23/IL-12R β 1 (фиг. 3B)). Связывание IL-23 ингибировалось нейтрализующим p40 mAb CNTO 1275 (то же что и mAb 12A), как и

ожидали. Аналогично, эти mAb не блокируют связывание IL-12/IL-12R β 1 (фиг. 3C). CNTO 1275 снова служило в качестве положительного контроля. Селективное ингибирование связывания IL-23/IL-23R и отсутствие противодействия связыванию IL-12 или IL-23 с IL-12R β 1 далее показывает, что эти mAb против IL-23p19 не связывают субъединицу p40 и, таким образом, представляют собой нейтрализующие антитела против IL-23p19 человека. Исследования ингибирования рецептора с этими mAb обобщены в табл. 3.

Пример 5. Нейтрализация биологической функции IL-23 посредством mAb против IL-23p19.

Известно, что IL-23 индуцирует внутриклеточное фосфорилирование STAT3 и продукцию IL-17 Т-клетками. Таким образом, mAb против IL-23p19 тестировали в отношении их способности ингибировать эти биологические функции IL-23 человека.

В одном эксперименте, естественные киллерные (NKL) клетки стимулировали hrIL-23 либо отдельно, либо после предварительной инкубации с mAb MOR04083 и MOR0190 в концентрации 20 мкг/мл и 10 мкг/мл соответственно. MAb 12A (1 мкг/мл) представляло собой положительный контроль, и C8.3 (10 мкг/мл), нейтрализующее mAb против p40 человека, представляло собой отрицательный контроль. Обработанные клетки окрашивали конъюгированными с флуорохромом антителами против фосфо-STAT3 и анализировали посредством внутриклеточной проточной цитометрии (фиг. 4). Эти mAb полностью ингибируют фосфорилирование STAT3, хотя и с более низкой эффективностью, чем нейтрализующее mAb 12A против p40. Более низкая эффективность IL-23p19 mAb, вероятно, отражает их относительно слабую аффинность. В другом эксперименте, свежие выделенные спленоциты мыши обрабатывали hrIL-23, предварительно инкубированным с титрованными mAb против IL-23p19 или контрольными mAb. hrIL-23 без предварительной инкубации с антителом использовали в качестве положительного контроля. После 3 суток в культуре, клеточные супернатанты собирали и анализировали посредством ELISA с использованием двойного набора IL-17 ELISA (R&D Systems). Как показано на фиг. 5A, mAb против IL-23p19 MOR04083 и MOR04190 ингибировали опосредуемую hrIL-23 продукцию IL-17. Также эти mAb ингибировали продукцию IL-17, индуцированную нативным IL-23, продуцированным PBMC человека (фиг. 5B) и яванской макаки (фиг. 5C).

Для сравнения, IL-23p19 mAb тестировали в отношении их способности ингибировать индуцируемую hrIL-12 продукцию IFN γ . В кратком изложении, клетки NK92MI обрабатывали IL 12, предварительно инкубированным с титрованными mAb против IL-23p19 или контрольными mAb (фиг. 6). В качестве отрицательного контроля использовали IL-12 без предварительной инкубации с антителом, и в качестве положительного контроля использовали CNTO 1275. Анализ ELISA, проведенный через 24 ч после стимуляции, показал отсутствие эффекта mAb против IL-23p19 MOR04083 и 4190 на индуцируемую IL-12 продукцию IFN γ , демонстрируя, что антитела не связывают и не нейтрализуют субъединицу p40, общую для IL-12 и IL-23. Результаты этих анализов приведены в табл. 3.

Пример 6. Идентификация эпитопа mAb против IL-23p19.

Конкурентный анализ связывания проводили в целях определения наличия связывания mAb против IL-23p19 со сходными или отличающимися эпитопами IL-23p19. Результаты для mAb MOR04083, MOR04190 и MOR04217, представлены на фиг. 7. mAb против IL-23 наносили по отдельности на планшеты для ELISA. Добавляли конкурирующие mAb, а затем добавляли биотинилированный hrIL-23. Для положительного контроля, в качестве конкурирующего mAb использовали то же mAb, что и для нанесения ("собственная конкуренция"). Связывание IL-23 выявляли с использованием стрептавидина. Все три mAb показывают перекрестную конкуренцию в различной степени, демонстрируя связывание с пространственно разделенными участками.

Пример 7. Созревание аффинности нейтрализующих Fab-кандидатов.

Fab MOR04083, 04190, 04649 и 04658 выбирали для независимого созревания аффинности на основе указанной выше охарактеризации как Fab, так и mAb. С использованием кассетного элемента системы NuCa1™ (Knappik et al., 2000), конструировали два варианта фаговых библиотек для каждого Fab, один для CDR3 переменного участка легкой цепи (VL) и другой для CDR2 переменного участка тяжелой цепи (VH). Эти библиотеки подвергали селекции против биотинилированного hrIL-23 в растворе при промывании и концентрации антигена различной строгости. Было выделено 35 уникальных Fab, каждый из которых показывал повышенную активность связывания относительно исходного родительского Fab. После этого во втором раунде скрининга было выбрано три дополнительных Fab (5267, 5268 и 5269; все варианты VL-CDR3 4083). Последовательности CDR исходных Fab, производные после созревания из библиотек VL-CDR3 или VH-CDR2, и варианты этих последовательностей представлены в табл. 4A и B. Полные последовательности V-области представлены в табл. 8.

Пример 8. Продукция и охарактеризация Fab после созревания аффинности.

38 выбранных Fab продуцировали, очищали и охарактеризовывали по существу как описано в примерах 2-4, выше. Десять из Fabs привели к небольшому выходу и/или показали гетерогенные паттерны при гель-фильтрации, и они были исключены из последующего анализа. Остальные 28 Fab анализировали в отношении специфичности связывания, аффинности и ингибирования связывания рецептора. Все Fab были специфичными к IL-23p19 и обладали в 10-500 раз большей аффинностью к hrIL-23, чем соот-

ветствующий исходный Fab (табл. 5 и 6). Все из них показали повышенные значения IC_{50} в отношении ингибирования связывания hrIL-23 со слитым белком IL-23R-FC и, подобно исходным Fab, не ингибировали связывание ни IL-23, ни IL-12 со слитым белком рецептора для IL-12Rb1 и Fc (табл. 5 и 6). Как и ожидали из этих результатов, ни один Fab не ингибировал связывание hrIL-23 с клетками TALL-104, как определяли проточной цитометрией, что согласуется со сходным отсутствием ингибирования исходными Fab.

Пример 9. Продукция и охарактеризация Ab после созревания аффинности в форме mAb.

34 из 35 выбранных Fab клонировали в структуры векторов mAb IgG/каппа или лямбда и продуцировали в виде mAb посредством временной трансфекции в клетках HEK293 для последующего анализа. Все антитела оценивали в отношении ингибирования продукции IL-17, как описано в примере 5, выше (табл. 7). В большинстве случаев, каждое из производных после созревания было более эффективным, чем их соответствующее исходное антитело, с повышением IC_{50} вплоть до 200 раз. Биохимические свойства 34 mAb оценивали посредством SDS-PAGE и гель-фильтрации в отношении признаков агрегации, гетерогенности цепей, и неполного образования дисульфидных связей между тяжелыми и легкими цепями в шарнирной области.

Исходя из комбинированного анализа активности и биохимического анализа, было выбрано 7 mAb для более детального анализа, по меньшей мере по одному от каждого исходного родительского антитела. Антитела MOR05058 и 05059, полученные из библиотек разнообразия VL CDR3 MOR04649, исключали из этого набора (см. примеры 10 и 11). Все выбранные кандидаты ингибировали продукцию IL-17, индуцированную природным IL-23 из PBMC человека (фиг. 8) и яванской макаки (не представлено). Как и ожидалось, все они ингибировали связывание hrIL-23 со слитым белком hrIL-23R и Fc с эффективностью, превышающей эффективность контрольного mAb против IL-23A (фиг. 9). С возможным исключением MOR05053, эти выбранные mAb не ингибировали биологическую активность нативного IL-12 (не представлено), что согласуется с отсутствием связывания тех mAb, доступных в качестве Fab, с белком hrIL-12.

Пример 10. Продукция и охарактеризация комбинированных mAb с перекрестными цепями.

Исходные Fab MOR04190, 04649 и 4658 приводили к улучшенным Fab из библиотек разнообразия как VH CDR2, так и VL CDR3. Fab, образованные из MOR04649, представляли особый интерес вследствие относительно высокой активности из библиотек обоих типов. Однако исходный Fab MOR04649 содержит предсказанный, но потенциально неблагоприятный участок N-связанного гликозилирования в VH CDR2, который не представлен в каком-либо из 6 улучшенных Fab, образованных из библиотеки VH CDR2. Для удаления этого участка гликозилирования и тестирования в отношении потенциальной улучшенной активности, тяжелые цепи MOR05042 и 05045 экспрессировали с легкими цепями MOR05058 и 5059 в клетках HEK293 (табл. 4C - mAb 42-58, 42-59, 45-58 и 45-59). Ни одно из сочетаний не было более эффективными антагонистами (продукция IL-17 и ингибирование связывания IL-23 с IL-23R), чем соответствующие mAb донорной цепи и посредством гель-фильтрации все из них показали большую тенденцию к агрегации (не представлено).

Пример 11. Мутагенез с замещением выбранных mAb после созревания и их охарактеризация.

Аминокислотные замены вносили в выбранные mAb в целях устранения предсказанного участка N-связанного гликозилирования и/или для соответствия N-концов вариабельных участков их наиболее близкой последовательности V-области эмбрионального типа человека. Предсказанный участок N-связанного гликозилирования в Vh 5058 и 5059 ("NYS" в CDR2, то же, что и в исходном Vh MOR04649) устраняли замещением аргинина (4649g) или аспарагиновой кислоты (4649d) аспарагином в положении 59 (прямая нумерация). Последовательности CDR этих VH-участков представлены в табл. 4A и полные последовательности V-области приведены в табл. 8. Эти варианты продуцировали временной экспрессией в клетках HEK293 и очищали аффинной хроматографией с белком A. Эти mAb показали повышенную эффективность относительно исходных антител в отношении их ингибирования продукции IL-17. Замещение аргинина в MOR05059 имело наилучший профиль, исходя из активности и биохимической охарактеризации, и это mAb назвали 3759 (табл. 4C).

mAb 5040 и 3759 выбирали в качестве наивысших позиций, исходя из их активности и биохимической охарактеризации. Аминокислотные замены вносили для соответствия последовательности антитела эмбрионального типа человека и замену одной аминокислоты проводили в = VL-участке 5040 для обратной мутации каркасной области до эмбрионального типа, замещая валин треонином в положении 86.

Аминокислотные последовательности, измененные по сравнению с исходным mAb, были следующими:

Антитело	VH	VL
5040	E(3) на Q	D(1) на E, E(86) на V
3759	Q(1)E(3) на EQ	D(1)I(2) на QS

Замена E3 на Q в VH обоих антител представляет собой обратную замену E, внесенную при клонировании Fab в вектор для mAb. В этом положении в исходных Fab находилась Q и ее можно использовать в качестве варианта для замещения E в различных mAb. Эти варианты обозначают как 5040^{Q/EV} и

3759^{EQ/QS}. Составляющими V-областями 5040^{Q/EV} являются 5040 VH и 4190^{EV} VL (табл. 4C). Составляющим V-областями 3759^{EQ/QS} являются 4649^E VH и 5059^{QS} VL (табл. 4C). Последовательности CDR и полных V-участков составляющих цепей обоих антител представлены в табл. 4 и 8 соответственно. Сходные замены можно идентифицировать для любого из кандидатов посредством сравнения с их предсказанными последовательностями эмбрионального типа человека.

mAb 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} продуцировали посредством временной экспрессии в клетках HEK293 и очищали аффинной хроматографией с белком А. Эти mAb полностью сохраняют специфичность к IL-23 человека относительно IL-12 и p40, как представлено на фиг. 10. Эти mAb ингибируют связывание рекомбинантного IL-23 человека с IL-23R-FC и являются более эффективными, чем контроль, mAb23A (фиг. 11A). Как ожидалось из профиля их специфичности, они не ингибируют связывание IL-23 (фиг. 11B) или IL-12 (фиг. 11C) с IL-12Rβ1. В соответствии с этим паттерном ингибирования рецептора, эти mAb не ингибируют индуцируемой IL-12 продукции IFN γ из клеток NK92M1 (фиг. 12), но они ингибируют индуцируемую как рекомбинантным (фиг. 13), так и нативным (фиг. 14) IL-23 продукцию IL-17 из спленоцитов мыши. Также эти mAb показывают очень сильное ингибирование индукции IL-17 нативным IL-23 яванской макаки (фиг. 15), демонстрируя высокую степень перекрестной реактивности с IL-23 из яванской макаки. Также эти mAb ингибировали фосфорилирование STAT3, индуцированное в NK-клетках рекомбинантным IL-23 человека (не представлено).

mAb 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} распознают близко расположенные эпитопы на IL-23, как показали по их ингибированию связывания mAb23A (фиг. 16A) и их реципрокной конкуренции друг с другом (фиг. 16B и 16C). Эпитоп mAb23A был картирован на p19 человека в области I93-G105: I₉₃HQGLIFYEKLLG₁₀₅.

Результаты конкуренции показывают, что эпитопы для mAb 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} находятся в одном участке.

Пример 12. Варианты кодирующих последовательностей для mAb 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS} и их охарактеризация.

Кодирующую последовательность переменных участков антител встраивали в три различных варианта кодирующих последовательностей в целях оценки влияния на экспрессию этих белков. В первом варианте использовались кодоны, полученные из исходной библиотеки, с несколькими нуклеотидными заменами для удаления консенсусных участков сплайсинга мРНК. Второй вариант, замену кодона эмбрионального типа (GCE), конструировали выравниванием аминокислотной последовательности переменного участка с генами эмбрионального типа, идентифицируя наиболее близкое совпадение гена эмбрионального типа, и заменой кодонов в исходной кодирующей последовательности синонимическими кодонами, которые используют в гене эмбрионального типа. В положениях, где аминокислотный остаток не имел совпадений с генами эмбрионального типа, кодоном, который используется с наибольшей частотой в высоко экспрессируемых белках человека, заменяли исходный кодон. Третий вариант кодонов конструировали заменой исходных кодонов антитела кодоном, который используется с наибольшей частотой в высоко экспрессируемых белках человека. Каждый вариант кодона экспрессировался, как определяли посредством временной трансфекции в клетках HEK293 и клетках СНО. Этот результат показывает, что в этих, и вероятно других клетках-хозяевах могут быть установлены трансфектанты стабильной клеточной линии, и вариант с наиболее высокой экспрессией можно использовать для разработки продуцирующей клеточной линии. mAb оценивают, как описано в примере 11, в дополнение к другим функциональным анализам и анализам биохимических и биофизических свойств. В табл. 9 показаны переменные нуклеотидные последовательности тяжелой и легкой цепей для вариантов mAb 5040^{Q/EV} и 3759^{EQ/QS}.

Для целей этого изобретения, 70-100% аминокислотную или нуклеотидную идентичность последовательностей (т.е. 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 или любой диапазон или значение в этом диапазоне) определяют с использованием пригодного компьютерного алгоритма, как известно в данной области.

