



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019014599-0 A2



* B R 1 1 2 0 1 9 0 1 4 5 9 9 A 2 *

(22) Data do Depósito: 17/01/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 03/03/2020

(54) Título: LIGANTES DE ALBUMINA SÉRICA MELHORADOS

(51) Int. Cl.: C07K 16/18.

(30) Prioridade Unionista: 17/01/2017 US 62/446,988.

(71) Depositante(es): ABLYNX N.V..

(72) Inventor(es): STEPHANIE STAELENS; SOREN STEFFENSEN; ERIKA MORIZZO; AN CERDOBBEL.

(86) Pedido PCT: PCT EP2018051083 de 17/01/2018

(87) Publicação PCT: WO 2018/134235 de 26/07/2018

(85) Data da Fase Nacional: 15/07/2019

(57) Resumo: A presente invenção se refere às sequências de aminoácidos que podem se ligar a albumina sérica. Em particular, a presente invenção se refere aos domínios variáveis únicos de imunoglobulina e, em particular, domínios variáveis únicos de imunoglobulina de cadeia pesada, que podem se ligar a albumina sérica. Adicionalmente, a invenção se refere às proteínas, polipeptídeos e outras construções, compostos, moléculas ou entidades químicas que compreendem pelo menos um dos domínios variáveis únicos de imunoglobulina que se ligam a albumina sérica que são aqui descritos.

Numeração de acordo com according to Kabat (VH)	Numeração de acordo com Cloetta (VH)	Numeração de acordo com Aho	IMGT
11	11	12	12
14	14	15	13
41	41	48	46
42	42	49	47
87	87	101	99
89	89	103	101
108	108	144	...
110	110	146	...
112	112	148	...

Pode ser consultado no endereço: <http://www.inpi.gov.br/pesquisa/autobusca/numero.asp?numero=14599>

"LIGANTES DE ALBUMINA SÉRICA MELHORADOS"

[0001] A presente invenção se refere às sequências de aminoácidos que podem se ligar à albumina sérica.

[0002] Em particular, a presente invenção se refere aos domínios variáveis únicos de imunoglobulina e, em particular, domínios variáveis únicos de imunoglobulina de cadeia pesada, que podem se ligar à albumina sérica.

[0003] Como aqui descrito, os domínios variáveis únicos de imunoglobulina proporcionados pela invenção são preferivelmente aqueles que podem (pelo menos) se ligar (e em particular, se ligar especificamente) à albumina sérica humana. Mais preferivelmente, como adicionalmente descrito aqui, estes domínios variáveis únicos de imunoglobulina são preferencialmente adicionais de tal modo que são reativos de forma cruzada (como aqui descrito) entre a albumina sérica humana e albumina sérica de pelo menos uma outra espécie de mamífero.

[0004] A invenção também se refere às proteínas, polipeptídeos e outras construções, compostos, moléculas ou entidades químicas que compreendem pelo menos um dos domínios variáveis únicos de imunoglobulina que se ligam a albumina sérica que são aqui descritos.

[0005] Domínios variáveis únicos de imunoglobulinas geralmente também são aqui referidos por meio de abreviaturas "ISVs" ou "ISVDs" (que são aqui usados indistintamente).

[0006] Os domínios variáveis únicos de imunoglobulina que se ligam à albumina sérica que são aqui descritos também são aqui referidos como "sequências de aminoácidos da invenção", ou "ligantes de albumina sérica da invenção". Como adicionalmente descrito aqui, os ligantes de albumina da invenção podem em particular ser Nanocorpos (como adicionalmente descrito aqui).

[0007] As proteínas, polipeptídeos e outras construções, compostos, moléculas ou entidades químicas que compreendem pelo menos um dos ligantes de albumina sérica da invenção serão também aqui referidos como "compostos da invenção" ou como "polipeptídeos da invenção". De preferência, os compostos da invenção são proteínas ou polipeptídeos e podem, em particular, ser proteínas de fusão.

[0008] Outros aspectos, modalidades, características, utilizações e vantagens da invenção serão claros para uma pessoa versada na arte com base na presente divulgação.

[0009] No presente pedido, os resíduos/posições de aminoácidos em um domínio variável de cadeia pesada de imunoglobulina serão indicados com a numeração de acordo com Kabat. Por uma questão de conveniência, a Figura 1 fornece uma tabela listando algumas das posições de aminoácidos que serão especificamente referidas aqui e sua numeração de acordo com alguns sistemas de numeração alternativos (como Aho e IMGT). Nota: a menos que explicitamente indicado em contrário, para a presente descrição e reivindicações, a numeração de Kabat é

decisiva; outros sistemas de numeração são dados apenas como referência).

[0010] No que diz respeito às CDRs, como é bem conhecido na arte, existem várias convenções para definir e descrever as CDRs de um fragmento VH ou VHH, tal como a definição de Kabat (que é baseada na variabilidade de sequência e é a mais comumente usada) e a definição de Chothia (que é baseada na localização das regiões do loop estrutural). Referência é feita, por exemplo, no site <http://www.bioinf.org.uk/abs/>. Para os propósitos do presente relatório e reivindicações, mesmo que as CDRs de acordo com Kabat também possam ser mencionadas, as CDRs são mais preferencialmente definidas com base na definição Abm (que é baseada no software de modelagem de anticorpos Abm da Oxford Molecular), como isso é considerado um ótimo compromisso entre as definições de Kabat e Chothia. Referência é feita novamente ao site <http://www.bioinf.org.uk/abs/>.

[0011] Consequentemente, no presente relatório descritivo e reivindicações, todas as CDRs são definidas de acordo com a convenção Abm, a menos que explicitamente indicado de outra forma neste documento.

[0012] Os ISVD's (e em particular os Nanocorpos) que podem se ligar à albumina sérica e às suas utilizações são bem conhecidos na arte, por exemplo, dos documentos WO 2004/041865, WO 2006/122787, WO 2012/175400, WO 2015/173325 e PCT/EP2016/ 077973, que descrevem ISVD de ligação à albumina

sérica e sua utilização para prolongar a meia-vida sérica (como definido nestes pedidos de patente) de compostos, porções e entidades terapêuticas. Por exemplo, o documento WO 2006/122787 divulga como SEQ ID NO: 62 um Nanocorpo de ligação à albumina sérica humanizada denominado Alb-8 (ver aqui SEQ ID NO: 1). O documento WO 2012/175400 divulga como SEQ ID NO: 6 um Nanocorpo de ligação à albumina sérica humanizada denominado Alb-23D (ver a SEQ ID NO: 2 aqui). As sequências de aminoácidos de Alb-8 e Alb-23D e as suas CDRs (que são as mesmas para Alb-8 e Alb-23D) são dadas na Tabela A abaixo como SEQ ID NO: 1, 2 e 3 a 8, respectivamente.

[0013] Algumas outras referências que divulgam ISVD contra albumina sérica incluem WO 2003/035694, WO 2004/003019, EP 2 139 918, WO 2011/006915 e WO 2014/111550.

[0014] As Figuras 3A e 3B mostram os alinhamentos de Alb-8 (referência), Alb-23D (referência), SEQ ID NO: 18 (invenção) e SEQ ID NO: 19 (invenção).

[0015] A presente invenção visa proporcionar ligantes de albumina sérica melhorados e, em particular, ligantes de albumina sérica que possuem propriedades melhoradas em comparação com os ligantes de albumina sérica conhecidos na técnica. Em particular, a invenção tem por objetivo proporcionar ligantes de albumina sérica que podem se ligar a albumina sérica do cão e/ou que melhoraram a reatividade cruzada entre a albumina sérica humana e albumina sérica do

cão (por exemplo, comparada com ligantes de albumina sérica da arte anterior como Alb-8 e/ou Alb-23D).

Tabela A: Alb-8, Alb-23D e seus CDRs

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
1	Alb-8 (WO 2006/122787; SEQ ID NO: 62)	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQ APGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTT LYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
2	Alb-23D (WO 2012/175400; SEQ ID NO: 6)	EVQLLESGGGLVQPFGNRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQ APGKGPEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNNSKNT LYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
3	CDR1 (Kabat)	SFGMS
4	CDR2 (Kabat)	SISGSGSDTLYADSVKG
5	CDR3 (Kabat/Abm)	GGSLSR
6	CDR1 (Abm)	GFTFRSFGMS
7	CDR2 (Abm)	SISGSGSDTL
8	CDR3 (Kabat/Abm)	GGSLSR

Nota:

- SEQ ID NOS: 1 e 2 compartilham as mesmas CDRs de acordo com Kabat. Contudo, se as CDRs forem definidas sob a convenção Abm, a SEQ ID NO: 1 possui uma CDR1 diferente da SEQ ID NOS: 2 comparada com a SEQ ID NOS: 2, a SEQ ID NO: 1 possui um S na posição 30 em vez de um R.
- SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 8 são idênticas.
- Todas as CDRs são definidas de acordo com a convenção Abm, salvo indicação contrária.

Tabela B: SEQ ID NOs: 18 e 19 e suas CDRs

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
18	T0235002C06 (Tipo selvagem)	EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGK EREFVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRNDKNTVYLQLNSL KPEDTAVYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTIVTVSS
19	T023500029	EVQLVESGGGVVQPGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGK EREFVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSKNTVYLQLNSL RPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTIVTVSS
9	CDR1 (Kabat)	TYVMG
10	CDR2 (Kabat)	AISQNSIHTYYANSVKG
11	CDR2 (Kabat)	AISQNSIHTYYADSVKG
12	CDR1 (Abm)	GGTFSTYVMG
13	CDR2 (Abm)	AISQNSIHTY
14	CDR3 (Kabat/Abm)	SRFTSWYTADYEYDY

Nota:

- Todas as CDRs são definidas de acordo com a Convenção ABM, salvo indicação contrária.

[0016] Geralmente, os ISVDs de ligação à albumina sérica proporcionados pela presente invenção são variantes da sequência da SEQ ID NO: 18 e 19, em que:

- possuem as mesmas CDRs (ou essencialmente as mesmas CDRs) que a sequência de SEQ ID NO: 18 e/ou 19 (com a condição de que, se as CDRs são definidas de acordo com Kabat, CDR2 pode ser AISQNSIHTYYANSVKG (SEQ ID NO: 10) ou AISQNSIHTYYADSVKG (SEQ ID NO: 11)); e

- possuem um certo grau de identidade de sequência com a sequência de SEQ ID NO: 18 e/ou 19 (cujo grau de identidade de sequência é como descrito aqui).

[0017] Em particular, ISVDs de ligação à albumina sérica proporcionados pela presente invenção possuem geralmente um número (limitado) de "diferenças de aminoácidos" (como aqui descrito) em comparação com a sequência de SEQ ID NO: 18 e/ou 19. Estas diferenças de aminoácidos podem estar presentes nas CDRs (desde que as sequências de aminoácidos resultantes sejam tais que retenham as propriedades adicionais das sequências de aminoácidos da invenção que são aqui expostas) e/ou estejam presentes nas regiões da estrutura e, em particular, pode estar presente nas regiões estruturais (conforme definido de acordo com Kabat e/ou de acordo com Abm). Por exemplo e sem limitação, estas diferenças de aminoácidos podem ser por exemplo substituições humanizantes, substituições que melhoram a expressão em uma célula hospedeira ou organismo hospedeiro desejado, substituições que melhoram a estabilidade e/ou resistência à degradação e/ou protease, mutações que reduzem a ligação por anticorpos preexistentes e/ou outras mutações que se destinam a otimizar a sequência das sequências de aminoácidos da invenção; ou qualquer combinação adequada de tais diferenças de aminoácidos. Referência é feita à divulgação adicional aqui apresentada.

[0018] Em um primeiro aspecto, a invenção se refere a um ISVD que se pode se ligar (e em particular, se ligar especificamente) à albumina sérica humana e que tem:

- uma CDR1 (de acordo com Kabat) que é a sequência de aminoácidos TYVMG (SEQ ID NO: 9) ou uma sequência de aminoácidos que tem 2 ou 1 diferenças de aminoácidos (como aqui definido) com a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; e
- uma CDR2 (de acordo com Kabat) que é a sequência de aminoácidos AISQNSIHTYYANSVKG (SEQ ID NO: 10) ou AISQNSIHTYYADSVKG (SEQ ID NO: 11) ou uma sequência de aminoácidos que tem 3, 2 ou 1 diferenças de aminoácidos (como aqui definido) com a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 10 e/ou SEQ ID NO: 11; e
- uma CDR3 (de acordo com Kabat) que é a sequência de aminoácidos SRFTSWYTADYEYDY (SEQ ID NO: 14) ou uma sequência de aminoácidos que tem 3, 2 ou 1 diferenças de aminoácidos (como aqui definido) com a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 14.

[0019] Em particular, um ligante de albumina sérica de acordo com este aspecto da invenção pode ser (e de preferência é) como aqui descrito adicionalmente.

[0020] Em um aspecto mais específico, a invenção se refere a um ISVD que pode se ligar (e em particular, se ligar especificamente) a albumina sérica humana e que tem:

- uma CDR1 (de acordo com Kabat) que é a sequência de aminoácidos TYVMG (SEQ ID NO: 9); e
- uma CDR2 (de acordo com Kabat) que é a sequência de aminoácidos AISQNSIHTYYANSVKG (SEQ ID NO: 10) ou AISQNSIHTYYADSVKG (SEQ ID NO: 11); e
- uma CDR3 (de acordo com Kabat) que é a sequência de aminoácidos SRFTSWYTADYEYDY (SEQ ID NO: 14).

[0021] Novamente, um ligante de albumina sérica de acordo com este aspecto da invenção pode ser (e de preferência é) como adicionalmente descrito aqui.

[0022] Em outro aspecto, a invenção se refere a um ISVD que pode se ligar (e em particular, se ligar especificamente) a albumina sérica humana e que tem:

- uma CDR1 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos GGTFSFYVMG (SEQ ID NO: 12) ou uma sequência de aminoácidos que tem 2 ou 1 diferença entre aminoácidos (como aqui definido) com a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 12; e
- uma CDR2 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos AISQNSIHTY (SEQ ID NO: 13) ou uma sequência de aminoácidos que tem 3, 2 ou 1 diferenças de aminoácidos (como aqui definido) com a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 13; e
- uma CDR3 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos SRFTSWYTADYEYDY (SEQ ID NO: 14) ou uma sequência de aminoácidos que tem 3, 2 ou 1 diferenças de aminoácidos

(como aqui definido) com a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 14.

[0023] Em particular, um ligante de albumina sérica de acordo com este aspecto da invenção pode ser (e de preferência é) como aqui descrito adicionalmente.

[0024] Em um aspecto mais específico, a invenção se refere a um ISVD que pode se ligar (e em particular, se ligar especificamente) à albumina sérica humana e que tem:

- uma CDR1 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos GGTFS TYV MG (SEQ ID NO: 12); e
- uma CDR2 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos A I S Q N S I H T Y (SEQ ID NO: 13); e
- uma CDR3 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos S R F T S W Y T A D Y E Y D Y (SEQ ID NO: 14).

[0025] Novamente, um ligante de albumina sérica de acordo com este aspecto da invenção pode ser (e de preferência é) como adicionalmente descrito aqui.

[0026] Geralmente, os ligantes de albumina sérica de acordo com os diferentes aspectos da invenção são, de preferência, tais que possuem:

- um grau de identidade de sequência com a sequência da SEQ ID NO: 18 e/ou 19 (em que as CDRs e qualquer extensão C-terminal que possa estar presente não são consideradas para determinar o grau de identidade da sequência) de pelo menos 85%, de preferência pelo menos 90%, mais preferencialmente pelo menos 95%;

e/ou de tal forma que tenham:

- e/ou não têm mais do que 7, de preferência não mais do que 5, como apenas 3, 2 ou 1 "diferenças de aminoácidos" (como definido aqui, e não levando em consideração as CDRs e qualquer extensão C-terminal que possam estar presente) com a sequência da SEQ ID NO: 18 e/ou 19.

