

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 434 852**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

**G01N 33/68** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**C12P 21/06** (2006.01)

**C07H 21/04** (2006.01)

**C07K 17/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.04.2006 E 06758551 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2013 EP 1871804**

54 Título: **Anticuerpos que se unen a CCX-CKR2**

30 Prioridad:

**21.04.2005 US 674140 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**17.12.2013**

73 Titular/es:

**CHEMOCENTRYX, INC. (100.0%)  
850 MAUDE AVENUE  
MOUNTAIN VIEW CALIFORNIA 94043, US**

72 Inventor/es:

**HOWARD, MAUREEN y  
SCHALL, THOMAS**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

ES 2 434 852 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Anticuerpos que se unen a CCX-CKR2.

5 **Antecedentes de la invención**

Las quimiocinas constituyen una familia de citocinas pequeñas que son producidas, entre otros, en la inflamación y que regulan el reclutamiento, activación y proliferación de los leucocitos (Baggiolini M. *et al.*, Adv. Immunol. 55:97-179, 1994; Springer T.A., Annu. Rev. Physiol. 57:827-872, 1995, y Schall T.J. y K.B. Bacon, Curr. Opin. Immunol. 6:865-873, 1994). Las quimiocinas son capaces de inducir selectivamente la quimiotaxis de los elementos formados de la sangre (aparte de los glóbulos rojos), incluyendo leucocitos tales como neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos, basófilos, mastocitos y linfocitos, incluyendo las células T y las células B. Además de estimular la quimiotaxis, las quimiocinas pueden inducir selectivamente otros cambios en las células sensibles, incluyendo cambios de la forma celular, incrementos transitorios de la concentración de iones de calcio libre intracelular ( $Ca^{2+}$ ), la exocitosis de gránulos, la regulación positiva de integrina, la formación de lípidos bioactivos (por ejemplo leucotrienos), la expresión de citocinas y el estallido respiratorio, asociados a la activación, crecimiento y proliferación de los leucocitos. De esta manera, las quimiocinas son inductores tempranos de la respuesta inflamatoria, causando la liberación de mediadores inflamatorios, la quimiotaxis y la extravasación a los sitios de infección o de inflamación.

Se distinguen dos subfamilias de quimiocinas, denominadas quimiocinas CXC y CC, por la disposición de los primeros dos de cuatro residuos cisteína conservados, los cuales se encuentran separados por un aminoácido (tal como en las quimiocinas CXC SDF-1, IL-8, IP-10, MIG, PF4, ENA-78, GCP-2, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , NAP-2, NAP-4, I-TAC) o son residuos contiguos (tal como en las quimiocinas CC MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES, MCP-1, MCP-2, MCP-3, I-309). La mayoría de quimiocinas CXC atraen los leucocitos neutrófilos. Por ejemplo, las quimiocinas CXC interleucina-8 (IL-8), el factor plaquetario 4 (PF4) y el péptido 2 activador de neutrófilos (NAP-2) son potentes quimioatrayentes y activadores de neutrófilos. Las quimiocinas CXC denominadas MIG (monocinas inducidas por el interferón gamma) e IP-10 (proteína de 10 kDa inducible por el interferón- $\gamma$ ) son particularmente activas en la inducción de la quimiotaxis de los linfocitos sanguíneos periféricos activados. Las quimiocinas CC generalmente son menos selectivas y pueden atraer una diversidad de tipos celulares de leucocitos, incluyendo monocitos, eosinófilos, basófilos, linfocitos T, granulocitos y células asesinas naturales. Las quimiocinas CC tales como las proteínas quimotácticas 1-3 de monocitos humanos (MCP-1, MCP-2 y MCP-3), RANTES (células T normales expresadas y secretadas) y las proteínas inflamatorias 1 $\alpha$  y 1 $\beta$  de macrófagos (MIP-1 $\alpha$  y MIP-1 $\beta$ ) han sido caracterizadas como quimioatrayentes y activadoras de monocitos o linfocitos, pero aparentemente no son quimioatrayentes de los neutrófilos.