Пример 13. Антитело против IL23p19 в модели псориаза на мышах.

Вариант mAb 3759^{EQ/QS} оценивали в отношении его способности подавлять признаки псориаза в гуманизированной модели на мышах. Неповрежденную кожу от пациентов с псориазом трансплантировали иммунодефицитным мышам и, после приживления трансплантатов, запускали псориазический процесс посредством внутрикожной инъекции аутологичных активированных Т-клеток. Мышей лечили внутривенным введением один раз в неделю 10 мг/кг антитела. Контрольным мышам вводили носитель или циклоспорин А. Массу тела мышей оценивали раз в неделю.

После 3 недель введения мышам умерщвляли и трансплантированные биоптаты кожи оценивали в отношении толщины эпидермы, цитокератина-16 и количества положительных по HLA-DR и Ki-67 клеток в эпидермисе.

Это исследование показывает, что антитело против IL23p19 является эффективным в отношении ингибирования утолщения эпидермы и пролиферации кератиноцитов (например, окрашивание Ki-67) в дозировка 10 мг/кг. Степень ингибирования была сравнима с ингибированием, достигаемым с помощью циклоспорина А. Введение антитела не было ассоциировано со значительным подавлением HLA-DR или цитокератина-16. Введение циклоспорина А также не оказывало значимого эффекта на HLA-DR и цито-

кератин-16. Эти данные подтверждают, что антитело может быть эффективным для подавления гиперплазии эпидермы при псориазе. Гуманизированная модель псориаза на мышах основана на экспериментах Wrono-Smith et al., 1996 Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. *J. Clin. Invest.* 98:1878-1887. Эта модель представляет собой единственную доступную доклиническую модель, в которой эффекты лекарственных средств на развитие псориазического повреждения человека можно подвергать мониторингу *in vivo*. Для осуществления этой модели, неповрежденные биоптаты кожи (5 мм) от пациентов-добровольцев с псориазом трансплантируют иммунодефицитным реципиентным мышам.

Одновременно, пациенты служат донорами крови, из которой выделяют моноклональные клетки периферической крови (РВМС) и замораживают. РВМС стимулируют суперантигеном в течение 48 ч перед внутрикожной инъекцией в аутологичную трансплантированную кожу (3 недели после трансплантации). Инъецированные активированные клетки реагируют с кожей человека, что приводит к гиперпролиферации эпидермиса. Очаг повреждения характеризуется удлиненными выступами (нерегулярными и регулярными) и выраженной гиперплазией эпидермиса кератиноцитов с измененной дифференцировкой.

Материалы и способы.

Тестируемое вещество.

Молекулярная масса Ab: 150,000 Да.

Растворимость в воде: 20 мг/мл.

Сопровождающий контроль: PBS.

Контрольное соединение: циклоспорин А.

Молекулярная масса: 1202,63 Да.

Поставщик: Wako GmbH.

Номер партии: EWP5926.

Каталожный номер: 039-16301.

Условия хранения: 2-10°C.

Носитель для контрольного соединения:

Гидроксипропилцеллюлоза (HPC).

Поставщик: Nippon Soda Co., Ltd Japan.

Номер партии: HPC-L 9004-64-2.

Каталожный номер: NDA-1011.

Условия хранения: ±21°C.

Тестируемое вещество тестировали в гуманизированной модели псориаза на мышах в одном веществе состава. Соединения хранили при 4°C до применения. Циклоспорин А и раствор гидроксипропилцеллюлозы (носитель CsA) предоставляли и изготавливали в TNO. 0,5% гидроксипропилцеллюлозу изготавливали в дистиллированной воде и стерилизовали при температуре 120°C в течение 25 мин. После стерилизации, HPC хранили при 4°C до применения. Непосредственно перед внутрибрюшинным введением, требуемое количество CsA взвешивали и смешивали с использованием ступки. Стабильную гомогенную суспензию получали смешиванием требуемого количества размолотого CsA с носителем HPC до общего объема 200 мкл на мышь (ресуспендировали в течение нескольких секунд перед введением).

Мыши.

Номенклатура: NiH-lyst^{bg} Foxnl^{nu} Vtk^{xid}, код штамма 201 (гомозиготный).

Источник: наиболее часто называемый NIH-III, был разработан в National Institutes of Health, Bethesda. В дополнение к гену nude, который приводит к отсутствию тимуса и Т-клеточной функции, эта мышь обладает двумя другими мутациями, важными для регуляции функции иммунной системы. Их обозначали как x-linked immune defect (xid) и beige (bg). Мыши beige имеют тяжелый дефицит естественных киллерных (NK) клеток (Roder et al., 1979). Мыши с мутацией xid имеют функциональные дефекты в В-лимфоцитах (Scher et al., 1980). Этот тройной дефицит оказывает тот эффект, что эти мыши могут служить в качестве хозяев для опухолевых линий, которые не будут расти или растут очень медленно у мышей nude. Пересадка мышам bg-ni-xid гемопоэтических стволовых клеток человека описана Kamel-Reid and Dick (1988). Степень Т-независимых дефицитов В-лимфоцитов и NK-клеток у NIH-III не была определена. Цвет: лишенные волос, кожа, пигментированная от светло-серого до темно-серого цвета.

Самцы мышей BNX (NIH III, гомозиготные), в возрасте 8 недель поставлялись Charles River (US) и доставлялись в TNO. Их акклиматизировали к лабораторным условиям в течение по меньшей мере 7 суток перед трансплантацией. Мышей держали в вентилируемых комнатах, с воздухообменом, составляющим 9-11 в час, и поддерживали при температуре 22±3°C и относительной средней влажности 55% (40-70%). Освещение было искусственным с последовательностью 12 ч света и 12 ч темноты. Перед трансплантацией мышей по отдельности содержали в клетках из макролона 2 типа на опилках. После трансплантации мышей содержали по отдельности в вентилируемых клетках. Данные о состоянии здоровья этих мышей, полученные от поставщика, показали отсутствие патогенов в этих животных.

Перед трансплантацией у мышей их подвергали акклиматизации в течение 1 недели. После трансплантации, мышей с приживленными трансплантатами (как оценивали при макроскопическом обследовании в отношении общего внешнего вида, повреждений, ран, уплотнения и покраснения) случайным

образом разделяли по группам введения. Использованные критерии рандомизации представляли собой предотвращение:

- 1) объединение совпавших донорных биоптатов в группу.
- 2) распределение совпавших донорных биоптатов в группы с повышающимися дозами, насколько это возможно.

Шестидесят одну подвергнушуюся трансплантации мышшь (всего из 72 подвергшихся трансплантации мышшей) считали пригодными для включения в исследование и это привело к 9 группам мышшей (от 6 до 7 мышшей на группу). Затем активированные РВМС от пациентов ($0,5 \times 10^6$ /трансплантат) инъецировали в аутологичные трансплантаты (0 сутки). Как правило, фенотипы активированных РВМС (после культивирования в течение 48 ч и перед инъекцией) как регулярно определяли проточной цитометрией (не оценивали в этом исследовании) показывают клетки CD^{3+} (20-85% от общей популяции клеток), клетки CD^{4+} (20-60% от общей популяции $CD3$), клетки CD^{8+} (20-55% от общей популяции $CD3$), $CD^{4+}CD^{8+}$ (5-20% от общей популяции $CD3$), клетки CD^{25+} (30-65% от общей популяции $CD3$), клетки $HLA-DR^+$ (5-20% от общей популяции $CD3$), объединенные клетки $CD^{69+}HLA-DR^+$ (10-55% от общей популяции $CD3$), клетки CD^{54+} (50-85% от общей популяции $CD3$), и клетки CD^{49d+} (10-60% от общей популяции $CD3$). Кроме того, большинство маркеров активации и миграции, упомянутых выше, активируются по сравнению с 0 сутками или после 1 суток активации SEB *in vitro*.

Мышам проводили введение с -1 суток до 21 суток внутрибрюшинным введением 200 мкл соединения или носителя. В контрольной группе перорально вводили CsA. Эффект введения антитела против IL23p19 оценивали в исследовании в течение 21 суток при еженедельном внутрибрюшинном дозировании 10 мг/кг. Мыши, которым вводили носитель (PBS), служили в качестве отрицательного контроля. Циклоспорин А (20 мг/кг, перорально) вводили один раз в сутки в течение 21 суток, и он служил в качестве положительного контроля. Массу тела измеряли раз в неделю, начиная за трое суток до начала лечения. Параметры исхода:

- толщина эпидермиса (мкм);
- HLA-DR (эпидермис);
- Ki-67 (эпидермис);
- цитокератин-16 (эпидермис).

Получение биоптатов кожи и трансплантация

От всех доноров кожи получали информированное согласие. Все взрослые пациенты были диагностированы дерматологом как пациенты, страдающие псориазом. Пациенты не страдали обширным псориазом и их показатель PASI не превышал 6. Пациентам не проводили фототерапию или какую либо системную терапию (например, метотрексатом, циклоспорином или любой направленной на TNF- α терапией). Пациентов принимали в качестве доноров, если они местно применяли кортикостероиды, когда необходимо, или основные кремы для профилактики высыхания кожи. Пол, возраст или анамнез течения/анамнез жизни заболевания не были частью критериев для включения или исключения.

От каждого пациента с псориазом получали три биоптата неповрежденной кожи (диаметром 5 мм) и приблизительно 30 мл крови. После забора биоптатов кожи и удаления подкожного жира, биоптаты кожи хранили в стерильных пробирках, содержащих стерильные хирургические бинты, смоченные физиологическим раствором при температуре приблизительно 4°C. Перевозку кожи и крови в лабораторию проводили в течение 7 ч после сбора. Мононуклеарные клетки периферической крови (РВМС) выделяли из крови центрифугированием в градиенте плотности и замораживали при -140°C.

Биоптаты кожи трансплантировали иммунодефицитным мышам BNX на уровне поверхностного слоя кожи (задняя область шеи) после хирургического удаления кожи мышшей по всей толщине. Биоптатами кожи человека заменяли частично удаленную кожу мышши и покрывали хирургической лентой Orsite (Smith and Nephew, Hoofddorp, The Netherlands) с последующим регулярным нанесением хирургической ленты. Мышей проверяли один раз в сутки в отношении целостности бинтов. В случае потери или повреждения бинта, сразу использовали новый бинт.

Через три недели после трансплантации биоптаты хорошо встраивались в ткань мышши; они сохраняли все человеческие свойства и не зарастали тканью мышши. Перед разделением случайным образом мышшей в различные группы по введению, биоптаты подвергали скринингу и регистрировали их общий внешний вид, повреждения или раны и отличия окраски кожи биоптатов, принадлежащих донору. После этого в исследование включали только интактные биоптаты и их случайным образом разделяли, как описано выше. Биоптаты не включали в случае повреждения/ран или в случае биоптатов, принадлежащих одному донору, значительно отличающихся по окраске кожи. Затем в эти встроенные и включенные в исследование трансплантаты инъецировали активированные аутологичным суперантигеном РВМС (см. ниже).

Донорные мононуклеарные клетки периферической крови

РВМС от доноров культивировали в течение 48 ч в IMDM (Biowhitaker, серия № 2МВ0103), дополненной эмбриональной телячьей сывороткой (10%) и стимулированной 1 мкг/мл энтеротоксином В Staphylococcus (SEB; Toxin Technology, Florida, USA; Серия № 51497В), в присутствии 40 Е/мл рекомбинантного IL-2 человека (Preprotech Inc, поставляемый Tebu-bio, каталожный № 200-02). Клетки культивировали в 24-луночных культуральных планшетах с плоским дном (Costar). После культивирования в течение 48 ч, клетки собирали и промывали два раза PBS, содержащим 0,5% бычий сывороточный альбумин и один раз только PBS. РВМС ресуспендировали в PBS в количестве 5×10^6 жизнеспособных клеток на мл и 100 мкл инъецировали внутривожно в аутологичные трансплантаты кожи для инициации аномальной псориатической дифференцировки.

Замораживание тканей биоптатов и коллекции сыворотки

Для получения человеческих тканей биоптатов, мышей умерщвляли асфиксией посредством CO₂. Биоптаты вырезали с сохранением небольшой границы прикрепленной кожи мыши. Сразу после рассечения, биоптаты погружали в Tissue-Тес и замораживали в жидком азоте для хранения в алюминиевых контейнерах с этикетками. Сразу после умерщвления, кровь собирали в не вызывающие коагуляции пробирки посредством пункции сердца. Образцам крови позволяли сворачиваться при комнатной температуре в течение 45 мин. Перед центрифугированием (1400 об/мин в течение 10 мин при 4°C), образцы помещали в тающий лед на один час. Сразу после центрифугирования супернатанты сыворотки собирали и хранили при -80°C.

Гистологическая оценка.

Проводили гистологическое окрашивание замороженных тканей. Изготавливали диагональные поперечные срезы (10 мкм), охватывающие все слои кожи (не показано: расположенные в верхней части рогового слоя и эпидермиса трансплантированного биоптата; ткани мышцы формируют основу для трансплантированной кожи человека).

Окрашивание гематоксилином для определения толщины эпидермиса

Три среза, выбранных из центра биоптата, окрашивали гематоксилином-эозином и оценивали при 200-кратном увеличении. Измерение толщины проводили с использованием системы для обработки и анализа изображений LeicaQWin (Leica Imaging Systems Ltd, version 2.2a, Cambridge, England). Толщину уплотнения измеряли в качестве репрезентативного примера развития повреждений. Если имелись явные уплотнения (или области между уплотнениями), одно среднее значение приводится, исходя из предположения, что эпидермис представляет собой одно длинное уплотнение. Из каждого среза результат минимум из 4 микроскопических полей включали в показатель средней толщины. Из этого среднюю толщину эпидермиса ("скорректированную") вычисляют коррекцией по микроскопическому увеличению.

Окрашивание HLA-DR

Два среза на биоптат окрашивали антителом мыши против HLA-DR человека (антиген NCL-LN3 Nova Castra, партия 109207) и оценивали при микроскопическом увеличении 400×. Общее количество положительных клеток в эпидермисе в репрезентативных срезах определяли и представляли в качестве количества положительных по HLA-DR клеток на поле. Для каждого среза результат минимум из 4 микроскопических полей включали в показатель среднего значения. [Иммуногистохимическое окрашивание эпидермы и дермы очага повреждения пациентов с псориазом показывает повышенную экспрессию HLA-DR, обеспечивая дополнительно подтверждение гипотезы о том, что иммунологические механизмы играют важную роль в патогенезе псориаза, см. также Gotlieb et al., J. Exp. Med, 1986].

Окрашивание Ki-67 (пролиферация кератиноцитов)

Два среза окрашивали антителом мыши против Ki-67 человека (BD Biosciences 556003) и оценивали при микроскопическом увеличении 400×. Общее количество положительных клеток в эпидермисе в репрезентативных срезах определяли и представляли в качестве количества положительных по Ki-67 клеток на мм². Для каждого среза результат минимум из 4 микроскопических полей включали в показатель среднего значения. [Ki-67 представляет собой специфичный к клеточному циклу белок, который может выявлять активно делящиеся клетки. В псориатических повреждениях кожи Ki-67 представляет собой высоко специфичный маркер гиперпролиферации кератиноцитов или эпидермиса, которая является ключевым признаком псориаза, см. также Wraight et al., J. Invest. Dermatol, 1997].