[0027] Os ligantes de albumina sérica de acordo com os diferentes aspectos da invenção são geralmente de preferência de tal modo que se ligam à albumina sérica humana com uma constante de dissociação (KD) de 10^{-5} a 10^{-12} moles/litro ou menos, e preferivelmente 10^{-7} a 10^{-12} moles/litro ou menos e mais preferivelmente 10^{-8} a 10^{-12} moles/litro, e/ou com uma afinidade de ligação de pelo menos 10^7 M^{-1} , preferencialmente pelo menos 10^{-8} pelo menos 10^{-8} M^{-1} , mais preferencialmente pelo menos 10^{-9} M^{-1} , tal como pelo menos 10^{-12} M^{-1} , como determinado usando ProteOn (referência é feita ao Exemplo 1). De preferência, um ligante de albumina sérica da invenção se ligará ao antígeno desejado com uma afinidade menor que 500 nM, preferivelmente menor que 200 nM, mais preferivelmente menor que 10 nM, tal como menor que 500 pM, novamente conforme determinado usando ProteOn (referência é novamente feita ao Exemplo 1).

[0028] Os ligantes de albumina sérica de acordo com os diferentes aspectos da invenção são também preferencialmente de tal modo que competem com a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 18 para ligação à albumina sérica (humana) e/ou que

"bloqueiam de modo cruzado" (como aqui definido) a ligação da sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 18 à albumina sérica (humana).

[0029] De um modo preferido, os ligantes de albumina da invenção são tais que se ligam essencialmente aos mesmos resíduos de aminoácidos e/ou epítopo na albumina sérica humana como na SEQ ID NO: 18, e ainda mais preferencialmente de tal modo que compartilham essencialmente as mesmas interações de aminoácidos da SEQ ID NO: 18. Para este propósito, de acordo com um aspecto específico mas não limitativo, os ligantes de albumina da invenção preferencialmente possuem as mesmas CDRs que a sequência da SEQ ID NO: 18, ou comparados com a sequência da SEQ ID NO: 18 preferencialmente contém dentro de suas CDR's apenas tais mutações (tais como substituições conservadoras de aminoácidos) que ainda lhes permitem sofrer as mesmas ou essencialmente as mesmas interações de aminoácidos com a albumina sérica humana que a SEQ ID NO: 18.

[0030] Os ligantes de albumina sérica de acordo com os diferentes aspectos da invenção são geralmente preferivelmente também de tal modo que são reativos de forma cruzada entre albumina sérica humana e a albumina sérica de pelo menos um, preferivelmente de pelo menos dois, mais preferencialmente pelo menos três e até essencialmente todas as seguintes espécies de mamíferos: rato, camundongo, coelho, porquinho da índia, porco, ovelha, vaca e macaco cinomolgo. Em particular, os ligantes de albumina sérica de acordo com os diferentes

aspectos da invenção podem ser tais que sejam (pelo menos) reativos de forma cruzada entre albumina sérica humana e pelo menos um, de preferência pelo menos dois, mais preferencialmente a todos os três entre albumina sérica de rato, albumina sérica de camundongo e albumina sérica de macaco cinomolgos. A este respeito, os ligantes de albumina sérica da invenção podem ter uma reatividade cruzada melhorada (em particular entre albumina sérica humana por um lado e albumina sérica de rato/camundongo por outro lado) comparativamente com os ligantes de albumina sérica que têm (essencialmente) as mesmas CDR's de Alb-11 e/ou Alb-23D. Referência é feita aos dados na Parte Experimental abaixo.

A título de referência, a Figura 11 apresenta um alinhamento da albumina sérica de diferentes espécies de mamíferos (fonte: <http://macromoleculeinsights.com/albumin.php>, a numeração de aminoácidos na Figura 11 é a numeração utilizada na referida página da web). Por uma questão de conveniência, na sequência da albumina sérica humana, os trechos de aminoácidos que são considerados parte do epítopo putativo das sequências de aminoácidos da invenção foram realçados. Sem se limitar a qualquer mecanismo ou hipótese específica, assume-se que as sequências de aminoácidos da invenção são (essencialmente) capazes de se ligar aos (um ou mais resíduos de aminoácidos no interior) trechos correspondentes de resíduos de aminoácidos que estão presentes dentro da sequência de aminoácidos das

albuminas séricas de mamífero com as quais as sequências de aminoácidos da invenção são reativas de forma cruzada.

[0031] Geralmente, um ligante de albumina sérica da invenção pode ser considerado como sendo de reação cruzada entre albumina sérica humana e albumina sérica de uma destas espécies quando se pode ligar à albumina sérica humana com uma afinidade inferior a 500 nM, de referência inferior a 200 nM, mais preferivelmente inferior a 10 nM; e também à albumina sérica da referida espécie com uma afinidade inferior a 500 nM, de preferência inferior a 200 nM, mais preferivelmente inferior a 10 nM, novamente ambos como determinado utilizando ProteOn (faz-se novamente referência ao Exemplo 1).

[0032] Os ligantes de albumina sérica de acordo com os diferentes aspectos da invenção são preferivelmente também tais que:

- têm uma meia-vida sérica no homem (expressa como $t_{1/2}$ beta) que é maior do que 6 horas, preferencialmente maior do que 12 horas, mais preferivelmente maior do que 24 horas, ainda mais preferencialmente maior do que 72 horas; por exemplo, cerca de uma semana, duas semanas e até a meia-vida da albumina sérica no homem (estimada em cerca de 19 dias);

e/ou de tal forma que:

- quando está ligado a uma porção ou entidade terapêutica, confere ao polipeptídeo resultante da invenção uma meia-vida sérica no homem (expressa como $t_{1/2}$ beta) que é maior do que 6 horas, de preferência maior do que 12 horas, mais

preferencialmente de mais de 24 horas, ainda mais preferencialmente maior do que 72 horas; por exemplo, cerca de uma semana, duas semanas e até a meia-vida da albumina sérica no homem (estimada em cerca de 19 dias).

[0033] A meia-vida em espécies de mamíferos que não seja o homem, entre outros fatores, dependerá principalmente das propriedades de ligação (tal como afinidade) do ligante de albumina da invenção para a albumina sérica das referidas espécies de mamíferos, bem como da meia-vida da albumina sérica nativa na referida espécie. De acordo com uma modalidade preferida da invenção, quando um ligante de albumina sérica da invenção reage de forma cruzada (como aqui definido) entre albumina sérica humana e albumina sérica de outra espécie de mamífero, então a meia-vida do ligante de albumina sérica da invenção (e/ou de um composto da invenção compreendendo o referido ligante de albumina sérica) como determinado na referida espécie é preferivelmente pelo menos 5%, tal como pelo menos 10%, mais preferivelmente pelo menos 25%, por exemplo cerca de 50% e possivelmente até 100% da meia-vida da albumina sérica nativa na referida espécie.

[0034] Em comparação com a sequência da SEQ ID NO: 18, os ligantes de albumina sérica da invenção também contém preferencialmente (pelo menos):

- uma ou mais substituições humanizantes;
- e/ou

- uma ou mais mutações (isto é, substituições, deleções ou adições de aminoácidos e, em particular, substituições) que reduzem a ligação por anticorpos preexistentes; e pode opcionalmente conter uma ou mais mutações como aqui descritas.

[0035] Para substituições humanizantes adequadas (e suas combinações adequadas), referência é feita, por exemplo, ao WO 09/138519 (ou na técnica anterior citada em WO 09/138519) e ao WO 08/020079 (ou na técnica anterior citada no WO 08/020079), bem como as Tabelas A-3 a A-8 do WO 08/020079 (que são listas mostrando possíveis substituições humanizantes). Alguns exemplos preferidos, mas não limitativos de tais substituições humanizantes são Q108L e A14P ou uma combinação adequada destes. Tais substituições humanizantes podem também ser adequadamente combinadas com uma ou mais outras mutações como aqui descritas (tal como com uma ou mais mutações que reduzem a ligação por anticorpos preexistentes).

[0036] Para mutações adequadas que podem reduzir a ligação por anticorpos preexistentes (e combinações adequadas de tais mutações), faz-se referência, por exemplo, ao WO 2012/175741 e WO 2015/173325 e também, por exemplo, ao WO 2013/024059 e WO 2016/118733. Como aqui descrito, tais mutações podem compreender (uma combinação adequada de) uma ou mais substituições, deleções ou adições de aminoácidos (e em particular substituições), mutações estas que estarão frequentemente na chamada região C-terminal do ISV. Por

exemplo, tais mutações podem compreender mutações (e em particular substituições) em uma ou mais das posições 11, 13, 14, 15, 40, 41, 42, 82, 82a, 82b, 83, 84, 85, 87, 88, 89, 103, 108 e/ou mutações em uma ou mais posições na sequência VTVSS do terminal-C (por exemplo, posições 109, 110, 111, 112 e 113), com uma ou mais mutações nas posições 11, 89, 110 e/ou 112 sendo particularmente preferidas. Alguns exemplos preferidos, mas não limitativos de tais mutações são substituições adequadas (quando necessário) de tal modo que após a mutação, na posição indicada, um dos seguintes resíduos de aminoácidos está presente: 11L, 11K, 11V, 14A, 14P, 41A, 41L, 41P, 41S, 41T, 42E, 42G, 87A, 87T, 89A, 89L, 89T, 108L, 110K, 110Q, 112K e/ou 112Q (com 11L, 89A, 89L, 89T, 110K, 110Q, 112K e 112Q sendo particularmente preferido); ou qualquer combinação adequada de tais substituições, tais como, por exemplo, e sem limitação: 11V em combinação com 89L ou 89T; 11V em combinação com 110K ou 110Q; ou 11V em combinação com 89L e 110K ou 110Q. Tais mutações que reduzem a ligação por anticorpos preexistentes podem também ser adequadamente combinadas com uma ou mais outras mutações como aqui descrito (tal como com uma ou mais substituições humanizantes).

[0037] Quando apropriado (como adicionalmente descrito aqui, e em particular quando o ligante de albumina sérica da presente invenção está presente e/ou forma a extremidade C-terminal do composto da invenção na qual está presente), para reduzir a ligação de anticorpos existentes, os ligantes de

albumina sérica da invenção (e, como adicionalmente descrito aqui, também os compostos da invenção) podem também compreender uma extensão C-terminal (tal como um resíduo de alanina C-terminal). Conforme descrito no documento WO 2012/175741, tal extensão C-terminal reduz a ligação por anticorpos preexistentes. Uma extensão C-terminal adequada pode geralmente ser adicionalmente descrita aqui e pode em particular ter a fórmula - (X)_n, na qual X pode ser qualquer aminoácido que ocorre naturalmente (mas preferencialmente não cisteína) e n pode ser 1, 2, 3, 4 ou 5. Faz-se referência novamente ao documento WO 2012/175741, também, por exemplo, no WO 2015/173325, WO 2013/024059 e WO 2016/118733. A presença de tal extensão C-terminal pode também ser adequadamente combinada com uma ou mais das outras mutações aqui descritas (tal como, com uma ou mais substituições humanizantes e/ou uma ou mais mutações que reduzem a ligação por anticorpos preexistentes).

[0038] Outras mutações que podem estar presentes nos ligantes de albumina sérica da invenção, por exemplo e sem limitação incluem uma ou mais mutações (uma substituição em particular) que melhoram a expressão em uma célula hospedeira ou organismo hospedeiro desejada, uma ou mais mutações (e em particular substituições) que melhoram a estabilidade e/ou resistência à degradação e/ou proteases, e/ou uma ou mais mutações que se destinam a otimizar a sequência das sequências de aminoácidos da invenção (por exemplo e sem limitação, uma

ou mais mutações que (adicionalmente) reduz qualquer tendência dos ligantes de albumina para formar dímeros); ou qualquer combinação adequada de tais mutações.

[0039] Alguns exemplos não limitativos de tais mutações são substituições adequadas (quando necessário) de tal modo que após a mutação, na posição indicada, está presente um dos seguintes resíduos de aminoácidos: 16G, 49A, 61D, 74S, 75K, 76N, 82M e 83R; ou qualquer combinação adequada de tais substituições (por exemplo, de modo a formar um motivo SKN nas posições 75 a 76). Também, quando apropriado (como aqui descrito adicionalmente), os ligantes de albumina sérica da invenção podem ter um D na posição 1 (por exemplo, uma mutação E1D comparada com a sequência da SEQ ID NO: 18 e/ou 19), em particular quando o ligante de albumina sérica da invenção está presente e/ou forma a extremidade N-terminal do composto da invenção em que está presente. Tais mutações podem de novo ser adequadamente combinadas com uma ou mais outras mutações como aqui descrito (tal como com uma ou mais substituições humanizantes e/ou uma ou mais mutações que reduzem a ligação por anticorpos preexistentes).

[0040] Outras mutações que podem estar presentes nas sequências de aminoácidos da invenção serão claras para uma pessoa versada na técnica com base na divulgação aqui apresentada.

[0041] Também é possível que uma única mutação (ou uma combinação adequada de mutações) forneça múltiplas

funcionalidades ou vantagens. Por exemplo e sem limitação, uma substituição humanizada de Q108L pode também reduzir a ligação por anticorpos preexistentes.

[0042] Alguns exemplos preferidos, mas não limitativos de resíduos de aminoácidos (isto é, mutações em comparação com a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 18) que podem estar presentes nas sequências de aminoácidos da invenção (isto é, por si próprios ou em combinação adequada) incluem: 11V (por exemplo, L11V), 14P (por exemplo, A14P), 16G (por exemplo, D16G), 49A (por exemplo, S49A), 61D (por exemplo, N61D), 74S (por exemplo, D74S), 82M (por exemplo, L82M), 83R (por exemplo, K83R), 89L (por exemplo, V89L), 89T (por exemplo, V89T), 110K (por exemplo, T110K) ou 110Q (por exemplo, T110Q); bem como, quando apropriado (como adicionalmente descrito aqui), 1D (por exemplo, E1D) e/ou uma extensão C-terminal (X)n como aqui definido (tal como 114A). Referência também é feita a sequências e mutações mostradas nas Figuras 4A e 4B. Por exemplo, alguns exemplos preferidos, mas não limitativos de combinações adequadas desses resíduos de aminoácidos (isto é, mutações comparadas com a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 18) incluem:

- L11V, T14P, D16G, N61D, D74S, K83R, V89L
- L11V, T14P, D16G, D74S, L82M, K83R, V89L
- L11V, T14P, D16G, N61D, D74S, L82M, K83R, V89L
- L11V, T14P, D16G, S49A, D74S, K83R, V89L

- L11V, T14P, D16G, S49A, N61D, D74S, K83R, V89L
- L11V, T14P, D16G, S49A, D74S, L82M, K83R, V89L
- L11V, T14P, D16G, S49A, N61D, D74S, L82M, K83R, V89L
- L11V, T14P, D74S, K83R, V89L

e outras combinações adequadas serão claras para uma pessoa versada na técnica com base na divulgação aqui apresentada.

[0043] Algumas sequências de aminoácidos preferidas, mas não limitativas da invenção são aquelas em que (i) a posição 11 é V e a posição 89 é L; (ii) a posição 89 é T; (iii) as posições 74 a 76 formam um motivo SKN; (iv) a posição 11 é V, a posição 89 é L e as posições 74 a 76 formam um motivo SKN; e (iv) a posição 89 é T e as posições 74 a 76 formam um motivo SKN; nas quais as sequências de aminoácidos da invenção são como aqui descritas adicionalmente (e consequentemente também podem conter adequadamente uma ou mais mutações de aminoácidos como aqui descrito).

[0044] Alguns exemplos preferidos, mas não limitativos, das sequências de aminoácidos da invenção são dados na Figura 2 como:

- SEQ ID NOs: 18 a 26, que são exemplos de sequências de aminoácidos da invenção sem uma extensão de alanina C-terminal;
- SEQ ID NOs: 27 a 35, que são exemplos de sequências de aminoácidos da invenção com uma extensão C-terminal (em cada caso, exemplificado por meio de uma extensão de alanina C-

terminal, que é geralmente a extensão C-terminal preferida);

e

- SEQ ID NOS: 36 a 44, que são exemplos de sequências de aminoácidos da invenção com uma mutação E1D N-terminal).