Las quimiocinas CC y CXC actúan mediante receptores que pertenecen a una superfamilia de siete receptores acoplados a proteína G transmembranales (Murphy P.M., Pharmacol. Rev. 52:145-176, 2000). Esta familia de receptores acoplados a proteína G comprende un grupo de gran tamaño de proteínas integrales de membrana que contienen siete regiones transmembranarias. Los receptores pueden acoplarse a la proteína G, que son proteínas reguladoras heterotriméricas capaces de unirse a GTP y mediar en la transducción de señales de receptores acoplados, por ejemplo mediante la producción de mediadores intracelulares. Además, los receptores de quimiocinas pueden actuar independientemente del acoplamiento de las proteínas G. Por ejemplo, el receptor Duffy expresado predominantemente sobre los glóbulos rojos es un receptor promiscuo de la unión de quimiocinas que se cree actúa como una quimiocina, eliminando quimiocinas del ambiente circulatorio.

En general, las interacciones de quimiocina y receptor de quimiocina tienden a ser promiscuas en el aspecto de que una quimiocina puede unirse a muchos receptores de quimiocina y, a la inversa, un único receptor de quimiocina puede interactuar con varias quimiocinas. Existen unas cuantas excepciones a esta regla; una de estas excepciones es la interacción entre SDF-1 y CXCR4 (Bleul *et al.*, J. Exp. Med. 184(3):1101-9, 1996; Oberlin *et al.*, Nature 382(6594):833-5, 1996). Originalmente identificado como un factor estimulante del crecimiento de células pre-B (Nagasawa *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91(6):2305-9, 1994), SDF-1 es el único ligando humano informado de CXCR4. El gen SDF-1 codifica dos proteínas, denominadas SDF-1 $\alpha$  y SDF-1 $\beta$ , mediante corte y empalme alternativo. Estas dos proteínas son idénticas excepto por cuatro residuos aminoácidos que se encuentran presentes en el extremo N-terminal de SDF-1 $\beta$  y ausentes de SDF-1 $\alpha$ .

Existen muchos aspectos de la señalización y selectividad para ligandos de los receptores de quimiocinas que anteriormente no se entendían. Por ejemplo, existen varios receptores huérfanos para los que no se ha determinado ninguna función. El RDC1, por ejemplo, aunque anteriormente se creía que era un receptor del péptido intestinal vasoactivo (PIV), hasta recientemente no se ha considerado un receptor huérfano debido a que no se ha identificado cuál es su ligando endógeno. Ver, por ejemplo, Cook *et al.*, FEBS Lett. 300(2):149-152, 1992.

Recientemente se ha determinado que el RDC1, que ha pasado a denominarse CCX-CKR2, se une a las quimiocinas SDF-1 e I-TAC. Ver, por ejemplo, el documento PCT n° US04/3487 (WO 2005/044792) y las solicitudes de patente US n° 10/698.541 (US 2004/0170634 A1), n° 10/912.638 (US 2005/0074826 A1) y n° 11/050.345 (US 2005/0074826 A1).

**Breve resumen de la invención**

La presente invención proporciona un anticuerpo que se une a CCX-CKR2, que comprende: i) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 14 o ii) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 16 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 18.

En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a un marcador detectable. En algunas formas de realización comprendidas dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones, el anticuerpo se une a un isótopo radioactivo o a un compuesto químico citotóxico.

En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas formas de realización, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo. En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.

Un anticuerpo según la invención, según las reivindicaciones, comprende las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 14. En algunas formas de realización, el anticuerpo comprende SEC ID nº 12 y/o SEC ID nº 14.

Un anticuerpo según la invención, según las reivindicaciones, comprende las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 16 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 18. En algunas formas de realización, el anticuerpo comprende SEC ID nº 16 y/o SEC ID nº 18.