Окрашивание СК-16 (экспрессия цитокератина 16)

Один репрезентативный срез окрашивали антителом мыши против цитокератина-16 человека (Chemicon, каталожный № CBL273, exp date Feb 2007) и оценивали при микроскопическом увеличении 400×. Экспрессию цитокератина-16 в эпидермисе определяли в соответствии со способом измерения с оценкой распределения СК-16 по 3-бальной шкале, описанной de Jongh et al., J. Invest Dermatol 125:1163-1173, 2005. В соответствии с оценочной шкалой, показатель 0 соответствует отсутствию СК-16, показатель 1 соответствует неоднородному распределению СК-16 и показатель 2 соответствует непрерывному распределению СК-16. Для каждого среза биоптата оценивали полную длину эпидермиса. Определяли и представляли совокупные показатели и встречаемость на группу. [Регуляция дифференцировки кератиноцитов особенно важна при псориазе и одним из важных маркеров гиперпролиферативной и дифферен-

цирующей псориатической кожи является цитокератин-16, см. также Bigliardi et al., J. Invest. Dermatol, 2000].

Статистические анализы

Основные статистические анализы проводили следующим образом: значимость отличий между всеми группами по лечению тестировали с использованием вариационного анализа (ANOVA). После каждого значимого ANOVA следовали тесты LSD (наименьшего значимого отличия) с целью определения значимости отличий между группой введения и контрольной группой. Весь статистический анализ проводили с использованием статистического программного обеспечения SPSS 11.5 для Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Интерпретация значений p :

$p < 0,05$ указывает на статистически значимые отличия;

$0,05 < p < 0,10$ рассматривали как тенденцию;

$p > 0,10$ считали незначимым.

Мыши, которым вводили PBS, представлены как "Носитель". Мыши, которым вводили 20 мг/кг циклоспорина А, представлены как "CsA (20 мг/кг)".

Трансплантация

Для этого исследования, от каждого из 24 пациентов с псориазом получали три биоптата неповрежденной крови и от 26 до 30 мл крови. Таким образом, всего трансплантировали 72 биоптата. Через три недели после трансплантации 11 трансплантатов считали непригодными для включения в исследование. Таким образом, в это исследование можно было включить всего 61 мыш (85%). Для деления случайным образом и критериев включения см. также "2.2 схема исследования" и "2.5 препараты биоптатов кожи и трансплантация".

Вследствие фонового окрашивания (даже после повторного окрашивания свежих новых образцов тканей) некоторые срезы, окрашенные по HLA-DR, нельзя было оценить. Окрашенные контроли показали отсутствие неравномерности (см. ниже) и, к сожалению, этому нет объяснения. Контроли, которые использовали, представляли собой контрольный срез ткани, который показал результаты, сходные с результатами предшествующих экспериментов, контрольный срез ткани поврежденной кожи, который показал соответствующую экспрессию HLA-DR, как в предшествующих исследованиях, и в заключение, на гистологические стекла был включен срез ткани с контрольным антителом изотипа IgG2b, который не показал ложноположительных результатов или высокого фонового окрашивания.

Характеристики тестируемой модели

Гистологическая оценка мышей, которым вводили носитель, через 21 сутки после инъекции PBMC, активированных посредством SEB, показала среднюю толщину эпидермиса $176,8 \pm 28,1$, $29,7 \pm 8,0$ положительных по Ki-67 клеток на мм^2 в эпидермисе, $14,9 \pm 7,1$ положительных по HLA-DR клеток на мм^2 в эпидермисе и суммарный показатель 6 для экспрессии СК-16 в эпидермисе.

Введение CsA приводило к значимому снижению толщины эпидермиса до $105,5 \pm 11,3$ мкм ($p=0,003$) по сравнению с мышами, которым вводили носитель. Эти результаты соответствуют 40% снижению по сравнению с носителем. Количество положительных по Ki-67 клеток значительно снизилось до $15,6 \pm 4,3$ на мм^2 ; $p=0,027$.

Количество положительных по HLA-DR клеток снижалось до $9,6 \pm 4,6$ на мм^2 , но этот эффект не достиг статистической значимости. Экспрессия СК-16 снизилась до суммарного показателя 3, но этот эффект не достиг значимости. Ни одно из введений не показало значимых изменений массы тела по сравнению с носителем.

Эффект лечения антителом

Толщина эпидермиса

Лечение антителом против IL23p19 показало значительное подавление толщины эпидермиса ($120,0 \pm 17,4$ мкм) при дозе 10 мг/кг ($p=0,020$).

Ki-67

Внутрибрюшинное введение антитела против IL23p19 в дозировке 10 мг/кг привело к значимому подавлению пролиферации кератиноцитов ($p=0,010$).

HLA-DR

Введение не было ассоциировано со значительным подавлением HLA-DR.

СК-16

Хотя экспрессия СК-16 была отчетливо ассоциирована с ингибиторным эффектом после введения CsA и антитела против IL23p19, эффект введения не достиг статистической значимости.

Заключения

В этом исследовании, антитело против IL23p19, вводимое внутрибрюшинно один раз в неделю в дозировке 10 мг/кг, оценивали в отношении его эффекта на развитие псориаза в неповрежденной коже от пациентов с псориазом, трансплантированной иммунодефицитным мышам.

Лечение начинали за 1 сутки до инъекции аутологичных активированных Т-клеток и продолжали до 21 суток после инъекции PBMC. Введение PBS (носитель) служило в качестве отрицательного кон-

троля. Циклоспорин А (20 мг/кг, перорально) служил в качестве положительного контроля. Оценивали массу тела, толщину эпидермиса, пролиферацию кератиноцитов (положительные по Ki-67 клетки), показатель цитокератина-16 и количество положительных по HLA-DR клеток.

Введение CsA значительно подавляло утолщение эпидермиса и пролиферацию кератиноцитов (положительные по Ki-67 клетки) на 40% ($p=0,007$) и 53% ($p=0,027$), соответственно, по сравнению с контролем в виде носителя. Введение антитела против IL23p19 в количестве 10 мг/кг показало значимый эффект на подавление эпидермального утолщения на 32% и пролиферацию кератиноцитов (Ki-67) на 41%, по сравнению с контролем в виде носителя.

Ни один из способов введения не показал значимого ингибирования экспрессии HLA-DR или СК-16. Отсутствие эффективности CsA или любого из соединений в отношении экспрессии HLA-DR может быть ассоциировано с недостаточной иммунологической активностью, как определяют, главным образом, по экспрессии HLA-DR во время умерщвления мышей, через 21 сутки после инъекции РВМС. По сравнению с ранее проводимыми исследованиям, результаты показывают меньшую экспрессию HLA-DR без существенного объяснения. Кроме того, ни одно из соединений не показало эффекта на массу тела. Массу тела оценивали с учетом состояния животного. Снижение массы или ингибирование роста является обычным побочным эффектом, главным образом, введения мышам CsA или иммунодепрессивных средств. В общем, лечение антителом против IL23p19 кажется перспективным подходом для лечения псориаза.

Введение	Толщина эпидермиса (мкм) Среднее значение \pm SEM	Ki-67 (1) Среднее значение \pm SEM	HLA-DR (1) Среднее значение \pm SEM	Суммарный показатель и встречаемость СК-16 (2)	Масса тела в конечный момент времени (% от исходной массы) \pm SD
Носитель	176.8 \pm 28.1	29.7 \pm 8.0	14.9 \pm 7.1	6 (4/7)	109.9 \pm 0.7
CsA (20 мг/кг)	105.5 \pm 11.3 ^s	15.6 \pm 4.3 ^s	9.6 \pm 4.6	3 (2/7)	105.9 \pm 2.1
Антитело против IL23p19 (10 мг/кг)	120.0 \pm 17.4 ^{&}	12.3 \pm 3.7 ^{&}	7.9 \pm 4.9	3 (2/6)	112.3 \pm 1.0

1. Количество положительных клеток на мм² эпидермиса.

2. Гистологическая система оценки в соответствии с Jongh et al., J. Invest Dermatol 125:1163-1173, 2005.

Толщина эпидермиса:

ANOVA $P=0,010$;

последующие тесты LSD:

^s $p=0,003$ по сравнению с носителем;

* $p=0,001$ по сравнению с носителем;

** $p=0,025$ по сравнению с носителем;

$p<0,001$ по сравнению с носителем;

$p=0,063$ по сравнению с носителем;

[&] $p=0,020$ по сравнению с носителем.

Ki-67:

ANOVA $P=0,009$;

последующие тесты LSD:

^s $p=0,027$ по сравнению с носителем;

* $p=0,008$ по сравнению с носителем;

** $p=0,048$ по сравнению с носителем;

$p=0,007$ по сравнению с носителем;

$p=0,031$ по сравнению с носителем;

[&] $p=0,010$ по сравнению с носителем.

HLA-DR:

ANOVA $P=0,768$.

СК-16:

ANOVA $P=0,573$.

BODY WEIGHT:

ANOVA $P=0,691$.

Будет понятно, что это изобретение можно применять на практике иным образом, чем конкретно описано в предшествующем описании и примерах. Возможно множество модификаций и вариантов по

настоящему изобретению с учетом представленных выше указаний, и, таким образом, они находятся в объеме прилагаемой формулы изобретения.

Таблица 1

MOR0#	Специфичный ELISA: антигены в растворе и иммобилизованным Fab					Biacore (захват Fab)	
	IL-23 CNTO	IL-23 R&D	IL-12 CNTO	IL-12 R&D	P40 R&D	IL-23 CNTO	IL-12 CNTO
4083	+	н/о	-	н/о	н/о	16	нет связывания
4086	+	н/о	-	н/о	н/о	36	нет связывания; n:3
4185	+	н/о	-	н/о	н/о	79	нет связывания
4190	+	н/о	-	н/о	н/о	11	нет связывания
4205	+	+	-	-	-	140	небольшое связывание*
4217	+	+	-	-	-	41	небольшое связывание*
4235	+	+	-	-	-	65	небольшое связывание*
4491	+	+	-	-	-	190	нет связывания
4647	+	+	-	-	-	12	нет связывания
4649	+	+	-	-	-	7	нет связывания
4651	+	+	-	-	-	160	нет связывания
4655	+	+	-	-	+	66	нет связывания
4658	+	+	-	-	-	11	нет связывания
Fab12A	+	+	+	+	+	1.1	0.6

Таблица 2
IC₅₀ Fab-кандидатов в анализе hrIL 23/hIL-23R

MOR0#	IC50 [нМ]
4083	4.6 +/- 3.9
4086	Отсутствие полного ингибирования
4185	280
4190	4.8 +/- 2
4205	38
4217	16
4235	190
4491	10 ~ 50% ингибирование
4647	2.1
4649	0.2 +/- 0.2
4651	36
4655	286
4658	0.7
IL-23R-Fc	1.8 +/- 1.8

Охарактеризация исходных антител в форме mAb

mAb	Связывание IL-23	Биохимический анализ связывания рецептора			Анализ pSTAT3	Биологический анализ IL-12 в NK92MI	Анализ индуцируемой IL-23 продукции IL-17		
		IL-12/IL-12Rb1	IL-23/IL-12Rb1	IL-23/IL-23R			Результаты при указанной концентрации	IFN γ в клетках NK92MI	Нейтрализация hrIL-17
4083 (к)	p19	-	-	+	+/- at10 + at 20	-	+	+	+
4190 (к)	p19	-	-	+	+ at 10	-	+	+	+
4649 (λ)	p19	-	-	+	+/- at 1 + at 10	-	+	+	+
4658 (λ)	p19	-	-	+/-	-/+ at 10	-	-/+	+	+
4205	p19	-	-	-/+	+ at 10	N/d	-	N/d	N/d
4217	p19	-	-	-/+	- at 10	N/d	-/+	N/d	N/d
4185	p19	-	-	-/+	- at 7	N/d	-	N/d	N/d
4235	p19	-	-	-/+	- at 10	N/d	-	N/d	N/d
4090	p19	-	-	-	N/d	N/d	-	N/d	N/d
4647	p19	-	-	+/-	- at 10	-	-	N/d	N/d
4491	p19	-	-	+/-	- at 10	-	-	N/d	N/d
4651	p19	-	-	+/-	- at 10	-	-	N/d	N/d
4085	p19*	-	-	-	- at 3	-	-	N/d	N/d
4086	p19*	-	-	-	- at 5	N/d	***	N/d	N/d
4655	p19*	-	-	-	- at 10	-	****	N/d	N/d
4193	IL-12/IL-23p40	-	-	-/+	- at 6	+	+	N/d	N/d
4201	IL-12/IL-23p40	-	+ нет титрования	-/+	N/d	+	+	N/d	N/d
4704	IL-12/IL-23p40	-/+**	-/+	-/+	+ at 10	+	+	N/d	N/d

Символ	Описание
-	Отсутствие ингибирования
-/+	Небольшое ингибирование
+/-	Слабое неполное ингибирование
+	Ингибирование
*	Не связывался со связанным с His-tag hrIL-23 (от R&D Systems)
**	Лучше ингибирует R&D IL-12, чем CNTO IL-12
***	Вызывает гибель клеток в высокой концентрации
N/d	Не проводили

Таблица 4А

Последовательности CDR Hc V-области антител-кандидатов

Клон #	VH	H-CDR1 (SEQ ID NO:)	H-CDR2 (SEQ ID NO:)	H-CDR3 (SEQ ID NO:)	Примечания
4083	1A	NYAIS (1)	GIIPMFGYANYAQKFQG (7)	DIYAGMDV (40)	Основной вариант
5028			GIIPMFGYANYAQKFQG (8)		Созревание аффинности
4190	1A	SNYIS (2)	GIIPIFGHANYAQKFQG (9)	SKKMGYGGWTYPLMM FDL (41)	Основной вариант
5033			GIIPINANYAQKFQG (10)		Созревание аффинности
5034			GIIPNCGYANYAQKFQG (11)		Созревание аффинности
5036			GIIPNCGYANYAQKFQG (12)		Созревание аффинности
5037			GIIPNCGYANYAQKFQG (13)		Созревание аффинности
5038			GIIPNCGYANYAQKFQG (14)		Созревание аффинности
5040			GIIPNCGYANYAQKFQG (15)		Созревание аффинности
4190x			Z ₁ Z ₂ Z ₃ Z ₄ Z ₅ Z ₆ Z ₇ Z ₈ Z ₉ Z ₁₀ YAKFQG!! (16)		Предсказанный
4205	5	NYWIS (3)	WIRPGSDTRYSPSFEQ (17)	HYYGMDY (42)	Основной вариант
4217	3	1.1.1.1.1 sywit (4)	VSYLSSSGSSTYYADSVK G (18)	GTWFSFGNYFAN (43)	Основной вариант
4649	5	NYWIG (5)	IIDPSNSYTNYSPPSFEQ (19)	WYKPFVDV (44)	Основной вариант
4649r			IIDPSNSYTRYSPPSFEQ (20)		Δ участок гликозилирования
4649r ²			IIDPSNSYTRYSPPSFEQ		Плюс замены E1
4649d			IIDPSNSYTDYSPPSFEQ (21)		Δ участок гликозилирования
5041			IIDPSNSYTVYSPPSFEQ (22)		Созревание аффинности
5042			IIDPSNSYTVYSPPSFEQ (23)		Созревание аффинности
5043			IIDPSNSYTVYSPPSFEQ (24)		Созревание аффинности
5044			IIDPSNSYTVYSPPSFEQ (25)		Созревание аффинности
			IIDPSNSYTVYSPPSFEQ (26)		Созревание аффинности
5045			IIDPSNSYTVYSPPSFEQ (26)		Созревание аффинности
5046			IIDPSNSYTVYSPPSFEQ (27)		Созревание аффинности
4649x			IIXPX ₁ X ₂ SX ₃ TX ₄ YSPSFGG** (28)		Предсказанный
4658	3	SFGMS (6)	NISSSGSS-- TYYADSVK G (29)	YWGTPYLMQFDN (45)	Основной вариант
5039			NIEHKYLNATYYAASVK G (30)		Созревание аффинности
5047			NIEHKYLGATSYAASVK G (146)		Созревание аффинности
5048			NIEHKYNGYTYAAGVK G (31)		Созревание аффинности
5049			NIEHKYLSYTYAASVK G (32)		Созревание аффинности
5050			NIEHKYIGYTYAASVK G (33)		Созревание аффинности
5051			NIEHKYISYTYAASVK G (34)		Созревание аффинности
5052			NIEHKYISYTYAASVK G (35)		Созревание аффинности
5053			NIEHKYISYTYAASVK G (36)		Созревание аффинности
5054			NIEHKYISYTYAASVK G (37)		Созревание аффинности
5055			NIEHKYISYTYAASVK G (38)		Созревание аффинности
5056			NIEHKYISYTYAASVK G (39)		Созревание аффинности

Все антитела, экспрессированные как Fab, имеют Q в 3 остатке в Vh, а при экспрессии в качестве mAb, большинство из них имеют E в 3 остатке.