[0045] Com base na divulgação adicional aqui, ficará claro para uma pessoa versada na técnica que, na prática:

- os ligantes de albumina da invenção com uma extensão C-terminal (tais como, os das SEQ ID NOS: 27 a 35) serão

frequentemente utilizados na extremidade C-terminal dos polipeptídeos da invenção (como aqui definido) em que eles estão presentes;

- os ligantes de albumina da invenção com uma mutação de E1D (tais como os das SEQ ID NOS: 36 a 44) serão muitas vezes utilizados na extremidade N-terminal dos polipeptídeos da invenção em que estão presentes;

- os ligantes de albumina da invenção sem uma extensão C-terminal e sem uma mutação E1D (tais como, os das SEQ ID NOS: 18 a 26) estarão frequentemente presentes em alguns lugares no "meio" de um polipeptídeo da invenção.

[0046] Cada uma das sequências de aminoácidos das SEQ ID NOS: 18 a 44, bem como proteínas, polipeptídeos e outros compostos e construções compreendendo os mesmos (como aqui descrito mais adiante), formam aspectos adicionais da presente invenção.

[0047] Em um outro aspecto, a invenção se refere a uma sequência de aminoácidos que é uma das sequências de

aminoácidos da SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO:25, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:43, e/ou SEQ ID NO:44; e cada uma destas sequências de aminoácidos da invenção (bem como os polipeptídeos da invenção - como aqui definidos - que compreendem essa sequência de aminoácidos da invenção) formam um outro aspecto da presente invenção.

[0048] Como adicionalmente descrito aqui, as sequências de aminoácidos proporcionadas pela invenção são proteínas que podem se ligar, e que podem especificamente se ligar, (como aqui descrito) à albumina sérica humana. Assim, podem ser utilizados como unidades de ligação ou domínios de ligação para ligação à albumina sérica (humana), por exemplo, para conferir um aumento na meia-vida (como aqui definido) a compostos, porções ou entidades terapêuticas. Para a utilização de domínios de ligação à albumina sérica para aumentar a meia-vida dos compostos, porções ou entidades terapêuticas, faz-se referência, por exemplo, ao WO 2004/041865, WO 2006/122787, EP 2 139 918, WO 2011/006915, WO 2012/175400 e/ou ao WO 2014/111550. Os ligantes de albumina sérica da invenção podem geralmente ser utilizados da mesma

maneira e para os mesmos fins que os ligantes de albumina sérica descritos nestas referências.

[0049] Em alguns outros aspectos não limitativos, a invenção também se refere a:

- proteínas, polipeptídeos e outras construções, moléculas ou entidades químicas que compreendem ou consistem essencialmente em pelo menos um ligante de albumina sérica da invenção como aqui descrito (de novo, também referido aqui como "compostos da invenção" ou como "polipeptídeos da invenção");
- métodos para expressar/producir um ligante de albumina sérica da invenção e/ou um composto da invenção;
- uma célula hospedeira, organismo hospedeiro ou outro sistema (de expressão) que pode expressar ou produzir um ligante de albumina sérica da invenção e/ou um composto da invenção;
- composições e produtos (tais como composições farmacêuticas e produtos) que compreendem um ligante de albumina sérica da invenção e/ou um composto da invenção;
- sequências nucleotídica e ácidos nucleicos, tais como vetores (de expressão), que codificam um ligante de albumina sérica da invenção e/ou compostos da invenção;
- utilizações dos compostos da invenção e/ou dos compostos da invenção, tais como a utilização de um composto da invenção para aumentar a meia-vida (sérica) de um composto terapêutico, porção ou entidade e o uso profilático e/ou terapêutico de um composto da invenção.

[0050] Estes e outros aspectos, modalidades, vantagens, aplicações e utilizações da invenção se tornarão claros a partir da descrição adicional aqui apresentada.

[0051] No presente relatório:

- o termo "domínio variável único de imunoglobulina" (também referido como "ISV" ou ISVD") é geralmente usado para se referir aos domínios variáveis de imunoglobulina (que podem ser domínios de cadeia pesada ou cadeia leve, incluindo domínios VH, VHH ou VL) que pode formar um sítio de ligação ao antígeno funcional sem interação com outro domínio variável (por exemplo, sem uma interação VH/VL conforme requerido entre os domínios VH e VL do anticorpo monoclonal de 4 cadeias convencionais). Exemplos de ISVDs serão claros para uma pessoa versada na arte e, por exemplo, incluem nanocorpos (incluindo um VHH, um VHH humanizado e/ou um VH camelizado, tal como um VH humano camelizado), IgNAR, domínios, anticorpos (domínio único) (tais como dAb's™) que são domínios VH ou que são derivados de um domínio VH e anticorpos (domínio único) (tais como dAb's™) que são domínios VL ou que são derivados de um domínio VL. A menos que explicitamente mencionado aqui de outra forma, ISVDs que são baseados em e/ou derivados de domínios variáveis de cadeia pesada (tais como domínios VH ou VHH) são geralmente preferidos. Mais preferencialmente, a menos que explicitamente indicado de outro modo neste documento, um ISVD será um Nanocorpo.

[0052] - O termo "Nanocorpo" é geralmente definido no documento WO 2008/020079 ou WO 2009/138519 e, portanto, em um aspecto específico geralmente denota um VHH, um VHH humanizado ou um VH camelizado (tal como um VH humano camelizado) ou geralmente uma sequência VHH otimizada (como, por exemplo, otimizado para estabilidade química e/ou solubilidade, máxima sobreposição com regiões de estrutura humana conhecidas e máxima expressão). Nota-se que os termos Nanocorpo ou Nanocorpos são marcas registradas da Ablynx N.V. e, portanto, também podem ser referidos como Nanocorpo® e/ou Nanocorpos®;

[0053] - Geralmente, a menos que aqui indicado de outro modo, os ISVDS, Nanocorpos, polipeptídeos, proteína e outros compostos e construções aqui referidos são destinados a utilização na profilaxia ou tratamento de doenças ou distúrbios no homem (e/ou opcionalmente também em animais de sangue quente) e em particular mamíferos). Assim, geralmente, os ISVDS, nanocorpos, polipeptídeos, proteína e outros compostos e construções são aqui descritos, de um modo preferido, tais que podem ser utilizados como e/ou podem ser adequadamente parte de um fármaco (biológico) ou de outro agente farmacêutico ou composto terapeuticamente ativo e/ou de um produto farmacêutico ou composição. Tal fármaco, composto ou produto preferencialmente, tal que adequado para administração a um ser humano, e para profilaxia ou tratamento de um indivíduo com necessidade de tal profilaxia ou tratamento ou, por exemplo, como parte de um ensaio clínico.

Como adicionalmente descrito aqui, para este fim, tal fármaco ou composto pode conter outras porções, entidades ou unidades de ligação além dos ISVDs proporcionados pela invenção (que, como também aqui descrito, podem ser, por exemplo, uma ou mais outras unidades terapêuticas adicionais e/ou uma ou mais outras porções que influenciam as propriedades farmacocinéticas ou farmacodinâmicas do produto biológico baseado em ISVD ou baseado em Nanocorpo, como a sua meia-vida). Exemplos adequados dessas outras porções terapêuticas ou outras serão claros para aqueles versados na arte e, por exemplo, podem geralmente incluir qualquer proteína, polipeptídeo ou outro domínio de ligação ou unidade de ligação terapeuticamente ativos, bem como, por exemplo, modificações, tais como as descritas nas páginas 149, parágrafo 152 do WO 2009/138159. Um produto biológico baseado em ISVD ou baseados em Nanocorpos é de preferência um terapêutico ou é destinado a ser utilizado como terapêutico (o que inclui profilaxia e diagnóstico) e para este fim contém preferencialmente pelo menos um ISVD contra um alvo terapeuticamente relevante (tal como por exemplo RANK-L, vWF, IgE, RSV, CXCR4, IL-23 ou outras interleucinas, e etc.). Para alguns exemplos específicos, mas não limitativos de tais produtos biológicos baseados em ISVD ou baseados em Nanocorpos, a referência é feita aos Exemplos 8 a 18 e também, por exemplo, feita às vários pedidos de patente da Ablynx NV (como por exemplo e sem limitação ao WO 2004/062551, WO 2006/122825, WO 2008/020079 e WO 2009/068627),

bem como, por exemplo (e sem limitação), aos pedidos de patente publicados como WO 2006/038027, WO 2006/059108, WO 2007/063308, WO 2007/063311, WO 2007/066016 e WO 2007/085814. Também, como aqui descrito, a porção adicional pode ser um ISVD ou Nanocorpo como aqui descrito direcionado contra uma proteína do soro (humana), tal como albumina sérica (humana), e tal ISVD ou Nanocorpo pode também encontrar usos terapêuticos, em particular em e/ou para prolongar a meia-vida dos ligantes do TNF aqui descritos. Faz-se referência, por exemplo, aos documentos WO 2004/041865, WO 2006/122787 e WO 2012/175400, que descrevem geralmente o uso de nanocorpos de ligação soro-albumina para prolongamento da meia-vida. Também, na presente descrição, a menos que explicitamente mencionado de outra forma aqui, todos os termos aqui mencionados possuem o significado dado no WO 2009/138519 (ou na arte anterior citada no WO 2009/138519) ou no WO 2008/020079 (ou na arte anterior citada no WO 2008/020079). Também, quando um método ou técnica não especificamente descrito aqui, estes podem ser realizados como descrito no WO 2009/138519 (ou na arte anterior citada no WO 2009/138519) ou no documento WO 2008/020079 (ou na arte anterior citada no WO 2008/020079). Também, como aqui descrito, qualquer produto farmacêutico ou composição compreendendo qualquer ISVD ou composto da invenção pode também compreender um ou mais componentes adicionais conhecidos em si para uso em produtos farmacêuticos ou composições (isto é, dependendo da forma farmacêutica

pretendida) e/ou por exemplo um ou mais outros compostos ou princípios ativos destinados ao uso terapêutico (ou seja, para fornecer um produto de combinação).

[0054] Além disso, quando usados no presente relatório descritivo ou reivindicações, os seguintes termos têm o mesmo significado como dado daqui por diante, e/ou onde aplicável podem ser determinados da maneira descrita nas páginas 62 a 75 do WO 09/138519: "agonista", "antagonista", "agonista inverso", "resíduo de aminoácido descarregado apolar", "resíduo de aminoácidos descarregado polar", "resíduo de aminoácido carregado polar", "identidade de sequência", "exatamente o mesmo" e "diferença de aminoácido" (quando se referindo a uma comparação de seqüência de duas seqüências de aminoácidos), "(na) forma essencialmente isolada", "domínio", "domínio de ligação", "determinante antigênico", "epítopo", "contra" ou "direcionado contra" (um antígeno), "especificidade" e "meia-vida". Além disso, os termos "modulação" e "modular", "local de interação", "específico para", "bloqueio", "blockeado", "blockeando" e "essencialmente independente do pH" são como definidos (e/ou podem ser determinados conforme descrito) nas páginas 74 a 79 do WO 10/130832 da Ablynx N.V. Também, quando se refere a uma construção, composto, proteína ou polipeptídeo da invenção, termos como "monovalente", "bivalente" (ou "polivalentes"), "biespecífico" (ou "multiespecífico"), e "biparatópico" (ou

"multiparatópico") pode ter o significado dado no WO 09/138519, WO 10/130832 ou WO 08/020079.

[0055] O termo "meia-vida" como usado aqui em relação a um composto biológico, composto ou polipeptídeo baseado em ISVD, Nanocorpo, baseado em ISVD biológico, baseado em Nanocorpo ou qualquer outra sequência de aminoácidos aqui referido pode geralmente ser definido como descrito no parágrafo o) na página 57 do documento WO 2008/020079 e como aqui mencionado se refere ao tempo necessário para que a concentração sérica da sequência de aminoácidos, composto ou polipeptídeo se reduza em 50%, *in vivo*, por exemplo, devido à degradação da sequência ou composto e/ou depuração ou sequestro da sequência ou composto por mecanismos naturais. A meia-vida *in vivo* de uma sequência de aminoácidos, composto ou polipeptídeo da invenção pode ser determinada em qualquer maneira conhecida propriamente dita, tais como por análise farmacocinética. Técnicas adequadas serão claras para uma pessoa versada na arte e, por exemplo, geralmente podem ser como descritas no parágrafo o) na página 57 do WO 08/020079. Como também mencionado no parágrafo o) na página 57 do WO 08/020079, a meia-vida pode ser expressa usando parâmetros como $t_{1/2}$ -alfa, $t_{1/2}$ -beta e a área sob a curva (AUC). A este respeito, note-se que o termo "meia-vida" neste documento em particular se refere a $t_{1/2}$ -beta ou meia-vida terminal(em que o $t_{1/2}$ -alfa e/ou a AUC ou ambos podem ser mantidos fora de considerações). Por exemplo, referência é feita a parte Experimental abaixo,

bem como aos manuais padrões, tais como Kenneth, et al: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists and Peters et al, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996). Referência também é feita a "Pharmacokinetics", M Gibaldi & D Perron, published by Marcel Dekker, 2nd Rev. edition (1982). Da mesma forma, os termos "aumentar a meia-vida" ou "meia-vida aumentada" também como definidos no parágrafo o) na página 57 do WO 08/020079, em particular, se referem a um aumento no $t_{\frac{1}{2}}$ -beta, com ou sem um aumento no $t_{\frac{1}{2}}$ -alfa e/ou a AUC ou ambos.

[0056] Quando um termo não é especificamente definido neste documento, este têm o significado usual na arte, que será claro para uma pessoa versada na técnica. Por exemplo, a referência é feita aos manuais padrões, como Sambrook et al, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (2nd.Ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); F. Ausubel et al, eds., "Current protocols in molecular biology", Green Publishing and Wiley Interscience, New York (1987); Lewin, "Genes II", John Wiley & Sons, New York, N.Y., (1985); Old et al., "Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering", 2nd edition, University of California Press, Berkeley, CA (1981); Roitt et al., "Immunology" (6th. Ed.), Mosby/Elsevier, Edinburgh (2001); Roitt et al., Roitt's Essential Immunology, 10 Ed. Blackwell Publishing, UK (2001); e Janeway et al., "Immunobiology" (6th Ed.), Garland Science

Publishing/Churchill Livingstone, New York (2005), bem como no estado geral da arte citado aqui.

[0057] Também, como já indicado neste documento, os resíduos de aminoácidos de um Nanocorpo são numerados de acordo com a numeração geral para domínios VHs dada por Kabat et al. ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91), como aplicado ao domínio V_{HH} do camelídeos no artigo de Riechmann and Muyldermans, J. Immunol. Methods 2000 Jun 23; 240 (1-2): 185-195 (veja por exemplo a figura 2 desta publicação); ou referidos aqui. De acordo com esta numeração, FR1 de um Nanocorpo que compreende os resíduos de aminoácidos nas posições 1-30, CDR1 de um Nanocorpo compreende os resíduos de aminoácidos nas posições 31-35, FR2 de um Nanocorpo que compreende os aminoácidos nas posições 36-49, CDR2 de um Nanocorpo que compreende os resíduos de aminoácidos de ácido nas posições 50-65, FR3 de um Nanocorpo compreende os resíduos de aminoácidos nas posições 66-94, CDR3 de um Nanocorpo que compreende os resíduos de aminoácidos nas posições 95-102, e FR4 de um Nanocorpo que compreende os resíduos de aminoácidos nas posições 103-113. [A este respeito, convém notar que - como é conhecido na arte de domínios V_H e domínios V_{HH} - o número total de resíduos de aminoácidos em cada uma das CDR's pode variar e pode não corresponder ao número total de resíduos de aminoácidos indicados pela numeração de Kabat (ou seja, uma ou mais posições de acordo com a numeração de Kabat

não poderão ser ocupadas na sequência real, ou a sequência real pode conter resíduos de aminoácidos mais do que o número permitido pela numeração de Kabat). Isto significa que, em geral, a numeração de acordo com Kabat pode ou não corresponder à numeração real dos resíduos de aminoácidos na sequência real. Geralmente, entretanto, pode-se dizer que, de acordo com a numeração de Kabat e independentemente do número de resíduos de aminoácidos nas CDR's, de acordo com a posição 1 na numeração de Kabat corresponde ao início da FR1 e vice-versa, a posição 36 de acordo com a numeração de Kabat corresponde ao início da FR2 e vice-versa, a posição 66 de acordo com a numeração de Kabat corresponde ao inicio de FR3 e vice-versa, e na posição 103 de acordo com a numeração de Kabat corresponde ao início da FR4 e vice-versa].