La presente invención proporciona además métodos para detectar una célula que expresa CCX-CKR2 en una muestra biológica. Según la invención, los métodos comprenden poner en contacto la muestra biológica con un anticuerpo y detectar la presencia del anticuerpo, en la que el anticuerpo se une a CCX-CKR2 y comprende: i) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 14, o ii) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 16 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 18.

En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a un marcador detectable.

La presente invención proporciona además métodos para identificar un modulador de CCX-CKR2. Según la invención, el método comprende:

(a) combinar con un agente de ensayo (i) una célula que expresa un polipéptido CCX-CKR2, en la que dicha célula no es una célula humana *in vivo*, o (ii) un extracto de una célula que expresa un polipéptido CCX-CKR2, y

(b) llevar a cabo un ensayo para detectar si el agente de ensayo compete con un anticuerpo competidor para la unión al polipéptido CCX-CKR2, en el que el anticuerpo competidor se une a CCX-CKR2 y comprende: i) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 14, o ii) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 16 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 18,

en el que la competición entre el anticuerpo competidor y el agente de ensayo para la unión al polipéptido CCX-CKR2 es una indicación de que el agente de ensayo es un modulador de la actividad de CCX-CKR2.

En algunas formas de realización, el anticuerpo competidor comprende SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14.

En algunas formas de realización, el anticuerpo competidor comprende SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18.

La presente invención proporciona además métodos para someter a ensayo la eficacia de un agente de ensayo que modula la actividad de CCX-CKR2. Lo anterior resulta útil, por ejemplo, al utilizar los anticuerpos de la invención como fármaco de control en un análisis de agonistas o antagonistas de molécula pequeña de CCX-CKR2. Según la invención los métodos comprenden:

(a) administrar el reactivo de ensayo a un primer animal no humano,

(b) administrar a un segundo animal no humano un anticuerpo que se une a CCX-CKR2, que comprende: i) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 14 ó ii) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 16 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 18, y

(c) comparar el efecto del reactivo de ensayo en el primer animal no humano con el efecto del anticuerpo sobre el segundo animal no humano.

En algunas formas de realización, el anticuerpo comprende SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14.

En algunas formas de realización, el anticuerpo comprende SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18.

Se describen polipéptidos que comprenden SEC ID nº 12, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16 o SEC ID nº 18, o por lo menos una CDR de entre SEC ID nº 12, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16 o SEC ID nº 18. Los polipéptidos pueden ser anticuerpos.

La presente invención proporciona además un polinucleótido codificante de un anticuerpo quimérico que se une a CCX-CKR2, comprendiendo dicho anticuerpo quimérico: i) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 14, o ii) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 16 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 18. Se describen polinucleótidos codificantes de SEC ID nº 12, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16 o SEC ID nº 18 ó por lo menos una CDR de SEC ID nº 12, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16 o SEC ID nº 18. Se describen polinucleótidos que comprenden SEC ID nº 11, SEC ID nº 13, SEC ID nº 15 o SEC ID nº 17.

La presente invención proporciona además un método para producir un anticuerpo según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, comprendiendo el método: unir funcionalmente los polinucleótidos codificantes de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14 o SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18 a polinucleótidos heterólogos codificantes de por lo menos regiones de marco de una cadena pesada o ligera de un anticuerpo para formar polinucleótidos de fusión codificantes de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo y expresar las cadenas pesada y ligera a partir de los polinucleótidos de fusión.

Se describe un método para producir un anticuerpo quimérico, que comprende unir funcionalmente un polinucleótido codificante de por lo menos una región determinante de complementariedad (CDR) de SEC ID nº 12, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16 o SEC ID nº 18 a un polinucleótido heterólogo codificante de por lo menos la región marco de una cadena pesada o ligera de un anticuerpo con el fin de formar un polinucleótido de fusión codificante de una cadena pesada o ligera quimérica de un anticuerpo, y expresar una cadena pesada o ligera quimérica a partir del polinucleótido de fusión.