** X₁ представляет собой D или S; X₂ представляет собой S, V, D или T; X₃ представляет собой N, S или G; X₄ представляет собой Y, W, T, H, V, S или A;

!! Z₁ представляет собой G, I или L; Z₂ представляет собой I или S; Z₃ представляет собой I, P, N или D; Z₄ представляет собой P, G или A; Z₅ представляет собой I, M, P, T, H, N или V; Z₆ представляет собой

F, I, G или L; Z₇ G или I; Z₈ представляет собой H, Y, N или G; Z₉ представляет собой A или T; Z₁₀ представляет собой N, W или Y;

++ a₁ представляет собой S или A; a₂ представляет собой T или G; a₃ представляет собой P или L; a₄ представляет собой S или N; a₅ представляет собой S, M или L; a₆ представляет собой I или V;

b₁ представляет собой T, F, D или S; b₂ представляет собой S, I, A, T, R или L; b₃ представляет собой N, T, L, S или G; b₄ представляет собой T, Y, S или I; b₅ представляет собой P или L; b₁ представляет собой F или P.

Таблица 4В

Последовательности CDR Lc V-области антител-кандидатов

Клон #	VL	L-CDR1 (SEQ ID NO:)	L-CDR2 (SEQ ID NO:)	L-CDR3 (SEQ ID NO:)	Примечания
4083	κ3	RASQSVLGNLYLA (46)	GASSRAT (52)	HQYGSISTT (58)	Основной вариант
5267				QQYSHLLIT (59)	Созревание аффинности
5268				QQYSHISLT (60)	Созревание аффинности
5269				QQFAHILLT (61)	Созревание аффинности
4190	κ3	RASQSVSSNYLA (47)	YASRRAT (53)	QQTSTNPFT (62)	Основной вариант
4190 ^{EV}				QQTSTNPFT	Плюс замены E1 и V86
5029				QQFITYLPT (63)	Созревание аффинности
5030				QQDALSPFT (64)	Созревание аффинности
5031				QQDRGTPFT (65)	Созревание аффинности
5032				QQSLNIPFT (66)	Созревание аффинности
5057				QQDTSSPFT (67)	Созревание аффинности
4190x				QQb ₁ b ₂ b ₃ b ₄ b ₅ b ₆ FT## (68)	Предсказанный
4205	λ1	SGSSSNIGSYV N (48)	GNTHRPS (54)	QTYASLGPGEV (69)	Основной вариант
4217	κ1	RASQSIFYNLA (49)	GASNRAT (55)	QQYSSEPVT (70)	Основной вариант
4649	λ1	TGSSSNIGSGYD VH (50)	GNSKRPS (56)	SSWT--PSSVV (71)	Основной вариант
5058				SSWTDTPNMIV (72)	Созревание аффинности
5059				ASWTDGLSLVV (73)	Созревание аффинности
5059 ^{QS}				ASWTDGLSLVV	Плюс замены Q1, S2
4649x				a ₁ SWTDa ₂ a ₃ a ₄ a ₅ a ₆ V+ (74)	Предсказанный
4658	λ2	TGTSSDVGGYNS VS (51)	SVSSRPS (57)	SSYDTNKPLVV (75)	Основной вариант
5060				GSYDVYGRFYV (76)	Созревание аффинности
5061				SSYFYLQRIV (77)	Созревание аффинности
5062				QTYYFSYSGPV (78)	Созревание аффинности
5063				GSWDPIFSYEV (79)	Созревание аффинности

Таблица 4С

Продуцированные, очищенные и оцененные антитела

Название Ab	VH	VL	Fab*#	MAb*	Примечания
4083	4083	4083	x	x	
5028	5028	4083	x	x	
5267**	4083	5267	x	(in progress)	
5268**	4083	5268	x	(in progress)	
5269**	4083	5269	x	(in progress)	
4190	4190	4190	x	x	
5033	5033	4190		x	
5034	5034	4190	x	x	
5036	5036	4190	x	x	
5037	5037	4190		x	
5038	5038	4190	x	x	
5040	5040	4190		x	
5040 ^{Q/EV}	5040	4190 ^{EV}		x	Обратная замена Vh-Q3 в mAb
5029**	4190	5029		x	
5030**	4190	5030		x	
5031**	4190	5031		x	
5032**	4190	5032		x	
5057**	4190	5057		x	
4205	4205	4205	x	x	
4217	4217	4217	x	x	
4649	4649	4649	x	x	
5041	5041	4649	x	x	
5042	5042	4649	x	x	
42-58	5042	5058		x	Пара 5058 VL с VH, лишенном участка гликозилирования CDR2
42-59	5042	5059		x	Пара 5059 VL с VH, лишенном участка гликозилирования CDR2
5043	5043	4649	x	x	
5044	5044	4649	x	x	
5045	5045	4649	x	x	
45-58	5045	5058		x	Пара 5058 VL с VH, лишенном участка гликозилирования CDR2
45-59	5045	5059		x	Пара 5059 VL с VH, лишенном участка гликозилирования CDR2
5046	5046	4649	x	x	
5058	4649	5058	x	x	
5059	4649	5058	x	x	
3758	4649g	5058		x	
3759	4649g	5059		x	
3759 ^{EO/GS}	4649 ^E	5059 ^{GS}		x	Обратная замена Vh-Q3 в mAb
3658	4649d	5058		x	
3659	4649d	5059		x	
4658	4658	4658	x	x	
5039	5039	4658	x	x	
5047	5047	4658	x	x	
5048	5048	4658	x	x	
5049	5049	4658	x	x	
5050	5050	4658	x	x	
5051	5051	4658		x	
5052	5052	4658	x	x	
5053	5053	4658	x	x	
5054	5054	4658		x	
5055	5055	4658	x	x	
5056	5056	4658	x	x	
5060	4658	5060	x	x	
5061	4658	5061	x	x	
5062	4658	5062	x	x	
5063	4658	5063	x	x	

* За исключением указанного в столбце "Примечания", положение 3 в тяжелой цепи представляло собой Q в Fab и E в mAb.

** Легкие цепи каппа после созревания аффинности 4083 и 4190 содержат замену T на V относительно исходных последовательностей в FW3 (FAVYYC). V представляет собой остаток эмбрионального типа в этом положении.

Несколько Fab, приведенных в качестве Fab "после созревания аффинности", показали небольшую агрегацию в процессе очистки и, таким образом, их не оценивали. Ранее их оценивали в качестве вариантов в виде неочищенных образцов.

Таблица 5

Охарактеризация Fab после созревания аффинности: специфичность,
нейтрализация рецептора и аффинность

MOR0#	Библиотека	K _D [нМ] SET (n:1)	IL-23/ IL-23R IC ₅₀ [нМ] (n:1-4)	IL-23/ IL-12Rβ1	IL-12 (R&D)/ IL-12Rβ1	Специфичные ELISA	FACS (TALL- 104)
4083	-	1600	7.1 ± 8.3	О.К.	О.К.	О.К.	-
5028	H-CDR2	133	0.43 ± 0.58	О.К.	О.К.	О.К.	-
5267	L-CDR3	2000	0.14	О.К.	О.К.	О.К.	н/о
5268		660	0.15	О.К.	О.К.	О.К.	н/о
5269		960	0.2	О.К.	О.К.	О.К.	н/о
4190		4400	1.3 ± 1.5	О.К.	О.К.	О.К.	-
5034	H-CDR2	126	0.4 ± 0.15	О.К.	О.К.	О.К.	-
5036		32	0.32 ± 0.02	О.К.	О.К.	О.К.	-
5038		38	0.17 ± 0.05	О.К.	О.К.	О.К.	-
4649	-	1100	1.2	О.К.	О.К.	О.К.	-
5041	H-CDR2	41	0.07 ± 0.04	О.К.	О.К.	О.К.	-
5042		4	0.06 ± 0.03	О.К.	О.К.	О.К.	-
5043		18	0.05 ± 0.03	О.К.	О.К.	О.К.	-
5044		43	0.05 ± 0.04	О.К.	О.К.	О.К.	-
5045		9	0.05 ± 0.02	О.К.	О.К.	О.К.	-
5046		23	0.08 ± 0.01	О.К.	О.К.	О.К.	-
5058		L-CDR3	33	0.11 ± 0.08	О.К.	О.К.	О.К.
5059	93		0.69 ± 0.72	О.К.	О.К.	О.К.	-

Таблица 6

Охарактеризация Fab после созревания аффинности: специфичность,
нейтрализация рецептора и аффинность

MOR0#	Библиотека	K _D [нМ] SET (n:1)	IL-23/ IL-23R IC ₅₀ [нМ] (n:1-4)	IL-23/ IL-12Rβ1	IL-12 (R&D)/ IL-12Rβ1	Специфичные ELISA	FACS (TALL- 104)	
4658	-	4300	14	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5039	H-CDR2	27	0.1 ± 0.09	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5047		36	0.13 ± 0.1	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5048		20	0.1 ± 0.1	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5049		7	0.39 ± 0.62	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5050		23	0.89 ± 1.15	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5052		10	0.58 ± 0.74	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5053		27	0.98 ± 1.3	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5055		29	0.79 ± 1.0	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5056		65	0.52 ± 0.68	О.К.	О.К.	О.К.	-	
5060		L-CDR3	142	1.0 ± 1.14	О.К.	О.К.	О.К.	-
5061			58	1.25 ± 1.49	О.К.	О.К.	О.К.	-
5062			98	1.34 ± 1.5	О.К.	О.К.	О.К.	-
5063	69		0.32 ± 0.25	О.К.	О.К.	О.К.	-	

Охарактеризация антител после созревания аффинности в формате mAb: ингибирование продукции IL-17

Ингибирование связывания hrIL-23 с иммобилизованным слитым белком IL-23R-Fc. Значения IC₅₀ из кривых титрования.

mAb (см. табл. 4С) приведены в порядке снижения эффективности. Антитела после созревания сгруппированы в соответствии их соответствующими исходными антителами: розовый цвет (5028 от 4083); (5040, 5038, 5029, 5030, 5057, 5036, 5032, 5034, 5033 и 5037 с 4190); (5042, 5045, 5058, 5041, 5059, 5044, 5043, 5046 и 4083 с 4649); (5054, 5053, 5049, 5048, 5052, 5047, 5050, 5051, 5055, 5056, 5039, 5063, 5062 и 5061 с 4658). mAb 23A представляет собой контрольное mAb мыши против IL-23 человека

mAb	IC ₅₀ , мкр/мл
5042	0.00127
5045	0.001396
5040	0.002641
5058	0.002847
5041	0.003007
5054	0.003227
5053	0.00493
5059	0.01062
5044	0.01414
5043	0.01439
5049	0.01616
5048	0.01624
5052	0.0178
5047	0.02342
5050	0.02766
5038	0.02815
5046	0.04281
5029	0.04907
mAb23A	0.05415
5030	0.06458
5051	0.0663
5055	0.09155
5056	0.09198
5028	0.1039
5057	0.1103
5039	0.1606
5036	0.1702
5032	0.1716
5034	0.1854
5063	0.1981
5062	0.1989
5031	0.2149
4190	0.218
4649	0.2758
5033	0.2834
5061	0.3087
5037	0.3364
4083	1.395
4658	1.956

Последовательности исходных mAb IL-23p19 и их производные после созревания аффинности и сконструированные производные

Семейство MOR04083

(SEQ ID NOS: 80 & 81)

1

117

4083 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPMFGYANYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDIYAGMDVWGQGLTVTVSS

5028 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPvFGfthYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDIYAGMDVWGQGLTVTVSS

(SEQ ID NOS: 82-85)

1

108

4083 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVLGNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCHQYGSISTTFGQGTKVEIK

5268 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVLGNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCqQYshISLTFGQGTKVEIK

5267 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVLGNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCqQYshliiTFGQGTKVEIK

5269 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVLGNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCqQfahillTFGQGTKVEIK

Семейство MOR04190

(SEQ ID NOS: 86-92)

1

127

4190 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGHANYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGWYPLMMFDLWGQGLTVTVSS

5033 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGIIPiGnAwYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGWYPLMMFDLWGQGLTVTVSS

5040 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGispqgtginAyYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGWYPLMMFDLWGQGLTVTVSS

5038 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMG-InahlggtwYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGWYPLMMFDLWGQGLTVTVSS

5034 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGIIdPnFGgAyYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGWYPLMMFDLWGQGLTVTVSS

5036 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGIIdPvFGgAyYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGWYPLMMFDLWGQGLTVTVSS

5037 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGIIdPmFGgAyYAQKFGQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSKKGMYGWYPLMMFDLWGQGLTVTVSS

(SEQ ID NOS: 93-98)

1

108

4190 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCQQTsNTPFTFGQGTKVEIK

4190^VVk (1)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCQQTsNTPFTFGQGTKVEIK

5029 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCQqfitylpTFGQGTKVEIK

5030 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCQqdalstPFTFGQGTKVEIK

5031 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCQqdrgrtPFTFGQGTKVEIK

5032 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWYQQKPGQAPRLLIYYASRRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCQqs1niPFTFGQGTKVEIK

MOR04205

(SEQ ID NO: 99)

1

116

4205 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTNYWISWVRQAPGKGLEWGMWIRPGSDTRYSPSEFGQVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYICARHYYGMDYWGQGLTVTVSS

(SEQ ID NO: 100)

1

110

4205 V1 (1)

DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSNIGSYYVNWYQQLPGTAPKLLIYGNTHRPSGVPDRFSGSKGTSASLAITGL
 QSEDEADYYCQTYASLGPGEVFPGGTKLTVL