[0058] Métodos alternativos para a numeração dos resíduos de aminoácidos dos domínios V_H , cujos métodos podem também ser aplicados de forma análoga aos domínios V_{HH} de camelídeos e aos Nanocorpos, são métodos descritos por Chothia et al. (Nature 342, 877-883 (1989)), a então chamada "definição AbM" e a então chamada "definição de contato". No entanto, na presente descrição, reivindicações e figuras, a numeração de acordo com Kabat aplicada aos domínios V_{HH} por Riechmann Muylldermans serão seguidos, salvo indicação contrária.

[0059] Também deve ser notado que as Figuras, Listagem de Sequência e Exemplos/Parte Experimental são dados somente para ilustrar ainda mais a invenção e não devem ser interpretados

ou considerados como limitadores do escopo da invenção e/ou das reivindicações anexas de forma alguma, a menos que explicitamente indicado em contrário.

[0060] Como adicionalmente descrito aqui, os ligantes de albumina sérica da invenção podem ser utilizados com vantagem como uma unidade de ligação, unidade de ligação ou parceiros de fusão a fim de aumentar a meia-vida de compostos terapêuticos, porções ou entidades tais como polipeptídeos, proteínas, compostos (incluindo, sem se limitar, as pequenas moléculas) ou outras entidades terapêuticas.

[0061] Assim, em outro aspecto, a invenção proporciona polipeptídeos, proteínas, construções, compostos ou outras entidades químicas que compreendem ou consistem essencialmente em um ligante de albumina sérica da invenção e uma ou mais outras sequências de aminoácidos, domínios (de ligação), unidades de ligação ou outras porções ou entidades químicas.

[0062] Em particular, a invenção proporciona polipeptídeos, proteínas, construções, compostos ou outras entidades químicas que compreendem um ligante de albumina sérica da invenção e uma ou mais (tal como uma ou duas) porções terapêuticas (que podem ser iguais ou diferentes e podem por exemplo, ser direcionadas contra o mesmo alvo ou a diferentes alvos, e quando são direcionadas para o mesmo alvo podem ser direcionadas para os mesmos ou diferentes epítopos, porções domínios ou subunidades do referido alvo), adequadamente ligados entre si diretamente ou via um ou mais adaptadores ou

administradas podem ser determinadas pelo clínico, novamente com base nos fatores citados acima.

[00104] Geralmente, para a prevenção e/ou tratamento das doenças e distúrbios aqui mencionados e dependendo da doença ou distúrbio específico a ser tratado, a potência e/ou a meia-vida dos compostos ou polipeptídeos da invenção a serem utilizados, a via de administração específica e a formulação ou composição farmacêutica específica utilizada, os compostos ou polipeptídeos da invenção serão geralmente administrados em uma quantidade entre 1 grama e 0,01 microgramas por kg de peso corporal por dia, de preferência entre 0,1 grama e 0,1 microgramas por kg de peso corporal por dia, tal como cerca de 1, 10, 100 ou 1000 microgramas por kg de peso corporal por dia, continuamente (por exemplo, por infusão) como uma dose diária única ou como várias doses divididas durante o dia. O clínico geralmente será capaz de determinar uma dose diária adequada, dependendo dos fatores aqui mencionados. Também ficará claro que, em casos específicos, o clínico pode optar por se desviar desses valores, por exemplo, com base nos fatores citados acima e em seu julgamento especializado. Geralmente, algumas orientações sobre as quantidades a serem administradas podem ser obtidas a partir das quantidades geralmente administradas para anticorpos convencionais comparáveis ou fragmentos de anticorpos contra o mesmo alvo administrado essencialmente pela mesma via, levando em consideração, entretanto, diferenças na afinidade/avidez,

eficácia, biodistribuição, meia-vida e fatores semelhantes bem conhecidos para aqueles versado na arte.

[00105] Também, como os compostos da invenção contêm um ligante de albumina sérica de meia-vida estendida da invenção, eles não precisam ser administrados essencialmente continuamente (por exemplo, por infusão), mas podem ser administrados em intervalos adequados (a ser determinado pelo clínico). Por exemplo, eles podem ser administrados (em uma dose adequada) uma vez a cada dois dias, uma vez a cada quatro dias, uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas e em alguns casos uma vez a cada quatro semanas ou ainda menos frequentemente, por exemplo por injeção ou infusão.

[00106] Um aspecto da invenção se refere a uma composição farmacêutica compreendendo pelo menos um composto ou polipeptídeo da invenção em que a referida composição se destina a administração em um intervalo entre uma vez por semana e uma vez a cada 4 semanas, e em particular entre uma vez a cada 7 dias e uma vez a cada 21 dias, como uma vez a cada 7 dias ou 14 dias.

[00107] Normalmente, no método acima, será utilizado um único polipeptídeo da invenção. No entanto, está no âmbito da invenção usar dois ou mais polipeptídeos da invenção em combinação.

[00108] Os polipeptídeos da invenção podem também ser utilizados em combinação com um ou mais compostos ou princípios farmaceuticamente ativos adicionais, isto é, como

um regime de tratamento combinado, que pode ou não conduzir a um efeito sinérgico. Mais uma vez, o clínico será capaz de selecionar tais compostos ou princípios adicionais, bem como um regime de tratamento combinado adequado, com base nos fatores citados acima e seu julgamento especializado.

[00109] Em particular, os polipeptídeos da invenção podem ser utilizados em combinação com outros compostos ou princípios farmaceuticamente ativos que são ou podem ser utilizados para a prevenção e/ou tratamento de doenças e distúrbios que podem ser prevenidos ou tratados com as construções ou proteínas de fusão da invenção e, como resultado, um efeito sinérgico pode ou não ser obtido.

[00110] A eficácia do regime de tratamento utilizado de acordo com a invenção pode ser determinada e/ou seguida de qualquer maneira conhecida per se para a doença ou distúrbio envolvido, como será claro para o clínico. O clínico também poderá, quando apropriado e/ou caso a caso, alterar ou modificar um regime de tratamento específico, de modo a obter o efeito terapêutico desejado, evitar, limitar ou reduzir os efeitos colaterais indesejados e/ou conseguir um equilíbrio apropriado entre alcançar o efeito terapêutico desejado por um lado e evitar, limitar ou reduzir efeitos colaterais indesejados por outro lado.

[00111] Geralmente, o regime de tratamento será seguido até que o efeito terapêutico desejado seja alcançado e/ou enquanto

o efeito terapêutico desejado for mantido. Novamente, isso pode ser determinado pelo clínico.

[00112] Outros aspectos, modalidades, vantagens e aplicações da invenção se tornarão claros a partir da descrição adicional aqui apresentada.

[00113] A invenção será agora descrita adicionalmente por meio dos seguintes aspectos preferidos não limitativos, exemplos e figuras.

[00114] A Figura 1 é uma tabela que lista algumas das posições de aminoácidos que serão especificamente referidas aqui e sua numeração de acordo com alguns sistemas de numeração alternativos (tais como Aho e IMGT).

[00115] A Figura 2 lista as sequências de aminoácidos que são aqui referidas.

[00116] As Figuras 3A e 3B mostram um alinhamento da sequência da SEQ ID NOS: 18 e 19 (invenção) com as sequências da técnica anterior das SEQ ID NOS: 1 e 2;

[00117] A figura 4 mostra um alinhamento das SEQ ID NOS: 18 a 44;

[00118] A Figura 5 apresenta um alinhamento da albumina sérica de diferentes espécies de mamíferos.

[00119] A Figura 6 é um gráfico que mostra a ligação da SEQ ID NO: 1 (referência) -cMycHis6 para HSA revestida na presença do ligante da albumina sérica da SEQ ID NO: 19 (invenção). 1,5 nM SEQ ID No 1-cMycHis6 e séries de concentrações de His6Flag3-SEQ ID NO: 1 (referência), Flag3His6-SEQ ID NO: 19

(invenção) ou cAblys3-Flag3His6 (referência) foram incubadas em HSA revestido. A SEQ ID NO: 1-cMycHis6 ligada foi detectada com anti-cMyc de cabra e anticorpos anti-cabra de coelho e marcados com HRP.

[00120] A Figura 7 é um gráfico que mostra a ligação da HSA ao FcRn na presença do ligante da albumina sérica da SEQ ID NO: 19 (invenção). O heterodímero de microglobulina β 2 humana FcRn-humana foi imobilizado em chip CM5. A ligação de 1 μ M de HSA na ausência ou presença de 2 μ M de Nanocorpo em NaPO₄ a 50 mM + NaCl a 150 mM + Tween-20 a 0,05% com pH 6,0 foi monitorada em um instrumento Biacore T100.

[00121] Todo o conteúdo de todas as referências (incluindo referências bibliográficas, patentes publicadas, pedidos de patente publicados e pedidos de patentes pendentes) citados ao longo deste pedido são aqui expressamente incorporados por referência, em particular para o ensino que é referenciado acima.

Parte Experimental

Exemplo 1: Afinidade da albumina sérica

[00122] A afinidade do ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 15 para humanos (Sigma-Aldrich A3782), macaco cinomolgo (gerado internamente), camundongo (Albumin Bioscience 2601), rato (Sigma-Aldrich A4538), coelho (Sigma-Aldrich A0764), porquinho da índia (Gentaur GPSA62), porco (Sigma-Aldrich A4414), ovelha (Sigma-Aldrich A3264), cão (Abcam 119814) e albumina sérica bovina (Sigma-Aldrich A3059) (SA) foi medido

via Ressonância de plasmons de superfície (SPR) Instrumento ProteOn XPR36 (BioRad). A albumina sérica foi imobilizada através de acoplamento de amina em chip GLC ProteOn utilizando o Kit de Acoplamento de Amina ProteOn (BioRad). Diferentes concentrações (300 nM, 100 nM, 33,3 nM, 11,1 nM, 3,7 nM e 1,23 nM) do ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 19 (invenção) foram injetadas em tampão HBS-P+ pH 7,4 (GE Healthcare) a 45 µL/min por 120 s, seguido de dissociação por 900 s. Não foi observada nenhuma ligação ou ligação muito baixa para o ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 19 (invenção) em SA de coelho, ovelha e bovino. A afinidade do ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 19 (invenção) para humano, macaco cinomolgos, camundongo, rato e porquinho-da-índia foi superior comparada com as respectivas afinidades do ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 1. Os resultados são dados na Tabela 1 abaixo e mostram que o ligante de albumina sérica de SEQ ID NO: 19 (invenção) é de reação cruzada com SA de cão e porco.

Tabela 1: Parâmetros cinéticos para ligação do ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 19 em SA de diferentes espécies.

	SEQ ID NO:19 (invenção)			SEQ ID NO:1 (referência)		
	SA ka (s-1M-1)	Kd (s-1)	KD (M)	ka (s-1M-1)	Kd (s-1)	KD (M)
Humano	7,9E+05	3,7E-05	4,6E-11	4.9E+05	1.6E-03	3.3E-09
cino	8,3E+05	1,4E-05	1,6E-11	4.6E+05	1.4E-03	3.1E-09
Camund	1,2E+06	1,5E-05	1,2E-11	3.9E+05	2.6E-01	6.7E-07

ongo						
Rato	9,4E+05	1,5E-05	1,6E-11	6.6E+05	3.0E-02	3.9E-08
Porqui nho da índia	9,4E+05	5,6E-05	5,9E-11	9.4E+05	1.9E-02	2.0E-08
cão	9,0E+05	2,5E-03	2,8E-09	Sem ligante		
porco	1,2E+05	3,6E-02	2,9E-07	Sem ligante		
O ligante de albumina sérica de SEQ ID NO: 19 (invenção) foi injetado em diferentes concentrações em SA imobilizado em um instrumento ProteOn. A cinética de ligação e dissociação foi analisada em pH 7,4. Os parâmetros cinéticos para SEQ ID NO: 1 são listados como referência e foram determinados em experimentos separados.						

[00123] A meia-vida longa da albumina no sangue é impulsionada principalmente por duas características: (i) o tamanho grande (65 kDa) da albumina limita sua filtração glomerular e (ii) a albumina se liga ao FcRn em pH baixo (pH 6), que protege albumina da degradação nos lisossomos após endocitose passiva em células endoteliais e epiteliais, pela reciclagem do endossoma inicial de volta ao ambiente extracelular. Para que os Nanocorpos de ligação à albumina resultem em meia-vida sérica longa através da ligação à albumina e subsequente reciclagem, estes devem permanecer ligados à albumina na faixa de pH de 5,0 a 7,4. A taxa de dissociação do ligante de albumina sérica de SEQ ID NO: 19 (invenção) de HSA a pH 5, pH 6 e pH 7,4 foi medida em um instrumento ProteOn como descrito acima, incluindo SEQ ID NO: 1 (referência) como referência. o ligante de albumina sérica

de SEQ ID NO: 19 (invenção) e SEQ ID NO: 1 (referência) foram injetados a 500 nM e 300 nM, respectivamente, em tampão HBS-P+ pH 7,4. Os tampões de dissociação foram 50 mM NaOAc/HOAc + 150 mM NaCl + 0,05% Tween-20 pH 5,0, 50 mM NaOAc/HOAc + 150 mM NaCl + 0,05% Tween-20 pH 6,0 e HBS-P+ pH 7,4 respectivamente. A dissociação foi analisada por 2700 s. As taxas de dissociação para o ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 19 (invenção) não diferem significativamente ao longo da faixa de pH de 5,0 a 7,4. Os resultados são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 Taxa de dissociação do ligante de albumina sérica de SEQ ID NO: 19 (invenção) de HSA em diferentes pH.

	kd (s-1)	
pH	SEQ ID NO:19 (invenção)	SEQ ID NO:1 (referência)
pH 7,4	2.0E-04	1.3E-03
pH 6,0	3.2E-04	9.2E-04
pH 5,0	5.1E-04	1.1E-03
Os ligantes de albumina sérica de SEQ ID NO: 19 (invenção) e SEQ ID NO: 1 (referência) foram injetados em albumina sérica humana imobilizada. A dissociação foi monitorada em pH 5,0, 6,0 e 7,4 em um instrumento ProteOn.		

Exemplo 2: Epítopo

[00124] A compartimentação de epítópos foi analisada em um ELISA de competição. A albumina sérica humana foi revestida a 125 ng/ml em PBS a 4°C durante a noite. Após bloqueio com PBS + caseína a 1%, ligante de albumina sérica 1,5 nM da SEQ ID NO: 1 (referência)-cMycHis6 e uma série de concentrações de

competidores (His6Flag3- o ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 19 (invenção), His6Flag3-SEQ ID NO: 1 (referência) como controle positivo ou anticorpo de domínio único de ligação à lisozima de ovo de galinha cAblys3-Flag3His6 como controle negativo) foram adicionados. A SEQ ID NO: 1 ligada (referência) -cMycHis6 foi detectada com anticorpos anti-cMyc de cabra (Abcam ab19234) e anti-cabra marcada com HRP (Genway 18-511-244226). O ligante de albumina sérica de SEQ ID NO: 19 (invenção) e SEQ ID NO: 1 (referência) não se ligam a epítopos idênticos em HSA (Figura 6).