### Definiciones

El "RDC1", denominado en la presente memoria "CCX-CKR2", se refiere a un receptor acoplado a proteína G (GPCR) putativamente de siete dominios transmembranales. El ortólogo de perro de CCX-CKR2 fue identificado originalmente en 1991. Ver Libert *et al.*, Science 244:569-572, 1989. La secuencia del perro se describe en Libert *et al.*, Nuc. Acids Res. 18(7):1917, 1990. La secuencia de ratón se describe en, por ejemplo, Heesen *et al.*, Immunogenetics 47:364-370, 1998. La secuencia humana se describe en, por ejemplo, Sreedharan *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4986-4990, 1991, que erróneamente describe la proteína como un receptor del péptido intestinal vasoactivo. El "CCX-CKR2" incluye secuencias que son variantes conservadoramente modificadas de SEC ID nº 2, SEC ID nº 4, SEC ID nº 6, SEC ID nº 8 o SEC ID nº 10. Los fragmentos de CCX-CKR2 son fragmentos de por lo menos 5, y en ocasiones de por lo menos 10, 20, 50, 100, 200, 300 o hasta 300 aminoácidos contiguos de una de las secuencias anteriormente indicadas, o una variante conservadoramente modificada de los mismos.

Un "sujeto" o "individuo" se refiere a un animal, incluyendo un ser humano, primate no humano, ratón, rata, perro u otro mamífero.

Un "agente quimioterápico" se refiere a un agente que, administrado en un individuo, resulta suficiente para provocar la inhibición, el enlentecimiento o la detención del crecimiento de las células cancerosas, o resulta suficiente para producir un efecto citotóxico en las células cancerosas. De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la expresión "cantidad quimioterapéuticamente efectiva" describe una cantidad de un agente quimioterápico administrado en un individuo que resulta suficiente para provocar la inhibición, el enlentecimiento o la detención del crecimiento de las células cancerosas o que resulta suficiente para producir (directa o indirectamente) un efecto citotóxico en las células cancerosas. Una "cantidad subterapéutica" se refiere a una cantidad inferior a la suficiente para provocar la inhibición, el enlentecimiento o la detención del crecimiento de las células cancerosas, o que resulta inferior a la suficiente para producir un efecto citotóxico en las células cancerosas.

El término "anticuerpo" se refiere a un polipéptido que comprende una región marco de un gen de inmunoglobulina o fragmentos del mismo que se une específicamente y reconoce un antígeno. Entre los genes de inmunoglobulina reconocidos se incluyen los genes de región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, épsilon y mu, así como la miríada de genes de región variable de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, las cuales a su vez definen las clases de inmunoglobulina IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente.

Las inmunoglobulinas naturales presentan una estructura nuclear común en la que dos cadenas ligeras idénticas (de aproximadamente 24 kD) y dos cadenas pesadas idénticas (de aproximadamente 55 o 70 kD) forman un tetrámero. La parte aminoterminal de cada cadena es conocida como la región variable (V) y puede distinguirse de las regiones constantes (C) más conservadas del resto de cada cadena. Dentro de la región variable de la cadena ligera se encuentra una parte C-terminal conocida como la región J. Dentro de la región variable de la cadena pesada se encuentra una región D además de la región J. La mayor parte de la variación de secuencia de aminoácidos en las inmunoglobulinas se restringe a tres localizaciones separadas en las regiones V conocidas como regiones hipervariables o regiones determinantes de complementariedad (CDR), las cuales participan directamente en la unión al antígeno. Desde el extremo aminoterminal, estas regiones se denominan CDR1, CDR2 y CDR3, respectivamente. Las CDR se sostienen gracias a las regiones de marco (FR), más conservadas. Desde el extremo aminoterminal, estas regiones se denominan FR1, FR2, FR3 y FR4, respectivamente. Las localizaciones de las regiones CDR y FR y un sistema de numeración han sido definidos por Kabat *et al.* (Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, quinta edición, U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office, 1991).