MOR04217

(SEQ ID NO: 101)

1

121

4217 Vh (1)

QVQLVSEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWITWVRQAPGKGLEWVSYISSGSSITYADSVKGRFTISRDNKNTL
 YLQMSLRAEDTAVYYCARGTFWISFGNYFANWGQGLTVTVSS

(SEQ ID NO: 102)

1

107

4217 Vk (1)

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIIFYNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATGVPARFSGSGSDFTLTISSLE
 PEDFATYYCQQYSSEPVTFGQGTKVEIK

Семейство MOR04649

(SEQ ID NOS: 103-112)

1

117

4649 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFNSYIWIGWVRQMPGKGLEWGMGIIDPSNSYTNYSFQGOVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYICARWYKPFVWVGQGLTVTVSS

4649d Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFNSYIWIGWVRQMPGKGLEWGMGIIDPSNSYTrYSPFQGOVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYICARWYKPFVWVGQGLTVTVSS

4649f Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFNSYIWIGWVRQMPGKGLEWGMGIIDPSNSYTrYSPFQGOVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYICARWYKPFVWVGQGLTVTVSS

4649r^e Vh (1)

eVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFNSYIWIGWVRQMPGKGLEWGMGIIDPSNSYTrYSPFQGOVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYICARWYKPFVWVGQGLTVTVSS

5046 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFNSYIWIGWVRQMPGKGLEWGMGIIDPvsSwTkYSPFQGOVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYICARWYKPFVWVGQGLTVTVSS

5044 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFNSYIWIGWVRQMPGKGLEWGMGIIsPSgStTwYSPFQGOVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYICARWYKPFVWVGQGLTVTVSS

5043 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFNSYIWIGWVRQMPGKGLEWGMGIIsPdGShTwYSPFQGOVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYICARWYKPFVWVGQGLTVTVSS

5041 Vh (1)

QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFNSYIWIGWVRQMPGKGLEWGMGIIsPtGsvTwYSPFQGOVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYICARWYKPFVWVGQGLTVTVSS

5042 Vh (1)
 QVQLVQSGAEVKKPQGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNISSS--
 YLQWSSSLKASDTAMYYCARWYKPPFDVWGQGTTLVTVSS
 5045 Vh (1)
 QVQLVQSGAEVKKPQGGSLRLSCKGSGYSFNSYWGVRQMPGKGLEWVSNISPTgSaTwYSPSFQGGQVTISADKSISTA
 YLQWSSSLKASDTAMYYCARWYKPPFDVWGQGTTLVTVSS

* Consensus N-linked glycosylation site in 4649 Vh
 (SEQ ID NOS: 113-116)
 1

111
4649 VL (1)
 DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGSGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITG
 LQSEDEADYYCSSWT--PSSVVFVGGGTKLTVL
 5058 VL (1)
 DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGSGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITG
 LQSEDEADYYCSSWTDtPnmivVFGGGTKLTVL
 5059 VL (1)
 DIVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGSGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITG
 LQSEDEADYYCaSWTdgISLVVFGGGTKLTVL
 5059⁹⁸VL (1)
 qsVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGSGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSKRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITG
 LQSEDEADYYCaSWTdgISLVVFGGGTKLTVL

Семейство MOR04658

(SEQ ID NOS: 117-127)
 1

123
 4658 Vh (1) QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNISSS--
 GSSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5048 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkfmGytTYAaGVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5050 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkytGytTYAaGVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5053 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkytsytTYAaSVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5039 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkylnyaTYAaSVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5055 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkylGyaTvYaAaSVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5056 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkylsyaTYAaGVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5052 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkyleytTfYAaSVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5049 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkylsytThYAaSVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5051 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkylsytTlYAaSVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS
 5054 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkylsyaTlYAaSVKGRFTISRDNKSN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS

(SEQ ID NO: 147)

5047 Vh (1)
 QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSNIEhkylGyaTsYaAaSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL
 RAEDTAVYYCARYWGTPYLMQFDNWGQGTTLVTVSS

(SEQ ID NOS: 128-132)
 1

111
4658 VL (1)
 DIALTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIIYSVSSRPSGVSNRFPSSGSKSGNTASLTISG
 LQAEDEADYYCSSYD⁹⁸TNKPLVVFVGGGTKLTVL
 5061 VL (1)
 DIALTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIIYSVSSRPSGVSNRFPSSGSKSGNTASLTISG
 LQAEDEADYYCSSyylqriVFGGGTKLTVL
 5062 VL (1)
 DIALTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIIYSVSSRPSGVSNRFPSSGSKSGNTASLTISG
 LQAEDEADYYCqtYy⁹⁸fyysgpVFGGGTKLTVL
 5060 VL (1)
 DIALTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIIYSVSSRPSGVSNRFPSSGSKSGNTASLTISG
 LQAEDEADYYCgSYDvygrfyVFGGGTKLTVL
 5063 VL (1)
 DIALTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDVGGYNSVSWYQQHPGKAPKLMIIYSVSSRPSGVSNRFPSSGSKSGNTASLTISG
 LQAEDEADYYCgSwDpifsyevVFGGGTKLTVL

Нуклеотидные последовательности

IL-23 p19 5040^{Q/BV}
 VH-GCE (SEQ ID NO:133): (Аминокислотная последовательность VH представляет собой 5040Vh)

```

      Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S .
1  CAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGGGCTGAG GTGAAGAAGC CTGGGTCCTC
   GTCCACGTCG ACCACGTCAG ACCCCGACTC CACTTCTTCG GACCCAGGAG

                                     CDR1
      ~~~~~
      . V K V S C K A S G G T F S S N Y I .
51 GGTGAAGGTC TCCTGCAAGG CTTCGGAGG CACCTTCAGC AGCAACTACA
   CCACTTCCAG AGGACGTTCC GAAGACCTCC GTGGAAGTCG TCGTTGATGT

      ~~~~~
      . S W V R Q A P G Q G L E W M G I .
101 TCAGCTGGGT GCGACAGGCC CCTGGACAAG GGCTTGAGTG GATGGGGATC
   AGTCGACCCA CGCTGTCCGG GGACCTGTTC CCGAACTCAC CTACCCCTAG

                                     CDR2
      ~~~~~
      S P G T G I N A Y Y A Q K F Q G R .
151 AGCCCTGGCA CCGGTATCAA CGCATACTAC GCACAGAAGT TCCAGGGCAG
   TCGGGACCGT GGCCATAGTT GCGTATGATG CGTGTCTTCA AGGTCCCGTC

      . V T I T A D E S T S T A Y M E L S .
201 AGTCACGATT ACCGCGGACG AATCCACGAG CACAGCCTAC ATGGAGCTGA
   TCAGTGCTAA TGGCGCCTGC TTAGGTGCTC GTGTCGGATG TACCTCGACT

                                     CDR3
      ~~~~~
      . S L R S E D T A V Y Y C A R S K .
251 GCAGCCTGAG ATCTGAGGAC ACGGCCGTGT ATTACTGTGC GAGAAGCAAG
   CGTCGGACTC TAGACTCCTG TGCCGGCACA TAATGACAGC CTCTTCGTTT

                                     CDR3
      ~~~~~
      K G M Y G G W T Y P L M M F D L W .
301 AAGGGCATGT ACGGCGGCTG GACCTACCC CTGATGATGT TCGACCTGTG
   TTCCCGTACA TGCCGCCGAC CTGGATGGGG GACTACTACA AGCTGGACAC

      . G Q G T L V T V S S
351 GGGCCAGGGC ACCCTGGTGA CCGTGAGCAG C
   CCCGGTCCC GGGGACCACT GGCACTCGTC G

```

IL-23 p19 5040^{2/EV}

VH-HCO (SEQ ID NO:134): (Аминокислотная последовательность VH представляет собой 5040Vh)

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S ·
 1 CAGGTGCAGC TGGTGCAGAG CGGCGCCGAG GTGAAGAAGC CCGGCAGCAG
 GTCCACGTCG ACCACGTCTC GCCGCGGCTC CACTTCTTCG GGCCGTCGTC

CDR1

· V K V S C K A S G G T F S S N Y I ·
 51 CGTGAAGGTG AGCTGCAAGG CCAGCGGCGG CACCTTCAGC AGCAACTACA
 GCACTTCCAC TCGACGTTCC GGTGCGCCGC GTGGAAGTCG TCGTTGATGT

· S W V R Q A P G Q G L E W M G I ·
 101 TCAGCTGGGT GCGCCAGGCC CCGGCCAGG GCCTGGAGTG GATGGGCATC
 AGTCGACCCA CGCGGTCCGG GGGCCGGTCC CGGACCTCAC CTACCCGTAG

CDR2

S P G T G I N A Y Y A Q K F Q G R ·
 151 AGCCCGGCA CCGGCATCAA CGCCTACTAC GCCCAGAAGT TCCAGGGCCG
 TCGGGCCCGT GGCCGTAGTT GCGGATGATG CGGGTCTTCA AGGTCGCCG

· V T I T A D E S T S T A Y M E L S ·
 201 CGTGACCATC ACCGCCGACG AGAGCACCAG CACCGCCTAC ATGGAGCTGA
 GCACTGGTAG TGGCGGCTGC TCTCGTGGTC GTGGCGGATG TACCTCGACT

· S L R S E D T A V Y Y C A R S K ·
 251 GCAGCCTGCG CAGCGAGGAC ACCGCCGTGT ACTACTGCGC CCGCAGCAAG
 CGTCGGACGC GTCGCTCCTG TGGCGGCACA TGATGACGCG GGCCTCGTTC

CDR3

K G M Y G G W T Y P L M M F D L W ·
 301 AAGGGCATGT ACGGCGGCTG GACCTACCCC CTGATGATGT TCGACCTGTG
 TTCCCGTACA TGCCGCCGAC CTGGATGGGG GACTACTACA AGCTGGACAC

· G Q G T L V T V S S ·
 351 GGGCCAGGGC ACCCTGGTGA CCGTGAGCAG C
 CCCGGTCCCG TGGGACCACT GGCACCTCGTC G

IL-23 p19 5040^{Q/EV}

VH-MOR (SEQ ID NO:135): (Аминокислотная последовательность VH представляет собой 5040Vh)

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S ·
 1 CAGGTGCAAT TGGTTCAGTC TGGCGCGGAA GTGAAAAAAC CGGGCAGCAG
 GTCCACGTTA ACCAAGTCAG ACCGCGCCTT CACTTTTTTTG GCCCGTCGTC

CDR1

· V K V S C K A S G G T F S S N Y I ·
 51 CGTGAAAGTG AGCTGCAAAG CCTCCGGAGG CACTTTTTCT TCTAATTATA
 GCACTTTCAC TCGACGTTTC GGAGGCTTCC GTGAAAAAGA AGATTAATAT

· S W V R Q A P G Q G L E W M G I ·
 101 TTTCTTGGGT GCGCCAAGCC CCTGGGCAGG GTCTCGAGTG GATGGGCATT
 AAAGAACCCA CGCGGTTCGG GGACCGTCC CAGAGCTCAC CTACCCGTAA

CDR2

· S P G T G I N A Y Y A Q K F Q G R ·
 151 TCTCCTGGTA CTGGTATTAA TGCTTATTAT GCTCAGAAGT TTCAGGGTCG
 AGAGGACCAT GACCATAATT ACGAATAATA CGAGTCTTCA AAGTCCGACG

· V T I T A D E S T S T A Y M E L S ·
 201 GGTGACCATT ACCGCGGATG AAAGCACCCAG CACCGCTTAT ATGGAACCTGA
 CCACTGGTAA TGGCGCTTAC TTTCGTGGTC GTGGCGCATA TACCTTGACT

· S L R S E D T A V Y Y C A R S K ·
 251 GCAGCCTGCG TAGCGAAGAT ACGGCCGTGT ATTATTGCGC GCGTTCCTAAG
 CGTCGGACGC ATCGCTTCTA TGCCGGCACA TAATAACGCG CGCAAGATTG

CDR3

· K G M Y G G W T Y P L M M F D L W ·
 301 AAGGGTATGT ATGGTGGTGT GACTTATCCT CTTATGATGT TTGATCTTTG
 TTCCCATACA TACCACCAAC CTGAATAGGA GAATACTACA AACTAGAAAC

· G Q G T L V T V S S ·
 351 GGGCCAAGGC ACCCTGGTGA CGGTTAGCTC A
 CCCGGTTCGG TGGGACCACT GCCAATCGAG T

IL-23 p19 5040^{Q/EV}VK-HCO (SEQ ID NO:136): (Аминокислотная последовательность VK представляет собой 4190^{EV})

E I V L T Q S P A T L S L S P G E ·
 1 GAGATCGTGC TGACCCAGAG CCCC GCCACC CTGAGCCTGA GCCCGGCGA
 CTCTAGCACG ACTGGGTCTC GGGCGGTGG GACTCGGACT CGGGGCCGCT

CDR1

· R A T L S C R A S Q S V S S N Y L ·
 51 GCGCGCCACC CTGAGCTGCC GCGCCAGCCA GAGCGTGAGC AGCAACTACC
 CGCGCGGTGG GACTCGACGG CGCGGTTCGG CTCGCACTCG TCGTTGATGG

· A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y ·
 101 TGGCCTGGTA CCAGCAGAAG CCCGGCCAGG CCCCCGCCT GCTGATCTAC
 ACCGGACCAT GGTCTCTTC GGGCCGGTCC GGGGGGCGGA CGACTAGATG

CDR2

· Y A S R R A T G V P A R F S G S G ·
 151 TACGCCAGCC GCCGCGCCAC CGGCGTGCCC GCCCGCTTCA GCGGCAGCGG
 ATGCGGTTCGG CGGCGCGGTG GCCGCACGGG CGGGCGAAGT CGCCGTGCGC

· S G T D F T L T I S S L E P E D F ·
 201 CAGCGGCACC GACTTCACCC TGACCATCAG CAGCCTGGAG CCCGAGGACT
 GTCGCCGTGG CTGAAGTGGG ACTGGTAGTC GTCGGACCTC GGGCTCCTGA

CDR3

· A V Y Y C Q Q T S N T P F T F G ·
 251 TCGCCGTGTA CTA CTGCTGAG CAGACCAGCA ACACCCCTT CACCTTCGGC
 AGCGGCACAT GATGACGGTC GTCTGGTTCGT TGTGGGGGAA GTGGAAGCCG