Exemplo 3: Interferência com interação entre SA e FcRn

[00125] Para o ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 15 resultar em meia-vida longa via ligação à albumina e subsequente a reciclagem, não deve interferir com a ligação de albumina a FcRn. Isso foi analisado no SPR em um instrumento Biacore T100 (GE Healthcare). O heterodímero de microglobulina $\beta 2$ humana FcRn-humana (Sino Biological CT009-H08H) foi imobilizado em chip CM5 através de acoplamento de amina padrão (kit de acoplamento de amina Biacore). Uma mistura de 1 μM de HSA e 2 μM de Nanocorpo (His6Flag3-o ligante de albumina sérica da SEQ ID NO: 19 (invenção), His6Flag3-SEQ ID NO: 1 (referência) ou cAblys3-Flag3His6) em 50 mM de NaPO₄ + 150 mM de NaCl + 0,05% de Tween-20 em pH 6,0 foi injetado em 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ por 120 s, seguido de dissociação durante 600 s. As curvas de ligação foram comparadas qualitativamente com a curva de ligação de 1 μM de HSA na ausência de Nanocorpo. O

ligante de albumina sérica de SEQ ID NO: 19 (invenção) não interferiu com a ligação de HSA para FcRn (Figura 7).

Exemplo 4 – Perfil PK no cão

[00126] As farmacocinéticas de uma construção de Nanocorpo trivalente (SEQ ID NO: 53) após a dose intravenosa única são estudadas em cães. A construção trivalente foi produzida em *Pichia pastoris* e compreende dois Nanocorpos contra o vírus sincicial respiratório (RSV) com o Nanocorpo de ligação à albumina da SEQ ID NO: 21 na extremidade C-terminal (na qual os três Nanocorpos estão ligados um ao outro usando (Gly4Ser))⁷ ligantes).

[00127] O perfil farmacocinético da construção avaliado em um estudo farmacocinético (não cruzado, dose única) em doze cães Beagles machos, saudáveis em jejum (saudáveis como determinado por um exame prévio de saúde). A construção é administrada intravenosamente.

[00128] Os animais são colocados em jejum (com acesso ininterrupto a água) durante a noite antes da dosagem e antes da coleta de amostras de sangue em pré-doses de 24, 168 e 336 horas após a dosagem (tempo de jejum total não é maior do que 24 horas). A comida é dada 4 horas após a dose, ou imediatamente após a coleta de sangue, às 24, 168 e 336 horas. O peso corporal também é registrado e analisado durante o estudo.

[00129] 1 ml de sangue total (ou 2-3 ml pré-dose e às 24, 168 e 336 horas) para plasma é coletado de uma pré-dose de vaso

periférico e em 5, 15, 30 min e 1, 4, 8, 12, 24, 72, 168, 240, 336, 504 e 672 horas após a dose inicial. As amostras recolhidas para processamento do soro são mantidas à temperatura ambiente e são deixadas coagular. O sangue é centrifugado a 10.000 rpm por 2 minutos usando uma centrífuga refrigerada (ajustada para manter 4°C). As amostras são congeladas dentro de 30 minutos da coleta até serem submetidas à análise (incluindo medição da concentração da construção Nanocorpo relevante).

espaçadores adequados. Tais polipeptídeos, proteínas ou construções podem, por exemplo e sem limitação, ser uma proteína de fusão, tal como aqui descrito.

[0063] A invenção se refere ainda a utilizações terapêuticas de tais polipeptídeos, proteínas, construções ou compostos e composições farmacêuticas compreendendo tais polipeptídeos, proteínas, construções ou compostos.

[0064] Em um aspecto, pelo menos uma porção terapêutica compreende ou consiste essencialmente em uma proteína, polipeptídeo, composto, fator ou outra entidade terapêutica. Em uma modalidade preferida, a porção terapêutica é direcionada contra um antígeno ou alvo desejado, é capaz de se ligar a um antígeno desejado (e em particular capaz de se ligar especificamente a um antígeno desejado) e/ou é capaz de interagir com um alvo desejado. Em outra modalidade, pelo menos uma porção terapêutica compreende ou consiste essencialmente em uma proteína ou polipeptídeo terapêutico. Em uma modalidade adicional, pelo menos uma porção terapêutica compreende ou consiste essencialmente em um domínio de ligação ou unidade de ligação, tal como uma imunoglobulina ou sequência de imunoglobulina (incluindo, mas sem se limitar a um fragmento de uma imunoglobulina), tal como um anticorpo ou um fragmento de anticorpo (incluindo, mas sem se limitar a um fragmento ScFv), ou de outro esqueleto de proteína adequado, tais como domínios de proteína A (como Affibodies™), tendamistat, fibronectina, lipocalina, CTLA-4, receptores de

células T, proteínas projetadas de repetição de anquirina, multímeros de avidez (avimers) e domínios PDZ (Binz et al. Nat. Biotech 2005, Vol 23:1257), e porções de ligação, baseada em DNA ou RNA, incluindo mas não limitados a aptâmeros DNA ou RNA (Ulrich et al. Comb Chem High Throughput Screen 2006 9 (8): 619-32).

[0065] Ainda em outro aspecto, pelo menos uma porção terapêutica compreende ou consiste essencialmente em um domínio variável de anticorpo, tal como um domínio variável de cadeia pesada ou um domínio variável de cadeia leve.

[0066] Em um aspecto preferido, pelo menos uma porção terapêutica compreende ou consiste essencialmente em pelo menos um domínio variável único de imunoglobulina, tal como um anticorpo de domínio, anticorpo de domínio único, "dAb" ou Nanocorpo (tal como um VHH, um VHH humanizado ou um VH camelizado) ou um domínio IgNAR.

[0067] Em uma modalidade específica, pelo menos uma porção terapêutica compreende ou consiste essencialmente em pelo menos um Nanocorpo monovalente ou uma construção de Nanocorpo bivalente, multivalente, biespecífica ou multiespecífica.

[0068] Os polipeptídeos, proteínas (de fusão), construções ou compostos que compreendem um ligante de albumina sérica da invenção e uma ou mais porções terapêuticas podem geralmente ser (preparados e utilizados) como descrito na técnica anterior citada acima (tais como, WO 04/041865, WO 06/122787, WO 2012/175400 e WO 2015/173325, também se faz referência, por

exemplo, ao WO 2004/003019, EP 2 139 918, WO 2011/006915 e WO 2014/111550) com um ligante de albumina sérica da invenção, em vez das porções aumentadas da meia-vida.

[0069] Os polipeptídeos, proteínas (de fusão), construções ou compostos que compreendem um ligante de albumina sérica da invenção e uma ou mais porções terapêuticas ter, de um modo geral e de referência, uma meia-vida aumentada (como aqui descrito e preferivelmente expresso como $t_{1/2}$ -beta), em comparação com a porção terapêutica ou porções em si.

[0070] Geralmente, os compostos, polipeptídeos, construções ou proteínas de fusão aqui descritas possuem preferivelmente uma meia-vida (novamente, como aqui descrito e preferencialmente expresso como $t_{1/2}$ -beta) que é pelo menos 1,5 vezes, de preferência pelo menos 2 vezes, tal como pelo menos 5 vezes, por exemplo, pelo menos 10 vezes ou mais de 20 vezes, maior do que a meia-vida da porção terapêutica correspondente em si (medida tanto no homem como em qualquer animal adequado, tais como, rato ou macaco cinomolgos).

[0071] Também, preferivelmente, qualquer desses compostos, polipeptídeo, proteína de fusão ou construção tem uma meia-vida (novamente, como aqui descrito, e preferencialmente expresso como $t_{1/2}$ -beta) no homem que é aumentada em mais do que 1 hora, de preferência mais do que 2 horas, mais preferivelmente maior do que 6 horas, tal como de maior do que 12 horas, comparado com a meia-vida da porção terapêutica correspondente em si.

[0072] Também, preferivelmente, um composto ou polipeptídeo da invenção tem uma meia-vida (novamente, como aqui descrito, e de preferência expresso como t_{1/2}-beta) no homem que é maior do que 1 hora, preferencialmente maior do que 2 horas, mais preferencialmente maior do que 6 horas, como por exemplo maior do que 12 horas e, por exemplo, cerca de um dia, dois dias, uma semana, duas semanas e até meia-vida de albumina sérica no homem (estimada em cerca de 19 dias).

[0073] Como mencionado, em um aspecto, um ligante de albumina sérica da invenção utilizado para aumentar a meia-vida de (um ou mais) domínios variáveis únicos de imunoglobulina, tais como anticorpos de domínio, anticorpos de domínio único, "dAb's", VHs ou Nanocorpos (tais como VHH's, VHH humanizados ou VH camelizado, tais como VHs humanos camelizados).

[0074] Assim, uma modalidade da invenção se refere a um polipeptídeo, construção ou proteína de fusão que compreende um ligante de albumina sérica da invenção e uma ou mais (tal como uma ou duas) sequências de domínio variável único de imunoglobulina, que estão adequadamente ligadas umas às outras, quer diretamente quer opcionalmente através de um ou mais adaptadores ou espaçadores adequados. Como aqui mencionado, cada domínio variável único de imunoglobulina presente em um tal polipeptídeo, construção ou proteína de fusão pode independentemente ser um anticorpo de domínio, anticorpo de domínio único, "dAb" ou Nanocorpo (tais como, um

VHH, VHH humanizado ou VH camelizado, tal como um VH humano camelizado); e de acordo com um aspecto específico, mas não limitativo, pelo menos um (e até todos) destes domínios variáveis únicos de imunoglobulina compreende duas ou três pontes dissulfeto. De preferência, todos os ISVD presentes neste composto da invenção são nanocorpos.

[0075] Quando um composto da invenção tem um ISVD na sua extremidade C-terminal (tal como um ligante de albumina sérica da invenção ou um ISVD que é direcionado contra um alvo terapêutico), então o dito ISVD C-terminal (e assim, pela extensão, todo o composto da invenção) preferencialmente tem uma extensão C-terminal na sua extremidade C-terminal. Esta extensão C-terminal será diretamente ligada ao último resíduo de aminoácido do ISVD C-terminal, que geralmente será o resíduo de aminoácido na posição 113 de acordo com Kabat (a menos que o ISVD contenha uma ou mais deleções de aminoácidos de forma que a sequência do ISVD termina antes da posição 113). Assim, geralmente, a extensão C-terminal será diretamente ligada à sequência VTVSS C-terminal (SEQ ID NO: 78) do ISV C-terminal (e assim, por extensão, à sequência TVTSS C-terminal do composto da invenção) ou a sequência C-terminal do ISVD C-terminal que corresponde sequência ISVD C-terminal (por exemplo, em que a referida sequência C-terminal do ISVD C-terminal contém uma ou mais substituições ou deleções comparativamente a sequência VTVSS usual, tal como T110K, T110Q, S112K ou S112K).

[0076] Será também claro para uma pessoa versada na técnica no caso em que um composto da invenção tem um ligante de albumina sérica da invenção na sua extremidade C-terminal, que então o referido ligante de albumina sérica da invenção transportará a referida extensão C-terminal.

[0077] Geralmente, qualquer extensão C-terminal que é aqui utilizada (isto é, na extremidade C-terminal de um composto da invenção e/ou na extremidade C-terminal de um ligante de albumina sérica da invenção) pode geralmente ser como descrito no WO 2012/174741 ou WO 2015/173325 (referência também é feita, por exemplo, WO 2103/024059 e WO2016/118733). Em particular, uma extensão C-terminal pode ter a fórmula $(X)_n$, na qual n é 1 a 10, preferivelmente 1 a 5, tal como 1, 2, 3, 4 ou 5 (e preferivelmente 1 ou 2, tal como 1); e cada X é um resíduo de aminoácido (de preferência de ocorrência natural) que é independentemente escolhido dos resíduos de aminoácido que ocorrem naturalmente (embora de acordo com um aspecto preferido, não contém quaisquer resíduos de cisteína) e de preferência independentemente escolhido do grupo consistindo de alanina (A), glicina (G), valina (V), leucina (L) ou isoleucina (I).

[0078] De acordo com alguns aspectos preferidos, mas não limitativos, de tais extensões do C-terminal, $X_{(n)}$, X e n podem ser os seguintes:

- (a) n = 1 e X = Ala;
- (b) n = 2 e cada X = Ala;

- (c) n = 3 e cada X = Ala;
- (d) n = 2 e pelo menos um X = Ala (com os resíduos de aminoácidos remanescentes X sendo escolhidos independentemente de qualquer aminoácido de ocorrência natural, mas preferivelmente sendo escolhido independentemente de Val, Leu e/ou Ile);
- (e) n = 3 e pelo menos um X = Ala (com os resíduos de aminoácidos remanescentes X sendo escolhidos independentemente de qualquer aminoácido de ocorrência natural, mas preferivelmente sendo escolhido independentemente de Val, Leu e/ou Ile);
- (f) n = 3 e pelo menos dois X = Ala (com os resíduos de aminoácidos remanescentes X sendo escolhidos independentemente de qualquer aminoácido de ocorrência natural, mas preferivelmente sendo escolhido independentemente de Val, Leu e/ou Ile);
- (g) n = 1 e X = Gly;
- (h) n = 2 e cada X = Gly;
- (i) n = 3 e cada X = Gly;
- (j) n = 2 e pelo menos um X = Gly (com os resíduos de aminoácidos remanescentes X sendo escolhidos independentemente de qualquer aminoácido de ocorrência natural, mas preferivelmente sendo escolhido independentemente de Val, Leu e/ou Ile);
- (k) n = 3 e pelo menos um X = Gly (com os resíduos de aminoácidos remanescentes X sendo escolhidos

independentemente de qualquer aminoácido de ocorrência natural, mas preferivelmente sendo escolhido independentemente de Val, Leu e/ou Ile);

- (l) n = 3 e pelo menos dois X = Gly (com os resíduos de aminoácidos remanescentes X sendo escolhidos independentemente de qualquer aminoácido de ocorrência natural, mas preferivelmente sendo escolhido independentemente de Val, Leu e/ou Ile);
- (m) n = 2 e cada X = Ala ou Gly;
- (n) n = 3 e cada X = Ala ou Gly;
- (o) n = 3 e pelo menos um X = Ala ou Gly (com os resíduos de aminoácidos remanescentes X sendo escolhidos independentemente de qualquer aminoácido de ocorrência natural, mas preferivelmente sendo escolhido independentemente de Val, Leu e/ou Ile); ou
- (p) n = 3 e pelo menos dois X = Ala ou Gly (com os resíduos de aminoácidos remanescentes X sendo escolhidos independentemente de qualquer aminoácido de ocorrência natural, mas preferivelmente sendo escolhido independentemente de Val, Leu e/ou Ile);

com os aspectos (a), (b), (c), (g), (h), (i), (m) e (n) sendo particularmente preferidos, com aspectos em que n = 1 ou 2 sendo preferidos e aspectos em que n = 1 é particularmente preferido.

[0079] Deve também notar-se que, de preferência, qualquer extensão C-terminal presente em um ligante de albumina sérica

da invenção não contém um resíduo de cisteína (livre) (a menos que o referido resíduo de cisteína seja utilizado ou pretendido para posterior funcionalização, por exemplo para peguilação).

[0080] Alguns exemplos específicos, mas não limitativos, de extensões úteis do C-terminal são as seguintes sequências de aminoácidos: A, AA, AAA, G, GG, GGG, AG, GA, AAG, AGG, AGA, GGA, GAA ou GAG.

[0081] De preferência também, quando um composto da invenção tem um ISVD na sua extremidade C-terminal (tal como um ligante de albumina sérica da invenção ou um ISVD que é direcionado contra um alvo terapêutico), então (pelo menos) o referido ISVD C-terminal preferivelmente contém, ainda mais preferencialmente em adição de uma extensão C-terminal como aqui descrita, uma ou mais mutações que reduzem a ligação por anticorpos preexistentes (isto é, como aqui descrito para os ligantes de albumina sérica da invenção e como descrito de modo geral no WO 2012/175741 e WO 2015/173325 e também, por exemplo, nos documentos WO 2013/024059 e WO 2016/118733). A este respeito, será claro para uma pessoa versada na técnica no caso em que um composto da invenção tem um ligante de albumina sérica da invenção na sua extremidade C-terminal, que então (pelo menos) o referido ligante de albumina sérica da invenção preferencialmente conterá tais mutações (isto é, de preferência além de uma extensão C-terminal).

[0082] Mais geralmente, de acordo com um aspecto específico da invenção, quando um composto da invenção contém dois ou mais ISVDS (por exemplo, um ligante de albumina sérica da invenção e um ou mais ISVD contra um alvo terapêutico), de preferência todos estes ISVDS contêm mutações que reduzem a ligação a anticorpos preexistentes (de novo, de preferência em adição à extensão C-terminal que está ligada ao ISVD C-terminal se o composto da invenção tiver um ISVD na sua extremidade C-terminal).

[0083] Quando um composto da invenção tem um ISVD na sua extremidade N-terminal (tal como um ligante de albumina sérica da invenção ou um ISVD que é direcionado contra um alvo terapêutico), então o dito ISVD N-terminal (e assim, por extensão, todo o composto da invenção) contém preferivelmente um D na posição 1. A este respeito, será novamente claro para uma pessoa versada na técnica no caso em que um composto da invenção tem um ligante de albumina sérica da invenção na sua extremidade N-terminal, onde então o referido ligante de albumina sérica da invenção terá preferencialmente um D na posição 1 (isto é, uma mutação E1D em comparação com, por exemplo, a sequência da SEQ ID NO: 18 e/ou 19, tal como nas sequências de aminoácidos da invenção de SEQ ID NOS: 36 a 44).

[0084] Em alguns aspectos adicionais, a invenção se refere a uma proteína, polipeptídeo ou outro composto ou construção que comprehende ou consiste essencialmente em pelo menos um (e de preferência apenas um) ligante de albumina sérica da invenção

e pelo menos uma (tal como um, dois ou três) porção ou entidade terapêutica (em que o referido ligante de albumina sérica e uma ou mais porções ou entidades terapêuticas são adequadamente ligados, opcionalmente por meio de um ou mais ligantes adequados), cuja construção de proteína, polipeptídeo, composto, é tal que:

- quando tem um ISVD na sua extremidade C-terminal, então (o ISVD C-terminal da) a referida proteína, polipeptídeo, composto, construção tem uma extensão C-terminal (X)_n (como adicionalmente descrito aqui) na sua extremidade C-terminal; e/ou
- quando tem um ISVD na sua extremidade C-terminal, então pelo menos o ISVD C-terminal contém uma ou mais mutações que reduzem a ligação de anticorpos preexistentes (como aqui descrito mais adiante);
- quando tem um ISVD na sua extremidade N-terminal, então (o ISVD N-terminal da) a referida proteína, polipeptídeo, composto, construção contém preferencialmente um D na posição 1; e/ou
- em que os referidos ISVDS cuja proteína, polipeptídeo ou outro composto podem também ter ISVD na sua extremidade N-terminal, cujo caso a dita extremidade do ISDV N-terminal tem preferencialmente um D ou um E1D na posição 1;
- de preferência, essencialmente, todos os ISVD presentes na referida proteína, polipeptídeo, composto, construção contêm

uma ou mais mutações que reduzem a ligação de anticorpos preexistentes (como aqui descrito mais adiante).

[0085] De acordo com um aspecto específico da invenção, todas as porções terapêuticas presentes em um composto da invenção são ISVD (isto é, ISVD contra um alvo terapêutico) e, em particular, ISVDS de cadeia pesada e mais em particular Nanocorpos (isto é, Nanocorpos contra um alvo terapêutico).

[0086] Por exemplo e sem limitação, tais compostos da invenção podem compreender:

- uma cópia de um ligante de albumina sérica da invenção e um ISVD (e preferivelmente Nanocorpo) contra um alvo terapêutico; ou

- uma cópia de um ligante de albumina sérica da invenção e dois ISVDS (e preferivelmente dois Nanocorpos) contra um alvo terapêutico (que ISVDS podem ser iguais ou diferentes e quando diferentes podem ser direcionados contra o mesmo alvo, contra diferentes epítopos no mesmo alvo ou contra diferentes alvos terapêuticos); ou

- uma cópia de um ligante de albumina sérica da invenção e três ISVDS (e preferencialmente três nanocorpos) contra um alvo terapêutico (que ISVDS podem ser iguais ou diferentes e quando diferentes podem ser direcionados contra o mesmo alvo, contra diferentes epítopos no mesmo alvo ou contra diferentes alvos terapêuticos).

[0087] Alguns exemplos não limitativos de construções, proteínas de fusão ou polipeptídeos da invenção podem ser

esquematicamente representados como se segue, em que "[Alb]" representa um ligante de albumina sérica da invenção, "[porção terapêutica 1]" e "[porção terapêutica 2]" representa as porções terapêuticas (as quais como mencionado podem ser independentemente um domínio variável único de imunoglobulina), "--" representa um ligante adequado (que é opcional; exemplos adequados são ligantes 9GS e 35GS) e o N-terminal está no lado esquerdo e o C-terminal está do lado direito:

[Alb] - [porção terapêutica 1]

[porção terapêutica 1] - [Alb]-X_(n)

[Alb] - [porção terapêutica 1] - [porção terapêutica 1]

[porção terapêutica 1] - [porção terapêutica 1] - [Alb]-X_(n)

[porção terapêutica 1] - [Alb] - [porção terapêutica 1]

[Alb] - [porção terapêutica 1] - [porção terapêutica 2]

[porção terapêutica 1] - [porção terapêutica 2] - [Alb]-X_(n)

[porção terapêutica 1] - [Alb] - [porção terapêutica 2]

[0088] Quando as porções terapêuticas são ISVDS (e preferivelmente Nanocorpos) contra um alvo terapêutico, mas não limitantes às construções, proteínas de fusão ou polipeptídeos preferidos da invenção podem ser esquematicamente representadas como se segue, em que "[Alb]" representa um ligante de albumina sérica da invenção, "[ISVD terapêutico 1]" e "[ISVD terapêutico 2]" representam ISVDS contra um alvo terapêutico (cujos ISVDS podem ser iguais ou diferentes, e quando diferentes podem ser direcionados contra

o mesmo alvo, contra diferentes epítopos do mesmo alvo ou contra alvos terapêuticos diferentes), "—" representa um ligante adequado (que é opcional), X_(n) representa uma extensão C-terminal como descrito aqui, e o N-terminal está no lado esquerdo e o C-terminal está no lado direito:

[Alb] - [ISVD terapêutico 1] -X_(n)

[ISVD terapêutico 1] - [Alb]-X_(n)

[Alb] - [ISVD terapêutico 1] - [ISVD terapêutico 1] -X_(n)

[ISVD terapêutico 1] - [ISVD terapêutico 1] - [Alb]-X_(n)

[ISVD terapêutico 1] - [Alb] - [ISVD terapêutico 1] -X_(n)

[Alb] - [ISVD terapêutico 1] - [ISVD terapêutico 2] -X_(n)

[ISVD terapêutico 1] - [ISVD terapêutico 2] - [Alb]-X_(n)

[ISVD terapêutico 1] - [Alb] - [ISVD terapêutico 2] -X_(n)

[0089] Assim, em outro aspecto, a invenção se refere a uma construção de Nanocorpo multiespecífica (e em particular biespecífica) que compreende um ligante de albumina sérica da invenção e pelo menos um outro Nanocorpo (tal como um ou dois outros Nanocorpos, que podem ser iguais ou diferentes), em que o referido pelo menos um outro Nanocorpo é de preferência direcionado contra um alvo desejado (que é preferencialmente um alvo terapêutico) e/ou outro Nanocorpo que seja útil ou adequado para fins terapêuticos, profiláticos e/ou de diagnóstico. Mais uma vez, o ligante de albumina sérica da invenção e os outros nanocorpos podem ser adequadamente ligados uns aos outros tanto diretamente como opcionalmente via um ou mais ligantes ou espaçadores adequados.

[0090] Para uma descrição geral de polipeptídeos multivalentes e multiespecíficos contendo um ou mais nanocorpos e a sua preparação, referência também é feita a Conrath et al., J. Biol. Chem. 276, 10. 7346-7350, 2001; Muyldermans, Reviews in Molecular Biotechnology 74 (2001), 277-302; bem como, por exemplo, nos documentos WO 96/34103, WO 99/23221, WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 ou WO 2009/068627.

[0091] Por meio de ilustração, alguns exemplos de compostos da invenção são dados nas SEQ ID NOS: 46 a 52, usando o Nanocorpo anti-HER2 da SEQ ID NO: 45 como um exemplo representativo de um Nanocorpo anti-alvo, e com o Nanocorpos constituintes em diferentes posições no composto da invenção. Os compostos de SEQ ID NOS: 46 a 49 são exemplos que ilustram compostos biespecíficos bivalentes da invenção e os compostos de SEQ ID NOS: 50 a 52 são exemplos que ilustram compostos biespecíficos trivalentes da invenção. Em cada caso, os compostos contêm uma mutação E1D e um resíduo de alanina C-terminal, e contêm exemplos representativos, mas não limitativos da utilização de ligantes adequados (isto é, um ligante 15GS nas SEQ ID NOS: 47 e 48 e ou ligantes 35GS nas SEQ ID Nos: 46 e 49 a 52).

[0092] Alguns outros exemplos de algum polipeptídeo multiespecífico e/ou multivalente específico da invenção podem ser encontrados nos pedidos da Ablynx N.V. aqui mencionados. Em particular, para uma descrição geral de construções

multivalentes e multiespecíficas compreendendo pelo menos um Nanocorpo contra uma proteína do soro para aumentar a meia-vida, de ácidos nucleicos que codificam o mesmo, de composições que compreendem o mesmo, da preparação do acima mencionado, e da utilização do acima mencionada, faz-se referência aos pedidos internacionais WO 04/041865 e WO 06/122787 mencionados acima (os ligantes de albumina sérica da invenção aqui descritos podem geralmente ser utilizados analogamente aos Nanocorpos de meia-vida estendida descritos no mesmo, tal como Alb -8), bem como com a descrição geral e exemplos específicos de tais construções dadas, por exemplo, nos documentos WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 ou WO 2009/068627.

[0093] A invenção também se refere às sequências de nucleotídeos ou ácidos nucleicos que codificam os ligantes, compostos ou polipeptídeos de albumina da invenção. A invenção inclui ainda construções genéticas que incluem as sequências nucleotídica ou ácidos nucleicos anteriores e um ou mais elementos para construções genéticas conhecidas em si. A construção genética pode estar na forma de um plasmídeo ou vetor. Novamente, tais construções podem ser geralmente como descrito nos pedidos de patente publicados da Ablynx N.V., tais como, por exemplo, WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 ou WO 2009/068627.

[0094] A invenção também se refere aos hospedeiros ou células hospedeiras que contêm tais sequências nucleotídicas

ou ácidos nucleicos, e/ou que expressam (ou são capazes de expressar), os ligantes de albumina, compostos ou polipeptídeos da invenção. Novamente, tais células hospedeiras podem ser geralmente como descrito nos pedidos de patente publicados de Ablynx N.V., tais como, por exemplo, WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 ou WO 2009/068627.

[0095] A invenção também se refere a um método para preparar um ligante de albumina, composto ou polipeptídeo da invenção, cujo método compreende cultivar ou manter uma célula hospedeira como aqui descrito sob condições tais que a referida célula hospedeira produz ou expressa um ligante de albumina, composto ou polipeptídeo da invenção e, opcionalmente, compreende adicionalmente isolar o ligante de albumina, composto ou polipeptídeo da invenção assim produzido. Mais uma vez, tais métodos podem ser realizados como geralmente descrito nos pedidos de patente publicados da Ablynx N.V., tais como, por exemplo, WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 ou WO 2009/068627.

[0096] A invenção também se refere a uma composição farmacêutica que compreende pelo menos um composto ou polipeptídeo da invenção e, opcionalmente, pelo menos um veículo, diluente ou excipiente farmaceuticamente aceitável. Tais preparações, veículos, excipientes e diluentes podem geralmente ser tais como descrito nos pedidos de patente publicados da Ablynx NV, tais como, por exemplo, WO 04/041862,

WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 ou WO 2009/068627.

[0097] Contudo, uma vez que os compostos ou polipeptídeos da invenção têm uma meia-vida aumentada, eles são preferencialmente administrados para a circulação. Como tal, podem ser administrados de qualquer maneira adequada que permita que o composto ou polipeptídeo da invenção entre na circulação, tal como intravenosamente, via injeção ou infusão, ou de qualquer outro modo adequado (incluindo administração oral, administração subcutânea, administração intramuscular, administração através da pele, administração intranasal, administração via pulmões, e etc.). Métodos e vias de administração adequados serão claros para uma pessoa versada na técnica, novamente, por exemplo, também do ensinamento dos pedidos de patente publicados da Ablynx NV, tais como, por exemplo, WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 ou WO 2009/068627.

[0098] Assim, em outro aspecto, a invenção se refere a um método para a prevenção e/ou tratamento de pelo menos uma doença ou distúrbio que pode ser prevenido ou tratado pela utilização de um composto ou polipeptídeo da invenção, que compreende a administração, a um sujeito na necessidade deste, uma quantidade farmaceuticamente ativa de um composto ou polipeptídeo da invenção, e/ou de uma composição farmacêutica compreendendo a mesma. As doenças e distúrbios que podem ser prevenidos ou tratados pela utilização de um composto ou

polipeptídeo da invenção, como aqui descrito, serão geralmente os mesmos que as doenças e distúrbios que podem ser prevenidos ou tratados pela utilização da porção terapêutica ou porções que está/estão presentes no composto ou polipeptídeo da invenção.

[0099] No contexto da presente invenção, o termo "prevenção e/ou tratamento" não só comprehende a prevenção e/ou o tratamento da doença, mas também geralmente comprehendem a prevenção do ataque da doença, redução de velocidade ou reversão do progresso da doença, prevenção ou redução de velocidade do ataque de um ou vários sintomas associados com a doença, redução e/ou alívio de um ou vários sintomas associados com a doença, redução da gravidade e/ou a duração da doença e/ou de qualquer sintoma associado com isso e/ou prevenção de um novo aumento na gravidade da doença e/ou de qualquer sintoma associado com isso, prevenção, redução ou reversão de qualquer dano fisiológico causado pela doença, e geralmente qualquer ação farmacológica que é benéfica ao paciente a ser tratado.

[00100] O sujeito a ser tratado pode ser qualquer animal de sangue quente, mas é em particular um mamífero e, mais em particular, um ser humano. Como ficará claro para uma pessoa versada na técnica, o sujeito a ser tratado será, em particular, uma pessoa que sofra ou esteja em risco das doenças e distúrbios aqui mencionados.

[00101] Em outra modalidade, a invenção se refere a um método para imunoterapia e, em particular, para imunoterapia passiva, cujo método compreende a administração, a um indivíduo sofrendo ou em risco das doenças e pertubações aqui mencionadas, uma quantidade farmaceuticamente ativa de um composto ou polipeptídeo da invenção, e/ou de uma composição farmacêutica compreendendo os mesmos.

[00102] O composto ou polipeptídeo da invenção e/ou as composições compreendendo os mesmos são administrados de acordo com um regime de tratamento que é adequado para prevenir e/ou tratar a doença ou distúrbio a ser prevenido ou tratado. O médico será geralmente capaz de determinar um regime de tratamento adequado, dependendo de fatores tais como a doença ou distúrbio a ser prevenido ou tratado, a gravidade da doença a ser tratada e/ou a gravidade dos seus sintomas, o polipeptídeo específico da invenção a ser utilizado, a via específica de administração e a formulação ou composição farmacêutica a ser utilizada, a idade, sexo, peso, dieta, estado geral do doente e fatores similares bem conhecidos do clínico.

[00103] Geralmente, o regime de tratamento compreenderá a administração de um ou mais compostos ou polipeptídeos da invenção, ou de uma ou mais composições compreendendo os mesmos, em uma ou mais quantidades ou doses farmaceuticamente eficazes. As quantidades específicas ou doses a serem

REIVINDICAÇÕES

1. Sequência de aminoácidos que é um domínio variável único de imunoglobulina capaz de se ligar à albumina sérica (humana), CARACTERIZADA por compreender:

- uma CDR1 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos GGTFSSTYVMG (SEQ ID NO: 12) ou uma sequência de aminoácidos que tem 2 ou 1 diferença de aminoácidos (como aqui definido) com a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 12; e

- uma CDR2 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos AISQNSIHTY (SEQ ID NO: 13) ou uma sequência de aminoácidos que tem 3, 2 ou 1 diferenças de aminoácidos (como aqui definido) com a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 13; e

- uma CDR3 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos SRFTSWYTADYEYDY (SEQ ID NO: 14) ou uma sequência de aminoácidos que tem 3, 2 ou 1 diferenças de aminoácidos (como aqui definido) com a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 14.