Q G T K V E I K
 301 CAGGGCACCA AGGTGGAGAT CAAG
 GTCCCGTGGT TCCACCTCTA GTTC

IL-23 p19 5040^{Q/EV}
VK-HCO (SEQ ID NO:137) : (Аминокислотная последовательность VK представляет собой 4190^{EV})

```

E I V L T Q S P A T L S L S P G E .
1 GAAATTGTGT TGACACAGTC TCCAGCCACC CTGTCTTTGT CTCCAGGGGA
CTTTAACACA ACTGTGTCAG AGGTCGGTGG GACAGAAACA GAGGTCCCCT

                                CDR1
~ ~ ~ ~ ~
. R A T L S C R A S Q S V S S N Y L .
51 AAGAGCCACC CTCTCTGCA GGGCCAGTCA GAGTGTTAGC AGCAACTACT
TTCTCGGTGG GAGAGGACGT CCCGGTCAGT CTCACAATCG TCGTTGATGA

~ ~ ~ ~ ~
. A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y
101 TAGCCTGGTA CCAACAGAAA CCTGGCCAGG CTCCCAGGCT CCTCATCTAT
ATCGGACCAT GGTGTCTTT GGACCGGTCC GAGGTCCTCGA GGAGTAGATA

                                CDR2
~ ~ ~ ~ ~
. Y A S R R A T G V P A R F S G S G .
151 TACGCATCCC GCAGGGCCAC TGGCGTGCCA GCCAGGTTCA GTGGCAGTGG
ATGCGTAGGG CGTCCCCTGG ACCGCACGGT CGGTCCAAGT CACCGTCACC

. S G T D F T L T I S S L E P E D F .
201 GTCTGGGACA GACTTCACTC TCACCATCAG CAGCCTAGAG CCTGAAGATT
CAGACCCTGT CTGAAGTGAG AGTGGTAGTC GTCGGATCTC GGACTTCTAA

                                CDR3
~ ~ ~ ~ ~
. A V Y Y C Q Q T S N T P F T F G
251 TTGCAGTTTA TTA CTGTGTCAG CAGACTTCTA ATACTCCTTT TACCTTTGGC
AACGTCAAT AATGACAGTC GTCTGAAGAT TATGAGGAAA ATGGAACCCG

Q G T K V E I K
301 CAGGGTACGA AAGTTGAAAT TAAA
GTCCCATGCT TTCAACTTTA ATTT

```

IL-23 p19 5040^{Q/EV}
VK-HCO(SEQ ID NO:138) : (Аминокислотная последовательность VK представляет собой 4190^{EV})

```

E I V L T Q S P A T L S L S P G E .
1 GAGATCGTGC TGACCCAGAG CCCGGCGACC CTGAGCCTGT CTCCGGGCGA
CTCTAGCAGC ACTGGGTCTC GGGCCGCTGG GACTCGGACA GAGGCCCGCT

                                CDR1
~ ~ ~ ~ ~
. R A T L S C R A S Q S V S S N Y L
51 ACGTGCGACC CTGAGCTGCA GAGCGAGCCA GTCTGTTTCT TCTAATTATC
TGCACGCTGG GACTCGACGT CTCGCTCGGT CAGACAAAGA AGATTAATAG

~ ~ ~ ~ ~
. A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y
101 TGGCTTGTA CCAGCAGAAA CCAGGTCAAG CACCGCTCT ATTAATTAT
ACCGAACCAT GGTGCTCTTT GGTCCAGTTC GTGGCGCAGA TAATTAATA

                                CDR2
~ ~ ~ ~ ~
. Y A S R R A T G V P A R F S G S G .
151 TATGCTTCTC GTCGTGCAAC TGGGTCCCG GCGGTTTTA GCGGCTCTGG
ATACGAAGAG CAGCACGTTG ACCCAGGGC GCGCAAAAT CGCCGAGACC

. S G T D F T L T I S S L E P E D F
201 ATCCGGCAGC GATTTTACCC TGACCATTAG CAGCCTGGAA CCTGAAGACT
TAGGCCGTGC CTAAAATGGG ACTGTAATC GTCGGACCTT GGACTTCTGA

                                CDR3
~ ~ ~ ~ ~
. A V Y Y C Q Q T S N T P F T F G
251 TTGCGGTGTA TTATTGCCAG CAGACTTCTA ATACTCCTTT TACCTTTGGC
AACGCCACAT AATAACGGTC GTCTGAAGAT TATGAGGAAA ATGGAACCCG

Q G T K V E I K
301 CAGGGTACGA AAGTTGAAAT TAAA
GTCCCATGCT TTCAACTTTA ATTT

```

IL-23 p19 3759^{50/95}
 VH-GCE(SEQ IDNO:139):Аминокислотная последовательность VH представляет собой 4649r⁵)

```

      E V Q L V Q S G A E V K K P G E S .
1  GAGGTGCAGC TGGTGCAGTC TGGAGCAGAG GTGAAAAGC CCGGGGAGTC
   CTCCACGTCG ACCACGTCAG ACCTCGTCTC CACTTTTTCG GGCCCTCAG

                                     CDR1
      . L K I S C K G S G Y S F S N Y W I .
51 TCTGAAGATC TCCTGTAAGG GTTCTGGATA CAGCTTAGC AACTACTGGA
   AGACTTCTAG AGGACATTCC CAAGACCTAT GTCGAAATCG TTGATGACCT

      . G W V R Q M P G K G L E W M G I
101 TCGGCTGGGT GCGCCAGATG CCCGGGAAAG GCCTGGAGTG GATGGGGATC
   AGCCGACCCA CGCGGTCTAC GGGCCCTTTC CGGACCTCAC CTACCCCTAG

                                     CDR2
      I D P S N S Y T R Y S P S F Q G Q .
151 ATCGACCCTA GCAACTCTTA CACCAGATAC AGCCCGTCCT TCCAAGGCCA
   TAGCTGGGAT CGTTGAGAAT GTGGTCTATG TCGGGCAGGA AGGTTCCGGT

      . V T I S A D K S I S T A Y L Q W S .
201 GGTCAACATC TCAGCCGACA AGTCCATCAG CACCGCCTAC CTGCAGTGGG
   CCAGTGGTAG AGTCGGTGT TCAGGTAGTC GTGGCGGATG GACGTCACCT

      . S L K A S D T A M Y Y C A R W Y
251 GCAGCCTGAA GGCCTCGAC ACCGCCATGT ATTACTGTGC GAGATGGTAC
   CGTCGGACTT CCGGAGCCTG TGGCGGTACA TAATGACACG CTCTACCATG

                                     CDR3
      Y K P F D V W G Q G T L V T V S S .
301 TACAAGCCCT TCGACGTGTG GGGCCAGGGC ACCCTGGTGA CCGTGAGCAG
   ATGTTGCGGA AGCTGCACAC CCCGTCCCG TGGGACCACT GGCACCTCGT

      . S
351 C
   G

```

IL-23 p19 3759^{50/95}
 VH-HCO(SEQ ID NO:140):Аминокислотная последовательность VH представляет собой 4649r⁵)

```

      E V Q L V Q S G A E V K K P G E S .
1  GAGGTGCAGC TGGTGCAGAG CGGCGCCGAG GTGAAGAAGC CCGCGGAGAG
   CTCCACGTCG ACCACGTCCT GCCCGGGCTC CACTTCTTCG GGCCGCTCTC

                                     CDR1
      . L K I S C K G S G Y S F S N Y W I .
51 CCTGAAGATC AGCTGCAAGG GCAGCGGCTA CAGCTTACG AACTACTGGA
   GGACTTCTAG TCGACGTTCC CGTCGCCGAT GTCGAAGTCG TTGATGACCT

      . G W V R Q M P G K G L E W M G I
101 TCGGCTGGGT GCGCCAGATG CCCGGCAAGG GCCTGGAGTG GATGGGCATC
   AGCCGACCCA CGCGGTCTAC GGGCCGTTTC CGGACCTCAC CTACCCGTAG

                                     CDR2
      I D P S N S Y T R Y S P S F Q G Q .
151 ATCGACCCCA GCAACAGCTA CACCCGCTAC AGCCCGAGCT TCCAGGGCCA
   TAGCTGGGGT CGTTGTGATG GTGGGCGATG TCGGGTCTGA AGGTTCCGGT

      . V T I S A D K S I S T A Y L Q W S .
201 GGTGACCATC AGCGCCGACA AGAGCATCAG CACCGCCTAC CTGCAGTGGG
   CCACTGGTAG TCGCGGCTGT TCTCGTAGTC GTGGCGGATG GACGTCACCT

      . S L K A S D T A M Y Y C A R W Y
251 GCAGCCTGAA GGCAGCGAC ACCGCCATGT ACTACTGCGC CCGTGGTAC
   CGTCGGACTT CCGGTCGCTG TGGCGGTACA TGATGACGCG GGCACCATG

                                     CDR3
      Y K P F D V W G Q G T L V T V S S .
301 TACAAGCCCT TCGACGTGTG GGGCCAGGGC ACCCTGGTGA CCGTGAGCAG
   ATGTTGCGGA AGCTGCACAC CCCGTCCCG TGGGACCACT GGCACCTCGT

      . S
351 C
   G

```

IL-23 p19 3759^{50/05}
 VH-MOR (SEQ ID NO:141) : (Аминокислотная последовательность VH представляет собой 4649r⁵)

```

      E V Q L V Q S G A E V K K P G E S .
1  GAGGTGCAAT TGGTTCAGAG CGGCGCGGAA GTGAAAAAAC CGGGCGAAAG
   CECACGTTA ACCAAGTCTC GCCGCGCCTT CACTTTTTTG GCCCGCTTTC

                                          CDR1
      ~~~~~
      . L K I S C K G S G Y S F S N Y W I .
51  CCTGAAAATT AGCTGCAAAG GTTCCGGATA TTCCTTTTCT AATTATTGGA
   GGACTTTTAA TCGACGTTTC CAAGGCCTAT AAGGAAAAGA TTAATAACCT

      ~~~~~
      . G W V R Q M P G K G L E W M G I .
101 TTGGTTGGGT GCGCCAGATG CCTGGGAAGG GTCTCGAGTG GATGGGCATT
   AACCAACCCA CGCGGTCTAC GGACCCTCC CAGAGCTCAC CTACCCGTAA
   CDR2
      ~~~~~
      I D P S N S Y T R Y S P S F Q G Q .
151 ATCGATCCGT CTAATAGCTA TACCGGTAT TCTCCGAGCT TTCAGGGCCA
   TAGCTAGGCA GATTATCGAT ATGGGCGATA AGAGGCTCGA AAGTCCCGT

      . V T I S A D K S I S T A Y L Q W S .
201 GGTGACCATT AGCGCGGATA AAAGCATTAG CACCGCGTAT CTCAATGGA
   CCACTGGTAA TCGCGCCTAT TTTGTAATC GTGGCGGATA GAAGTTACCT

      ~~~~~
      . S L K A S D T A M Y Y C A R W Y .
251 GCAGCCTGAA AGCGAGCGAT ACGGCCATGT ATTATTGCGC GCGTTGGTAT
   CGTCGGACTT TCGCTCGCTA TGCCGTACA TAATAACGGC CGCAACCATA

                                          CDR3
      ~~~~~
      Y K P F D V W G Q G T L V T V S S .
301 TATAAGCCTT TTGATGTTG GGGCCAAGGC ACCCTGGTGA CGGTTAGCTC
   ATATTCGGAA AACTACAAAC CCCGTTCCG TGGGACCACT GCCAATCGAG

      . S
351 A
   T

```

IL-23 p19 3759^{50/05}
 VL-GCE (SEQ ID NO:142):(Аминокислотная последовательность VL представляет собой 5059⁰⁵)

```

      Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R .
1  CAGTCTGTGC TGACGCAGCC GCCCTCAGTG TCTGGGGCCC CAGGGCAGAG
   GTCAGACACG ACTGCGTCGG CGGGAGTCAC AGACCCCGGG GTCCCGTCTC

                                     CDR1
      ~~~~~
      V T I S C T G S S S N I G S G Y D .
51  GGTCAACATC TCCTGCACTG GGAGCAGCTC CAACATCGGG AGCGGTATG
   CCAGTGGTAG AGGACGTGAC CCTCGTCGAG GTTGTAGCCC TCGCCAATAC

      ~~~~~
      V H W Y Q Q L P G T A P K L L I
101 ATGTACACTG GTACCAGCAG CTTCAGGAA CAGCCCCAA ACTCCTCATC
   TACATGTGAC CATGGTCGTC GAAGTCCCTT GTCGGGGGT TGAGGAGTAG

                                     CDR2
      ~~~~~
      Y G N S K R P S G V P D R F S G S .
151 TATGGTAAAC GCAAGCGGCC CTCAGGGGTC CCTGACCGAT TCTCTGGCTC
   ATACCATTGT CGTTCGCCGG GAGTCCCAG GGA CTGGCTA AGAGACCGAG

      ~~~~~
      K S G T S A S L A I T G L Q S E D .
201 CAAGTCTGGC ACCTCAGCCT CCCTGGCCAT CACTGGGCTC CAGAGCGAGG
   GTTCAGACCG TGGAGTCGGA GGGACCGGTA GTGACCCGAG GTCTCGCTCC

                                     CDR3
      ~~~~~
      E A D Y Y C A S W T D G L S L V
251 ATGAGGCTGA TTATTACTGC GCCAGCTGGA CCGACGGCCT GAGCCTGGTG
   TACTCCGACT AATAATGACG CGGTGACCT GGCTGCCGGA CTCGGACCAC

      ~~~
      V F G G G T K L T V L G
301 GTGTTCCGGC GCGGCACCAA GCTGACCGTG CTGGGC
   CACAAGCCGC CGCCGTGGTT CGACTGGCAC GACCCG
  
```

IL-23 p19 3759^{50/05}
 VL-HCO (SEQ ID NO:143):(Аминокислотная последовательность VL представляет собой 5059⁰⁵)

```

      Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R .
1  CAGTCTGTGC TGACCCAGCC CCCCAGCGTG AGCGGGCCCC CCGGCCAGCG
   GTCAGACACG ACTGGGTCGG GGGGTCGCAC TCGCCGCGGG GGCCGGTCCG

                                     CDR1
      ~~~~~
      V T I S C T G S S S N I G S G Y D .
51  CGTGACCATC AGCTGCACCG GCAGCAGCAG CAACATCGGC AGCGGCTACG
   GCACCTGGTAG TCGACGTGGC CGTCGTCGTC GTTGTAGCCG TCGCCGATGC

      ~~~~~
      V H W Y Q Q L P G T A P K L L I
101 ACGTCACTG GTACCAGCAG CTGCCCGGCA CCGCCCCAA GCTGCTGATC
   TGCACGTGAC CATGGTCGTC GACGGGCCGT GCGGGGGGT CGACGACTAG

                                     CDR2
      ~~~~~
      Y G N S K R P S G V P D R F S G S .
151 TACGGCAACA GCAAGCGCCC CAGCGGCGTG CCGACCGCT TCAGCGGCAG
   ATGCCGTTGT CGTTCGCCGG GTCGCCGCAC GGGCTGGCGA AGTCGCCGTC

      ~~~~~
      K S G T S A S L A I T G L Q S E D .
201 CAAGAGCGGC ACCAGCGCCA GCCTGGCCAT CACCGGCTC CAGAGCGAGG
   GTTCTCGCCG TGGTCGGGT CGGACCGGTA GTGGCCGGAG GTCTCGCTCC

                                     CDR3
      ~~~~~
      E A D Y Y C A S W T D G L S L V
251 ACGAGGCCGA CTACTACTGT GCCAGCTGGA CCGACGGCCT GAGCCTGGTG
   TGCTCCGGCT GATGATGACA CGGTGACCT GGCTGCCGGA CTCGGACCAC

      ~~~
      V F G G G T K L T V L G
301 GTGTTCCGGC GCGGCACCAA GCTGACCGTG CTGGGC
   CACAAGCCGC CGCCGTGGTT CGACTGGCAC GACCCG
  
```


ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело человека против IL-23p19, которое связывается с IL-23p19 человека на одном или более аминокислотных остатках 93-105 SEQ ID NO: 145 и содержит

аминокислотную последовательность варибельного участка легкой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 82-85, и

аминокислотную последовательность варибельного участка тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 80, 81.