2. Sequência de aminoácidos de acordo com a reivindicação 1, CARACTERIZADA por compreender:

- uma CDR1 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos GGTFSSTYVMG (SEQ ID NO: 12); e

- uma CDR2 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos AISQNSIHTY (SEQ ID NO: 13); e

- uma CDR3 (de acordo com Abm) que é a sequência de aminoácidos SRFTSWYTADYEYDY (SEQ ID NO: 14).

3. Sequência de aminoácidos de acordo com a reivindicação 1, CARACTERIZADA pelo fato de que pode se ligar à albumina sérica humana com uma afinidade melhor que 100 nM, preferencialmente melhor que 50 nM, conforme determinado usando ProteOn.

4. Sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 3, CARACTERIZADA pelo fato de que é um domínio variável único de imunoglobulina de cadeia pesada.

5. Sequência de aminoácidos de acordo com qualquer das reivindicações de 1 a 4, CARACTERIZADA pelo fato de que é um VHH, um VHH humanizado ou um VH camelizado (e em particular, um VH humano camelizado).

6. Sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 5, CARACTERIZADA pelo fato de que é tal que:

- tem uma meia-vida no homem (expressa como t_{1/2} beta) que é maior do que 6 horas, preferencialmente maior do que 12 horas, mais preferivelmente maior do que 24 horas, ainda mais preferencialmente maior do que 72 horas;

e/ou de tal forma que:

quando ligada a uma porção ou entidade terapêutica, confere ao polipeptídeo resultante da invenção uma meia-vida no homem (expressa como t_{1/2} beta) que é maior do que 6 horas, de preferência maior do que 12 horas, mais preferencialmente

de mais de 24 horas, ainda mais preferencialmente maior do que 72 horas.

7. Sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, CARACTERIZADA pelo fato de compreender:

- um grau de identidade da sequência com a sequência da SEQ ID NO: 18 e/ou 19 (em que as CDRs e qualquer extensão C-terminal que possa estar presente não são consideradas para determinar o grau de identidade da sequência) de pelo menos 85%, de preferência pelo menos 90%, mais preferivelmente pelo menos 95%;

e/ou que tenha:

- não mais que 7, de preferência não mais que 5, como apenas 3, 2 ou 1 "diferenças de aminoácidos" (como aqui definido, e não levando em conta as CDRs e qualquer extensão C-terminal que possa estar presente) com a sequência da SEQ ID NO: 18 e/ou 19.

8. Sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 7, CARACTERIZADA pelo fato de compreender:

- um grau de identidade da sequência com a sequência da SEQ ID NO: 18 (em que as CDRs e qualquer extensão C-terminal que possa estar presente não são consideradas para determinar o grau de identidade da sequência) de pelo menos 85%, de preferência pelo menos 90%, mais preferivelmente pelo menos 95%;

e/ou que tenha:

- não mais que 7, de preferência não mais que 5, como apenas 3, 2 ou 1 "diferenças de aminoácidos" (como aqui definido, e não levando em conta as CDRs e qualquer extensão C-terminal que possa estar presente) com a sequência da SEQ ID NO: 18.

9. Sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 7, CARACTERIZADA pelo fato de compreender:

- um grau de identidade da sequência com a sequência da SEQ ID NO: 19 (em que as CDRs e qualquer extensão C-terminal que possa estar presente não são consideradas para determinar o grau de identidade da sequência) de pelo menos 85%, de preferência pelo menos 90%, mais preferivelmente pelo menos 95%;

e/ou que tenha:

- não mais que 7, de preferência não mais que 5, como apenas 3, 2 ou 1 "diferenças de aminoácidos" (como aqui definido, e não levando em conta as CDRs e qualquer extensão C-terminal que possa estar presente) com a sequência da SEQ ID NO: 19.

10. Sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 9, CARACTERIZADA pelo fato de que contém, em comparação com a sequência da SEQ ID NO: 18, uma ou mais mutações que reduzem a ligação por anticorpos preexistentes.

11. Sequência de aminoácidos de acordo com qualquer uma das reivindicações de 1 a 10, CARACTERIZADA pelo fato de que é um VHH e que contém, em comparação com a sequência da SEQ ID NO: 18, uma ou mais substituições de humanização.

12. Sequência de aminoácidos CARACTERIZADA pelo fato de que é um domínio variável único de imunoglobulina capaz de se ligar à albumina sérica (humana) e que é escolhida das SEQ ID NOS: 18 a 44.

13. Proteína, polipeptídeos ou outra construção, composto, molécula ou entidade química CARACTERIZADOS pelo fato de que compreende pelo menos uma sequência de aminoácidos conforme definida em qualquer uma das reivindicações de 1 a 12.

14. Proteína, polipeptídeo ou outra construção, composto, molécula ou entidade química de acordo com a reivindicação 13, CARACTERIZADOS pelo fato de que compreende pelo menos uma porção ou entidade terapêutica.

15. Proteína, polipeptídeo ou outra construção, composto, molécula ou entidade química conforme de acordo com qualquer uma das reivindicações 13 ou 14, CARACTERIZADOS pelo fato de que é uma proteína de fusão.

16. Proteína, polipeptídeo ou outra construção, composto, molécula ou entidade química de acordo com qualquer uma das reivindicações de 13 a 15, CARACTERIZADOS pelo fato de que compreende uma meia-vida sérica no homem (expressa como t_{1/2} beta) que seja maior do que 6 horas, preferivelmente maior

do que 12 horas, mais preferencialmente maior do que 24 horas, e ainda mais preferencialmente maior do que 72 horas.

17. Proteína, polipeptídeo ou outra construção, composto, molécula ou entidade química de acordo com qualquer uma das reivindicações de 13 a 16, CARACTERIZADOS pelo fato de que são tais que:

- quando tem um domínio variável único de imunoglobulina na sua extremidade C-terminal, então (o domínio variável único de imunoglobulina C-terminal da) referida proteína, polipeptídeo, composto, construção tem uma extensão C-terminal $(X)_n$ (como adicionalmente descrito aqui) na sua extremidade C-terminal; e/ou

- quando tem um domínio variável único de imunoglobulina na sua extremidade C-terminal, então pelo menos o referido domínio variável único de imunoglobulina C-terminal contém uma ou mais mutações que reduzem a ligação de anticorpos preexistentes (tal como adicionalmente descrito aqui); e/ou

- quando tem um domínio variável único de imunoglobulina na sua extremidade N-terminal, então (o domínio variável único de imunoglobulina N-terminal da) a referida proteína, polipeptídeo, composto, construção preferivelmente contém um D na posição 1; e/ou

- em que os ditos domínios variáveis únicos de imunoglobulina, cuja proteína, polipeptídeo ou outro composto também podem ter domínio variável único de imunoglobulina na sua extremidade N-terminal, em cujo caso a referida extremidade

de domínio variável único de imunoglobulina N-terminal tem preferencialmente um D ou um E1D na posição 1; e/ou

- preferencialmente, essencialmente, todos os domínios variáveis únicos de imunoglobulina presentes na referida proteína, polipeptídeo, composto, construção contém uma ou mais mutações que reduzem a ligação de anticorpos preexistentes.

18. Composição farmacêutica, CARACTERIZADA pelo fato de compreender uma proteína, polipeptídeo ou outra construção, composto, molécula ou entidade química conforme definidos em qualquer uma das reivindicações de 13 a 17.

19. Ácido nucleico CARACTERIZADO pelo fato de que codifica a sequência de aminoácidos conforme definida em qualquer uma das reivindicações de 1 a 12 ou o composto ou polipeptídeo conforme definidos em qualquer uma das reivindicações de 13 a 17, opcionalmente incluem uma construção genética.

20. Célula hospedeira ou hospedeira CARACTERIZADA pelo fato de que contém o ácido nucleico e/ou que expressa a sequência de aminoácidos conforme definida em qualquer uma das reivindicações de 1 a 12 ou o composto ou polipeptídeo conforme definidos em qualquer uma das reivindicações de 13 a 17.

21. Método para preparar a sequência de aminoácidos conforme definida em qualquer uma das reivindicações de 1 a 12 ou o composto ou polipeptídeo de conforme definidos em qualquer

uma das reivindicações de 13 a 17, o referido método sendo CARACTERIZADO por compreender a cultura ou manutenção de uma célula hospedeira conforme definida na reivindicação 20 sob condições tais que a referida célula hospedeira produza ou expresse a sequência de aminoácidos conforme definida em qualquer uma das reivindicações de 1 a 12 ou o composto ou polipeptídeo conforme definidos em qualquer uma das reivindicações de 13 a 17, e opcionalmente compreendendo adicionalmente isolar a sequência de aminoácidos conforme definida em qualquer uma das reivindicações de 1 a 12 ou o composto ou polipeptídeo conforme definidos em qualquer uma das reivindicações de 13 a 17 assim produzido.

22. Composto ou polipeptídeo conforme definido em qualquer uma das reivindicações de 13 a 17, CARACTERIZADOS por serem utilizados em um método para prevenção e/ou tratamento de pelo menos uma doença ou distúrbio que pode ser prevenido ou tratado pela utilização de um composto ou polipeptídeo conforme definidos em qualquer uma das reivindicações de 13 a 17.

Figura 1

Numeração de acordo com according to Kabat (VH)	Numeração de acordo com Chothia (VH)	Numeração de acordo com Aho	IMGT
11	11	12	12
14	14	15	15
41	41	48	46
42	42	49	47
87	87	101	99
89	89	103	101
108	108	144	---
110	110	146	---
112	112	148	---

Fonte: <http://www.bioc.uzh.ch/plueckthun/antibody/Numbering/NumFrame.html>

Figura 2

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
1	Referência	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
2	Referência	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
3	CDR1 (Kabat)	SFGMS
4	CDR2 (Kabat)	SISGSGSDTLYADSVKG
5	CDR3 (Kabat/Abm)	GGSLSR
6	CDR1 (Abm)	GFTFRSFGMS
7	CDR2 (Abm)	SISGSGSDTL
8	CDR3 (Kabat/Abm)	GGSLSR
9	CDR1 (Kabat)	TYVMG
10	CDR2 (Kabat)	AISQNSIHTYYANSVKG
11	CDR2 (Kabat))	AISQNSIHTYYADSVKG
12	CDR1 (Abm)	GGTFSTYVMG
13	CDR2 (Abm)	AISQNSIHTY
14	CDR3 (Kabat/Abm)	SRFTSWYTADYEYDY
15	Sequência C-terminal	VTVSS
16	Ligante 15GS	GGGGSGGGGGSGGGGS
17	Ligante 35 GS	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

Figura 2 (continuação)

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
18	Invenção	EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDND KNTVYLQLNLSLKPEDTAVYYCAASRFTSWYTADYEY DYWGQGTLTVSS
19	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSK NTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDY WGQGTLTVSS
20	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNSK NTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDY WGQGTLTVSS
21	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSK NTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWGQGTLTVSS
22	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNSK NTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWGQGTLTVSS
23	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVAAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNS KNTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWGQGTLTVSS
24	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVAAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNS KNTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWGQGTLTVSS
25	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVAAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNS KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEY DYWGQGTLTVSS
26	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVAAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNS KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEY DYWGQGTLTVSS

Figura 2 (continuação)

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
27	Invenção	EVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDND KNTVYLQLNLSLKPEDTAVYYCAASRFTSWYTADYEY DYWGQGTLTVSSA
28	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSK NTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDY WGQGTLTVSSA
29	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNSK NTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDY WGQGTLTVSSA
30	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSK NTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWGQGTLTVSSA
31	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVSAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNSK NTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWGQGTLTVSSA
32	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVAAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNS KNTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWGQGTLTVSSA
33	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVAAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNS KNTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWGQGTLTVSSA
34	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVAAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNS KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEY DYWGQGTLTVSSA
35	Invenção	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWF RQAPGKEREVAAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNS KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEY DYWGQGTLTVSSA

Figura 2 (continuação)

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
36	Invenção	DVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNDKNTVYLQLNLSLKPEDTAVYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSS
37	Invenção	DVQLVESGGGVVQPGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSKNTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSS
38	Invenção	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVSAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSS
39	Invenção	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSS
40	Invenção	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVSAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSS
41	Invenção	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVAAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSKNTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSS
42	Invenção	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVAAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQLNLSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSS
43	Invenção	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVAAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSS
44	Invenção	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVAAISQNSIHTYYADSVKGRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSS

Figura 2 (continuação)

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
45	anti-HER2-Nanocorpo	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWY RQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAK NTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTAAQGTDYWGQG TLVTVSS
46	Composto da Invenção	DVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWY RQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAK NTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTAAQGTDYWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGGSEVQLVESGGGVVQPGDSLRLSCAASGGTFST YVMGWFRQAPGKEREVFSAISQNSIHTYYANSVKGRF TISRDNSKNTVYLQLNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYT ADYEYDYWGQGTLTVSSA
47	Composto da Invenção	DVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWY RQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAK NTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTAAQGTDYWGQG TLVTVSSGGGGSGGGGGGGSEVQLVESGGGVVQPG DSLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKEREVFSAISQ NSIHTYYANSVKGRFTISRDNSKNTVYLQLNSLRPEDT ALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGTLTVSSA
48	Composto da Invenção	DVQLVESGGGVVQPGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGW FRQAPGKEREVFSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNS KNTVYLQLNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWQGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGSEVQLVESGG GLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGKQRE LVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNS LKPEDTAVYYCKRFRTAAQGTDYWGQGTLTVSSA
49	Composto da Invenção	DVQLVESGGGVVQPGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGW FRQAPGKEREVFSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNS KNTVYLQLNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWQGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASG ITFSINTMGWYRQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVK GRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTA AQGTDYWGQGTLTVSSA

Figura 2 (continuação)

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
50	Composto da Invenção	DVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWY RQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAK NTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTAAQGTDYWQQG TLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSIN TMGWYRQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTIS RDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTAAQGTD YWGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGGGGGGGSEVQLVESGGGVQPGDSLRLSCAASG GTFSTYVMGWFRQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSV KGRFTISRDNSKNTVYLQLNLRPEDTALYYCAASRFT SWYTADYEYDYWGQGTLTVSSA
51	Composto da Invenção	DVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWY RQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAK NTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTAAQGTDYWQQG TLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGGSEVQLVESGGGVQPGDSLRLSCAASGGTFST YVMGWFRQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRTF TISRDNSKNTVYLQLNLRPEDTALYYCAASRFTSWYT ADYEYDYWGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGG GSGGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGKQRELVALISSIGDTY YADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYC KFRFRTAAQGTDYWQGTLTVSSA
52	Composto da Invenção	DVQLVESGGVVQPGDSLRLSCAASGGTFSTYVMGW FRQAPGKEREVSAISQNSIHTYYANSVKGRTFISRDNS KNTVYLQLNLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYD YWGQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASG ITFSINTMGWYRQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVK GRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTA AQGTDYWQGTLTVSSGGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SGGGGGGGGGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGKQRELVALISSIGDTY YADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCK RFRFRTAAQGTDYWQGTLTVSSA

Figura 2 (continuação)

SEQ ID NO	Descrição	Sequência
53	Composto da Invenção	DVQLVESGGVVQPGGLRLSCAASGRTFSSYAMGWF RQAPGKEREVAAISWSDGSTYYADSVKGRFTISRDNA KNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAADLTSTNPGSYIYIW AYDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGSGGGSGGGSG GGSGGGGSGGGSEVQLVESGGVVQPGGLRLSCA ASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREVAAISWSDGSTYY ADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCA ADLTSTNPGSYIYIWAYDYWGQGTLVTVSSGGGSGG GGSGGGGSGGGSGGGGSGGGSGGGSEVQLVESG GGVVQPGGLRLSCAASGGTFSTYVMGWFRQAPGKE REFVSAISQNSIHTYYANSVKGRFTISRDNSKNTVYLQ MNSLRPEDTALYYCAASRFTSWYTADYEYDYWGQGT LTVSS

Figura 3A

Figura 3B

18 EVOLVESGRG LVGTGSOSLRL SCAASGSTFS TYVMNSWFRQKA PGKEREFLYSA FSONSINTHYV ANSVRGRFTI SRDNOKNTVY LQLNSLKPEQ TAVYYCAASR FT3WYTADYE YDWWGQSTLY TVSS 124
 19 V . P
 20 P.N. F . SFQ.G.S.V. IQL.W.L.S. IGGGSQ.L.D. A.T.L.M.R. TIGG SI RSS.
 21 P.G. F . R SFQ.G.S.V. IGP.W.L.S. IGGGSQ.L.D. S.C.M.R. TIGG SI RSS.
 22 P.G. F . R SFQ.G.S.V. IGP.W.L.S. IGGGSQ.L.D. S.C.M.R. TIGG SI RSS.