2. Выделенное антитело человека против IL-23p19, которое связывается с IL-23p19 человека на одном или более аминокислотных остатках 93-105 SEQ ID NO: 145 и содержит

аминокислотную последовательность варибельного участка легкой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 93-98, и

аминокислотную последовательность варибельного участка тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 86-92.

3. Выделенное антитело человека против IL-23p19, которое связывается с IL-23p19 человека на одном или более аминокислотных остатках 93-105 SEQ ID NO: 145 и содержит

аминокислотную последовательность варибельного участка легкой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 100, и

аминокислотную последовательность варибельного участка тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101.

4. Выделенное антитело человека против IL-23p19, которое связывается с IL-23p19 человека на одном или более аминокислотных остатках 93-105 SEQ ID NO: 145 и содержит

аминокислотную последовательность варибельного участка легкой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 113-115, и

аминокислотную последовательность варибельного участка тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 107-112.

5. Выделенное антитело человека против IL-23p19, которое связывается с IL-23p19 человека на одном или более аминокислотных остатках 93-105 SEQ ID NO: 145 и содержит

аминокислотную последовательность варибельного участка легкой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 128-132, и

аминокислотную последовательность варибельного участка тяжелой цепи, которая по меньшей мере на 95% идентична любой аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 117-127 и 147.

6. Антитело против IL-23p19 по любому из пп.1-5, которое связывается с IL-23p19 с аффинностью, выбранной из по меньшей мере 10^{-9} М, по меньшей мере 10^{-10} М, по меньшей мере 10^{-11} М, по меньшей мере 10^{-12} М, по меньшей мере 10^{-13} М, по меньшей мере 10^{-14} М и по меньшей мере 10^{-15} М, как определено посредством метода поверхностного плазмонного резонанса или Кипеха.

7. Антитело против IL-23p19 по любому из пп.1-6, которое модулирует активность полипептида IL-23.

8. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая выделенное антитело против IL-23p19 по п.1.

9. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая выделенное антитело против IL-23p19 по п.2.

10. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая выделенное антитело против IL-23p19 по п.3.

11. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая выделенное антитело против IL-23p19 по п.4.

12. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая выделенное антитело против IL-23p19 по п.5.

13. Вектор экспрессии, содержащий выделенную молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп.8-12.

14. Прокариотическая или эукариотическая клетка-хозяин для продукции антитела против IL-23p19

по пп.1-6, содержащая выделенную молекулу нуклеиновой кислоты по любому из пп.8-12.

15. Клетка-хозяин по п.10, где указанная клетка-хозяин выбрана из клеток COS-1, COS-7, HEK293, ВНК21, CHO, BSC-1, Нер G2, 653, SP2/0, 293, HeLa, клеток миеломы или лимфомы.

16. Способ получения антитела против IL-23p19 по любому из пп.1-5, включающий осуществление трансляции молекулы нуклеиновой кислоты по любому из пп.8-12 *in vitro*, *in vivo* или *in situ*, в условиях, обеспечивающих экспрессию антитела против IL-23p19 в количестве, позволяющих выявить и выделить это антитело.

17. Композиция для лечения связанного с IL-23 состояния, содержащая выделенное антитело против IL-23p19 по любому из пп.1-6 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

18. Композиция для диагностики связанного с IL-23 состояния, содержащая выделенное антитело против IL-23p19 по любому из пп.1-6 и диагностический реагент.

19. Композиция по пп.17, 18, дополнительно содержащая по меньшей мере одно соединение или полипептид, выбранные из подающей детекции метки или репортера, антагониста TNF, противоинфекционного лекарственного средства, лекарственного средства для сердечно-сосудистой (CV) системы, лекарственного средства для центральной нервной системы (ЦНС), лекарственного средства для вегетативной нервной системы (ANS), лекарственного средства для дыхательных путей, лекарственного средства для желудочно-кишечного (GI) тракта, гормонального лекарственного средства, лекарственного средства для баланса жидкостей или электролитов, гематологического лекарственного средства, антинеопластического лекарственного средства, иммуномодулирующего лекарственного средства, лекарственного средства для глаз, ушей или носа, местного лекарственного средства, диетологического лекарственного средства, цитокина и антагониста цитокина.

20. Антиидиотипическое антитело или фрагмент, которое специфично связывается с антителом против IL-23p19 по любому из пп.1-6.

21. Применение антитела по любому из пп.1-6 для диагностики связанного с IL-23 состояния.

22. Применение антитела по любому из пп.1-6 для лечения связанного с IL-23 состояния.

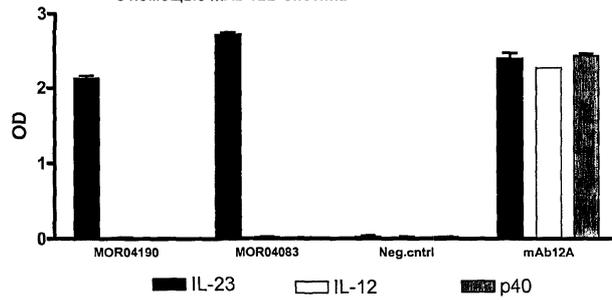
23. Применение по пп.21, 22, где связанное с IL-23 состояние выбрано из группы, состоящей из псориаза, псориатического артрита, болезни Крона, волчанки, рассеянного склероза, оптического неврита и клинически изолированного синдрома.

24. Медицинское устройство для парентерального, подкожного, внутримышечного, внутривенного, внутрисуставного, интрабронхиального, интраабдоминального, внутрикапсулярного, внутривнутрищелевого, внутриполостного, интрацелиального, внутримозжечкового, интрацеребровентрикулярного, внутритолстокишечного, интрацервикального, внутрижелудочного, внутривнутрипеченочного, интрамиокардиального, внутрикостного, внутритазового, интраперикардиального, интраперитониального, интраплеврального, интрапростатического, внутривнутрилегочного, интраректального, интаренального, интаретинального, интраспинального, интрасиновиального, внутривнутригрудного, внутривнутриматочного, внутривнутрипузырного, интралезионального, боллосного, вагинального, ректального, буккального, сублингвального, интраназального и трансдермального введения, отличающееся тем, что содержит антитело против IL-23p19 по любому из пп.1-6.

25. Изделие для фармацевтического или диагностического применения у человека, содержащее упаковочный материал и контейнер, содержащий раствор или лиофилизированную форму антитела против IL-23p19 по любому из пп.1-6.

26. Изделие по п.25, где указанный контейнер представляет собой компонент устройства или системы для парентеральной, подкожной, внутримышечной, внутривенной, внутрисуставной, интрабронхиальной, интраабдоминальной, внутрикапсулярной, внутривнутрищелевой, внутриполостной, интрацелиальной, внутримозжечковой, интрацеребровентрикулярной, внутритолстокишечной, интрацервикальной, внутривнутрижелудочной, внутривнутрипеченочной, интрамиокардиальной, внутривнутрикостной, внутривнутритазовой, интраперикардиальной, интраперитониальной, интраплевральной, интрапростатической, внутривнутрилегочной, интраректальной, интаренальной, интаретинальной, интраспинальной, интрасиновиальной, внутривнутригрудной, внутривнутриматочной, внутривнутрипузырной, интралезиональной, боллосной, вагинальной, ректальной, буккальной, сублингвальной, интраназальной и трансдермальной доставки.

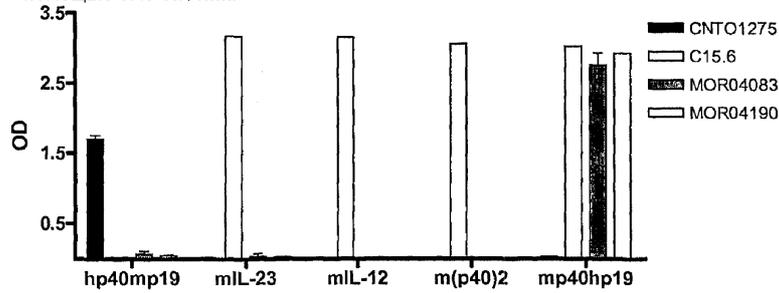
IL-23/IL-12/p40 ELISA
 mAb наносили на планшеты, цитокины использовали в концентрации 100 нг/мл, связывание цитокинов выявляли с помощью mAb 12В-биотина



Фиг. 1А

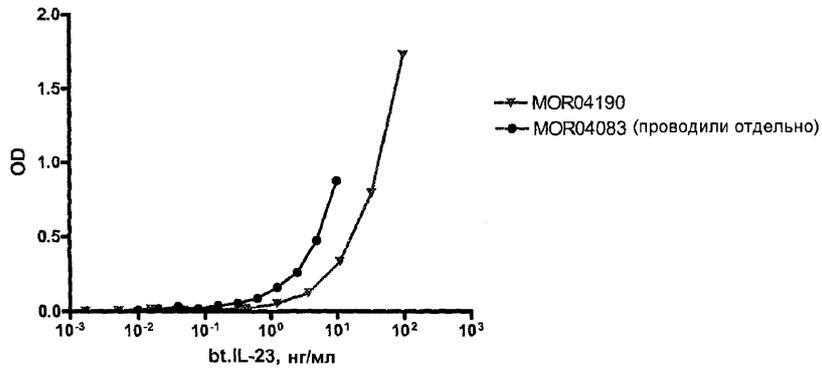
Связывание цитокина с иммобилизованными на планшете mAb в ELISA

mAb наносили на планшеты, цитокины использовали в концентрации 100 нг/мл, связывание содержащего p40 цитокина человека выявляли с помощью mAb 12В-биотина, связывание содержащего p40 цитокина мыши выявляли с помощью 17.8-биотина



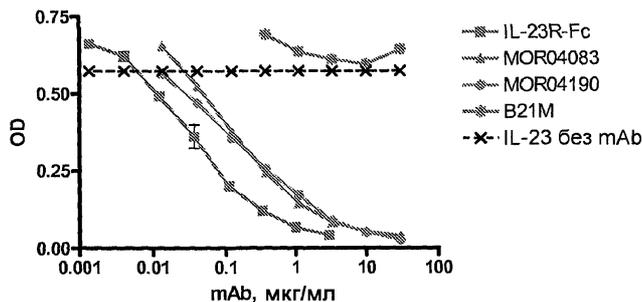
Фиг. 1В

Связывание биотинилированного IL-23 с иммобилизованными на планшете mAb против IL-23



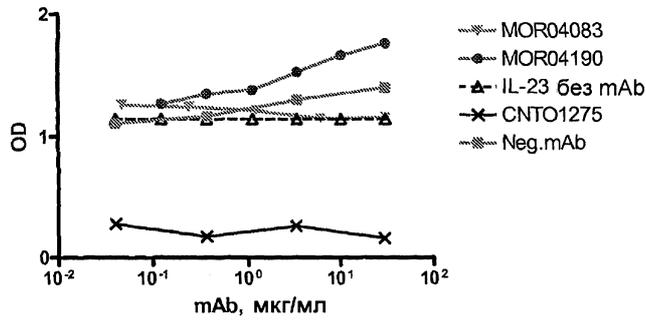
Фиг. 2

IL-23bt./IL-23R-Fc BRBA в присутствии mAb MOR



Фиг. 3А

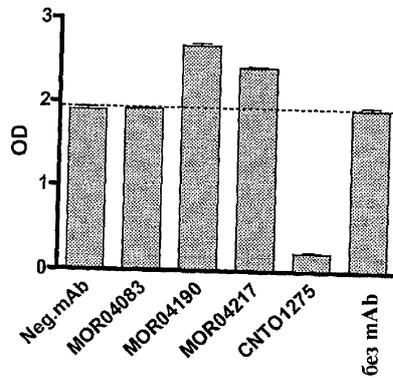
Связывание IL-23 с иммобилизованным на планшете
IL-12β1R-Fc в присутствии mAb
использовали 20 нг/мл би.IL-23



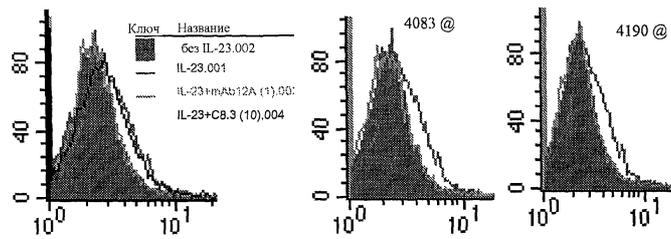
Фиг. 3В

Связывание IL-12/IL-12Rβ1-Fc в присутствии
mAb против IL-23

mAb использовали в концентрации 30 мкг/мл

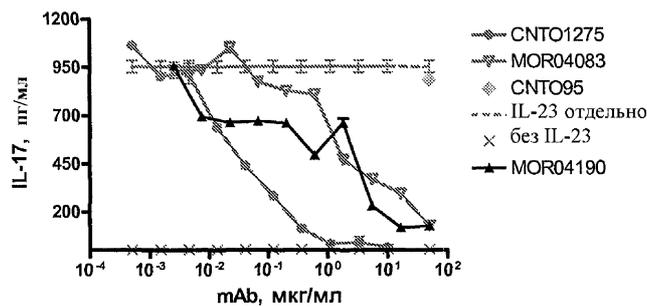


Фиг. 3С



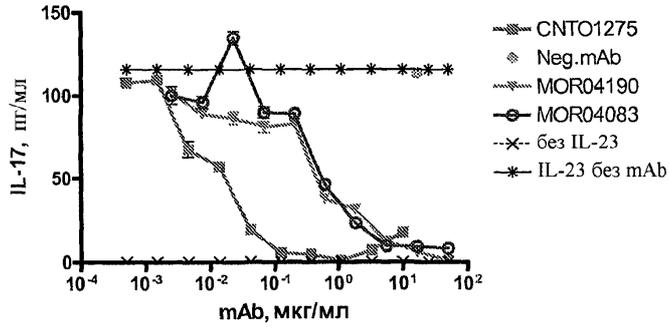
Фиг. 4

Индукцируемая IL-23 продукция IL-17 в
присутствии mAb против IL-23



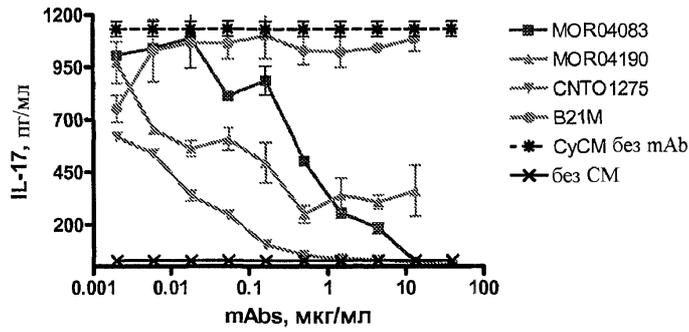
Фиг. 5А

Индукцируемая нативным IL-23 продукция IL-17 из спленоцитов мыши в присутствии или отсутствии mAb против IL-23 человека. РВМС СМ человека (серия 1/99, 0,5%) использовали в качестве источника hIL-23



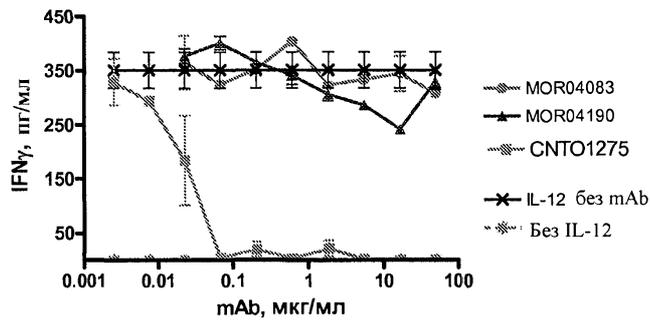
Фиг. 5B

Индукцируемая супо РВМС СМ продукция IL-17 из спленоцитов мыши в присутствии mAb против IL-23 человека



Фиг. 5C

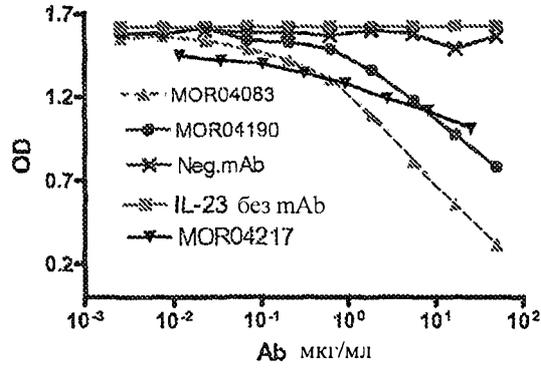
Индукцируемая IL-12 продукция IFN γ из клеток NK92MI в присутствии mAb против IL-23



Фиг. 6

Конкурентный анализ mAb против IL-23

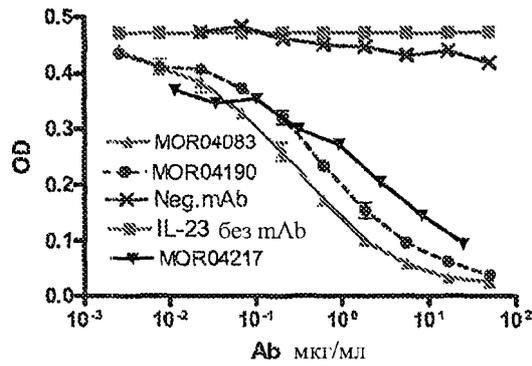
MOR04083 иммобилизовывали на планшете в концентрации 5 мкг/мл, в. IL-23 использовали в концентрации 20 нг/мл



Фиг. 7А

Конкурентный анализ mAb против IL-23

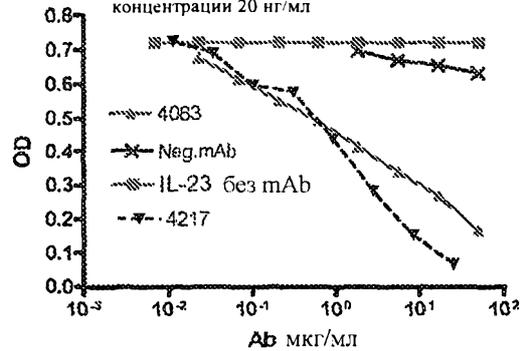
MOR04190 иммобилизовывали на планшете в концентрации 5 мкг/мл, в. IL-23 использовали в концентрации 20 нг/мл



Фиг. 7В

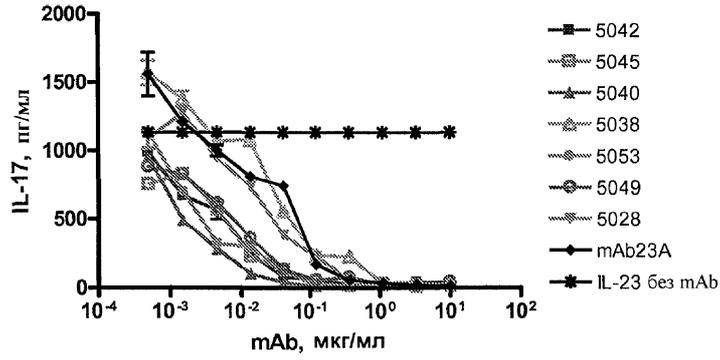
Конкурентный анализ mAb против IL-23

MOR04217 иммобилизовывали на планшете в концентрации 5 мкг/мл, в. IL-23 использовали в концентрации 20 нг/мл



Фиг. 7С

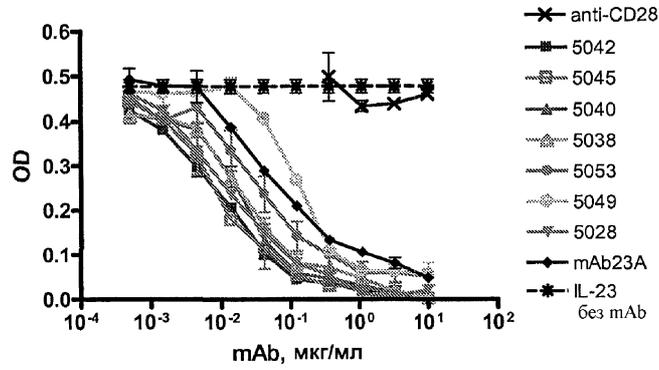
Анализ продукции IL-17 в присутствии mAb MOR, спленциты мыши, нативный IL-23 человека



Фиг. 8

Связывание IL-23 с иммобилизованным на планшете IL-23R-Fc в присутствии mAb MOR

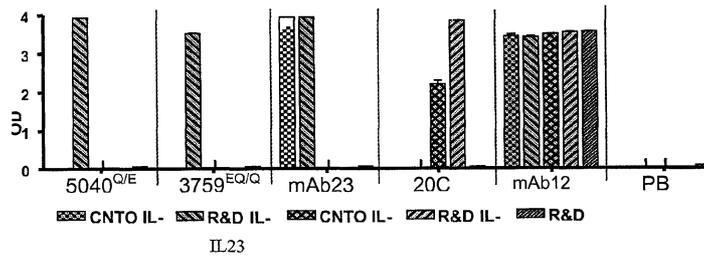
Использовали 20 нг/мл IL-23bt



Фиг. 9

IL-23/IL-12/p40

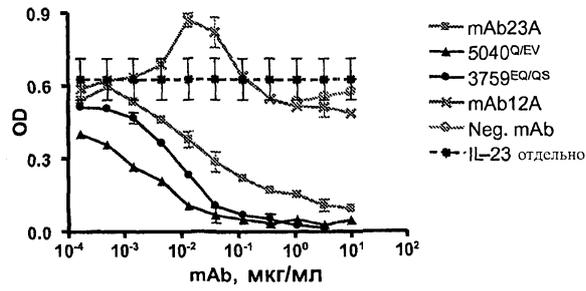
mAb наносили на планшеты, цитокины использовали в концентрации 100, связывание цитокинов выявляли посредством mAb 12B



Фиг. 10

Связывание IL-23 с иммобилизованным на планшете IL-23R-Fc в присутствии mAb против IL-23p19

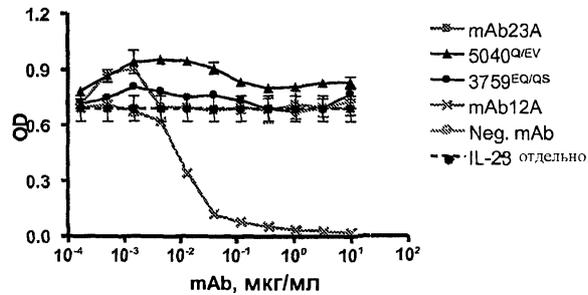
Использовали 20 нг/мл IL-23bt



Фиг. 11А

Связывание IL-23 с иммобилизованным на планшете IL-12β1-Fc в присутствии mAb против IL-23p19

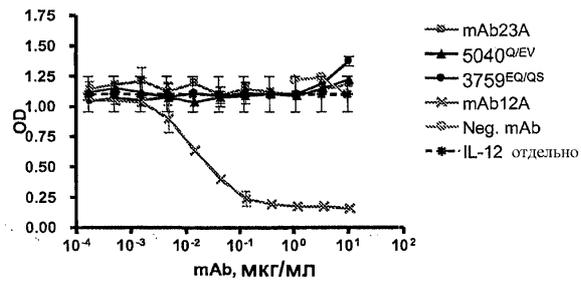
Использовали 20 нг/мл IL-23bt



Фиг. 11В

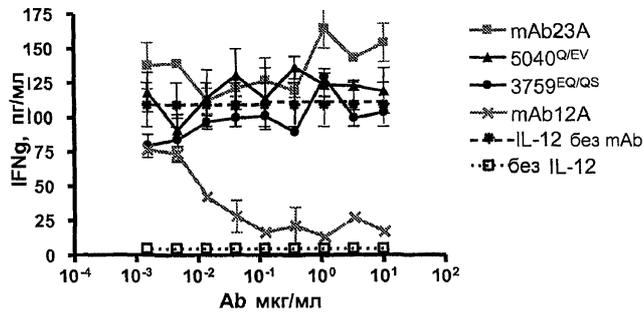
Связывание IL-12 с иммобилизованным на планшете IL-12β1-Fc в присутствии mAb против IL-23p19

Использовали 10 нг/мл IL-12, связывание выявляли с помощью anti-IL-12/23p40 (C330) -bt



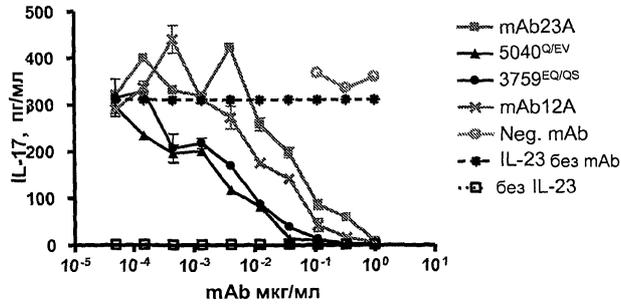
Фиг. 11С

Индукцируемая нативным IL-12
продукция IFN γ из клеток NK92MI
в присутствии mAb против
IL-23p19



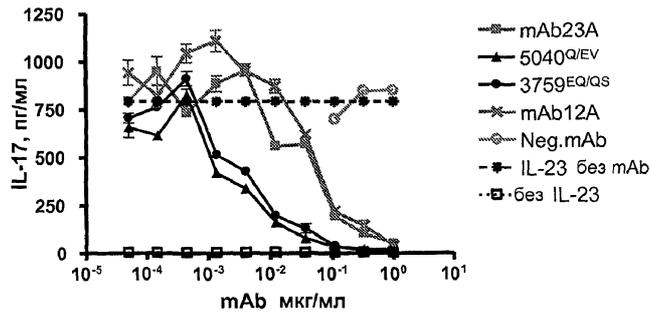
Фиг. 12

Индукцируемая гнIL-23 продукция IL-17
из спленоцитов мыши в присутствии
mAb против IL-23p19



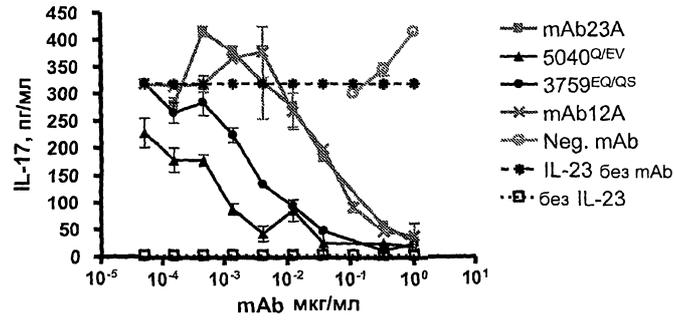
Фиг. 13

Индукцируемая нативным IL-23 человека
продукция IL-17 из спленоцитов мыши в
присутствии mAb против IL-23p19



Фиг. 14

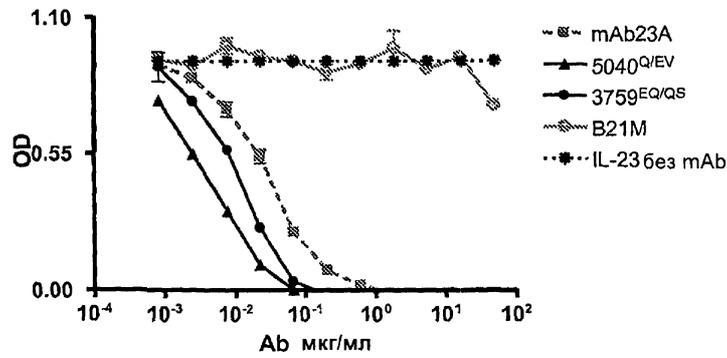
Индукцируемая нативным IL-23 супо
продукция IL-17 из спленцитов мыши в
присутствии mAb против IL-23p19



Фиг. 15

Конкурентный анализ mAb против IL-23

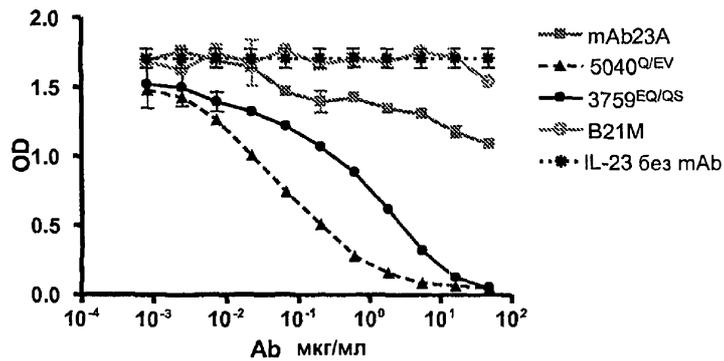
mAb23A иммобилизовывали на планшете в концентрации 5 мкг/мл,
bt. IL-23 использовали в концентрации 20 нг/мл



Фиг. 16А

Конкурентный анализ mAb против IL-23

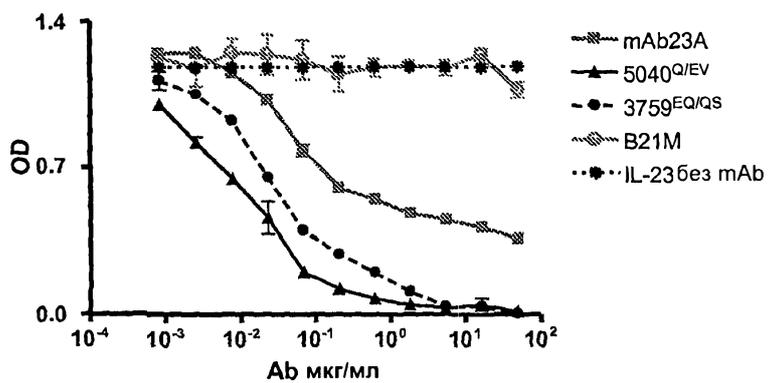
5040^{Q/EV} иммобилизовывали на планшете в концентрации 5
мкг/мл, bt. IL-23 использовали в концентрации 20 нг/мл



Фиг. 16В

Конкурентный анализ mAb против IL-23

3759EQ/QS иммобилизовывали на планшете в концентрации 5 мкг/мл,
bt. IL-23 использовали в концентрации 20 нг/мл



Фиг. 16С



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2