Figura 4

18	EYOLVSEGGED	LVEUTGEGSLRL	SCAAGGSGTFS	TIVVMONFROA	FUSKEEFVVA	IQNGDINTYY	ANSVIGRETI	EQNDNDKNTVY	CQNLNLPED	TAVVTCASER	FTSWWYTADYE	YDNNRQSTLV	TNGS-	124
19	124
20	124
21	124
22	124
23	124
24	124
25	124
26	124
27	A	124
28	A	124
29	A	124
30	A	124
31	A	124
32	A	124
33	A	124
34	A	124
35	A	124
36	A	124
37	A	124
38	A	124
39	A	124
40	A	124
41	A	124
42	A	124
43	A	124
44	A	124

Figura 5

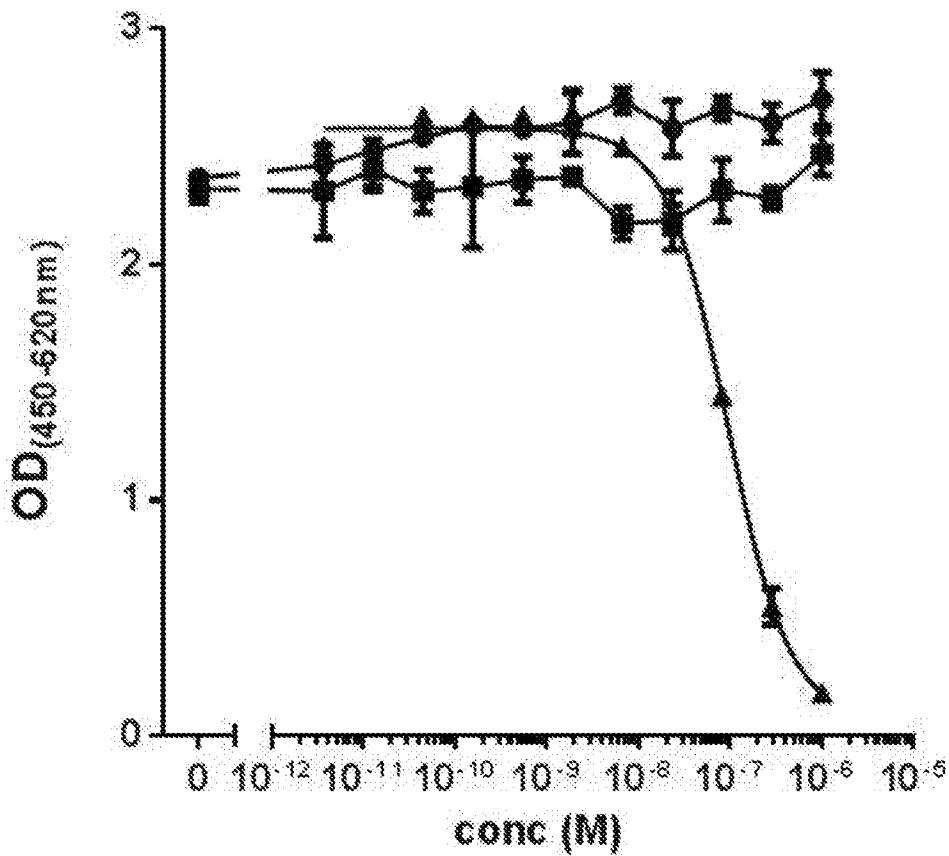
Figura 5 (Continuação)

Camundongo	RAT	TISSEKLLKQCCPPLKXKNCLEEVHETPTFADLPRIAQPFYEDQYCESTAAEADVFLOT 363
Cão	DOG	SISTKLKQCCPPLKXKNCLEEVHETPTFADLPRIAQPFYEDQYCESTAAEADVFLOT 363
Gato	CAT	SISTKLKQCCPPLKXKNCLEEVHETPTFADLPRIAQPFYEDQYCESTAAEADVFLOT 363
Humano	HUMAN	SISTKLKQCCPPLKXKNCLEEVHETPTFADLPRIAQPFYEDQYCESTAAEADVFLOT 363
Vaca	COW	TISSEKLLKQCCPPLKXKNCLEEVHETPTFADLPRIAQPFYEDQYCESTAAEADVFLOT 363
Ovelha	LAMB	ALGSNLKQCCPPLKXKNCLEEVHETPTFADLPRIAQPFYEDQYCESTAAEADVFLOT 363
Porco	PIG	TISSEKLLKQCCPPLKXKNCLEEVHETPTFADLPRIAQPFYEDQYCESTAAEADVFLOT 363
Cavalo	HORSE	SISCKLKQCCPPLKXKNCLEEVHETPTFADLPRIAQPFYEDQYCESTAAEADVFLOT 363
Coelho	RODENT	TISSEKLLKQCCPPLKXKNCLEEVHETPTFADLPRIAQPFYEDQYCESTAAEADVFLOT 363
Camundongo	RAT	FLVTEYRSHHPPYEVSLALLAEXTEATLXCCRAAEPEFCYTYLAEPQLVVEEPNLVK 413
Cão	DOG	FLVTEYRSHHPPYEVSLALLAEXTEATLXCCRAAEPEFCYTYLAEPQLVVEEPNLVK 413
Gato	CAT	FLVTEYRSHHPPYEVSLALLAEXTEATLXCCRAAEPEFCYTYLAEPQLVVEEPNLVK 413
Humano	HUMAN	FLVTEYRSHHPPYEVSLALLAEXTEATLXCCRAAEPEFCYTYLAEPQLVVEEPNLVK 413
Vaca	COW	FLVTEYRSHHPPYEVSLALLAEXTEATLXCCRAAEPEFCYTYLAEPQLVVEEPNLVK 413
Ovelha	LAMB	FLVTEYRSHHPPYEVSLALLAEXTEATLXCCRAAEPEFCYTYLAEPQLVVEEPNLVK 413
Porco	PIG	FLVTEYRSHHPPYEVSLALLAEXTEATLXCCRAAEPEFCYTYLAEPQLVVEEPNLVK 413
Cavalo	HORSE	FLVTEYRSHHPPYEVSLALLAEXTEATLXCCRAAEPEFCYTYLAEPQLVVEEPNLVK 413
Coelho	RODENT	FLVTEYRSHHPPYEVSLALLAEXTEATLXCCRAAEPEFCYTYLAEPQLVVEEPNLVK 413
Camundongo	RAT	TKCCLLTERLAEYOFQKILINWTTQAPQISTPTLVEALKMLAEVOTECCTLPEDQQLPCV 473
Cão	DOG	TKCCLLTERLAEYOFQKILINWTTQAPQISTPTLVEALKMLAEVOTECCTLPEDQQLPCV 473
Gato	CAT	TKCCLLTERLAEYOFQKILINWTTQAPQISTPTLVEALKMLAEVOTECCTLPEDQQLPCV 473
Humano	HUMAN	TKCCLLTERLAEYOFQKILINWTTQAPQISTPTLVEALKMLAEVOTECCTLPEDQQLPCV 473
Vaca	COW	QKCLLTERLAEYOFQKILINWTTQAPQISTPTLVEALKMLAEVOTECCTLPEDQQLPCV 473
Ovelha	LAMB	QKCLLTERLAEYOFQKILINWTTQAPQISTPTLVEALKMLAEVOTECCTLPEDQQLPCV 473
Porco	PIG	QKCLLTERLAEYOFQKILINWTTQAPQISTPTLVEALKMLAEVOTECCTLPEDQQLPCV 473
Cavalo	HORSE	QKCLLTERLAEYOFQKILINWTTQAPQISTPTLVEALKMLAEVOTECCTLPEDQQLPCV 473
Coelho	RODENT	QKCLLTERLAEYOFQKILINWTTQAPQISTPTLVEALKMLAEVOTECCTLPEDQQLPCV 473
Camundongo	RAT	KETYLAKLILAKLCVLTAAEETTPTVSEEVTECOTESLVLNNSPCFSEALTVDETTYPKEFKAETPTF 533
Cão	DOG	KETYLAKLILAKLCVLTAAEETTPTVSEEVTECOTESLVLNNSPCFSEALTVDETTYPKEFKAETPTF 533
Gato	CAT	KETYLAKLILAKLCVLTAAEETTPTVSEEVTECOTESLVLNNSPCFSEALTVDETTYPKEFKAETPTF 533
Humano	HUMAN	KETYLAKLILAKLCVLTAAEETTPTVSEEVTECOTESLVLNNSPCFSEALTVDETTYPKEFKAETPTF 533
Vaca	COW	KETYLAKLILAKLCVLTAAEETTPTVSEEVTECOTESLVLNNSPCFSEALTVDETTYPKEFKAETPTF 533
Ovelha	LAMB	KETYLAKLILAKLCVLTAAEETTPTVSEEVTECOTESLVLNNSPCFSEALTVDETTYPKEFKAETPTF 533
Porco	PIG	KETYLAKLILAKLCVLTAAEETTPTVSEEVTECOTESLVLNNSPCFSEALTVDETTYPKEFKAETPTF 533
Cavalo	HORSE	KETYLAKLILAKLCVLTAAEETTPTVSEEVTECOTESLVLNNSPCFSEALTVDETTYPKEFKAETPTF 533
Coelho	RODENT	KETYLAKLILAKLCVLTAAEETTPTVSEEVTECOTESLVLNNSPCFSEALTVDETTYPKEFKAETPTF 533
Camundongo	RAT	KKDICTLPRDKQIENQTLAELVNEPSTATREQLSTPFDPFQFLOTCKRAGKQKCFP 593
Cão	DOG	KKDICTLPRDKQIENQTLAELVNEPSTATREQLSTPFDPFQFOTCKRAGKQKCFP 593
Gato	CAT	KKDICTLPRDKQIENQTLAELVNEPSTATREQLSTPFDPFQFOTCKRAGKQKCFP 593
Humano	HUMAN	KKDICTLPRDKQIENQTLAELVNEPSTATREQLSTPFDPFQFOTCKRAGKQKCFP 593
Vaca	COW	KKDICTLPRDKQIENQTLAELVNEPSTATREQLSTPFDPFQFOTCKRAGKQKCFP 593
Ovelha	LAMB	KKDICTLPRDKQIENQTLAELVNEPSTATREQLSTPFDPFQFOTCKRAGKQKCFP 593
Porco	PIG	KKDICTLPRDKQIENQTLAELVNEPSTATREQLSTPFDPFQFOTCKRAGKQKCFP 593
Cavalo	HORSE	KKDICTLPRDKQIENQTLAELVNEPSTATREQLSTPFDPFQFOTCKRAGKQKCFP 593
Coelho	RODENT	KKDICTLPRDKQIENQTLAELVNEPSTATREQLSTPFDPFQFOTCKRAGKQKCFP 593

Figura 5 (Continuação)

Camundongo	TEGPNLVTREKDTLA~~~	608
Rato	TEGPNLVAREKELA~~~	608
Cão	EEGPNLVAAQALV~~~	608
Gato	MEGPNLVAAQANLA~~~	608
Humano	EEGPNLVAAQALV~~~	608
Vaca	VEUPKLVYVSTQTLA~~~	607
Ovelha	LEGPKNVASTQALALA~~~	607
Porco	VEUPKPVIRIGILALA~~~	607
Cavalo	EEGPNLVASSQALALA~~~	607
Coelho	VEUPKLVESSKATLG~~~	608

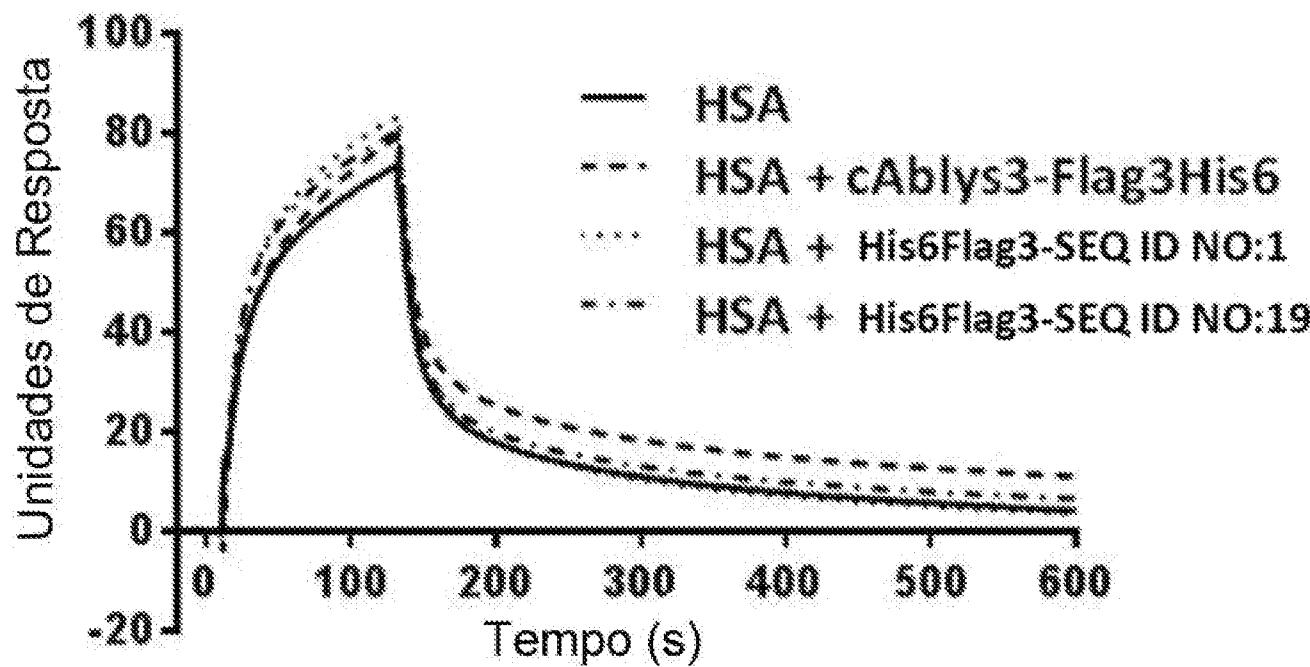
Figura 6



▲ = His6Flag3-SEQ ID NO:1

■ = Flag3His6- SEQ ID NO:19

● = cAblys3-Flag3His6()

Figura 7

RESUMO**LIGANTES DE ALBUMINA SÉRICA MELHORADOS**

A presente invenção se refere às sequências de aminoácidos que podem se ligar a albumina sérica. Em particular, a presente invenção se refere aos domínios variáveis únicos de imunoglobulina e, em particular, domínios variáveis únicos de imunoglobulina de cadeia pesada, que podem se ligar a albumina sérica. Adicionalmente, a invenção se refere às proteínas, polipeptídeos e outras construções, compostos, moléculas ou entidades químicas que compreendem pelo menos um dos domínios variáveis únicos de imunoglobulina que se ligam a albumina sérica que são aqui descritos.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: PCT_seq_ST25.TXT
- Data de Geração do Código: 15/07/2019
- Hora de Geração do Código: 18:34:15
- Código de Controle:
 - Campo 1: 9530E6FA290B57E5
 - Campo 2: 9BB3AA9B5033396E