Una unidad estructural de inmunoglobulina (anticuerpo) ejemplificativa comprende un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto de dos parejas idénticas de cadenas de polipéptido, presentando cada pareja una cadena "ligera" (de aproximadamente 25 kDa) y una cadena "pesada" (de aproximadamente 50 a 70 kDa). El extremo N-terminal de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos responsable principalmente del reconocimiento de anticuerpo. Las expresiones cadena ligera variable ( $V_L$ ) y cadena pesada variable ( $V_H$ ) se refieren a estas cadenas ligeras y pesadas, respectivamente.

Los anticuerpos existen, por ejemplo, en forma de inmunoglobulinas intactas o en forma de varios fragmentos bien caracterizados producidos mediante la digestión con diversas peptidasas. De esta manera, por ejemplo, la pepsina digiere un anticuerpo después de los enlaces disulfuro en la región bisagra, produciendo  $F(ab)'_2$ , un dímero de Fab que es una cadena ligera unida a  $VH-CH1$  por un enlace disulfuro. El fragmento  $F(ab)'_2$  puede reducirse bajo condiciones suaves para romper el enlace disulfuro en la región bisagra, convirtiendo de esta manera el dímero  $F(ab)'_2$  en un monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente Fab con parte de la región bisagra (ver FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY (Paul, editor, 3a edición, 1993)). Aunque diversos fragmentos de anticuerpo se definen en términos de la digestión de un anticuerpo intacto, el experto en la materia apreciará que dichos fragmentos pueden sintetizarse *de novo* químicamente o mediante la utilización de metodología de ADN recombinante. De esta manera, el término anticuerpo, tal como se utiliza en la presente memoria, incluye además fragmentos de anticuerpo producidos mediante la modificación de anticuerpos completos o los sintetizados *de novo* utilizando metodologías de ADN recombinante (por ejemplo Fv de cadena sencilla) o los identificados utilizando bibliotecas de expresión fágica (ver, por ejemplo, McCafferty *et al.*, Nature 348:552-554, 1990).

Para la preparación de anticuerpos monoclonales o policlonales, puede utilizarse cualquier técnica conocida (ver, por ejemplo, Kohler y Milstein, Nature 256:495-497, 1975; Kozbor *et al.*, Immunology Today 4:72, 1983; Cole *et al.*, páginas 77 a 96 en Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, 1985). El término "monoclonal" referido a anticuerpos se refiere a anticuerpos derivados de un único clon. Las técnicas para producir anticuerpos de cadena sencilla (patente US nº 4.946.778) pueden adaptarse para producir anticuerpo contra polipéptidos de la presente invención. Además, pueden utilizarse ratones transgénicos, u otros organismos tales como otros mamíferos, para expresar anticuerpos humanizados. Alternativamente, puede utilizarse tecnología de expresión fágica para identificar anticuerpos y fragmentos Fab heteroméricos que se unan específicamente a antígenos seleccionados (ver, por ejemplo, McCafferty *et al.*, Nature 348:552-554, 1990; Marks *et al.*, Biotechnology 10:779-783, 1992).

Un "anticuerpo quimérico" es una molécula de anticuerpo en la que: (a) la región constante, o una parte de la misma, se altera, sustituye o intercambia de manera que el sitio de unión a antígeno (región variable) se una a una región constante de una clase, función efectora y/o especie diferente o alterada, o a una molécula diferente en su totalidad que proporciona nuevas propiedades al anticuerpo quimérico, por ejemplo un enzima, toxina, hormona, factor de crecimiento, fármaco, etc., o (b) la región variable, o una parte de la misma, se altera, sustituye o intercambia por una región variable que presenta una especificidad de antígeno diferente o alterada.

Un anticuerpo "humanizado" es un anticuerpo que conserva la reactividad de un anticuerpo no humano, siendo simultáneamente menos inmunógeno en el ser humano. Lo anterior puede conseguirse, por ejemplo, conservando las regiones de CDR no humanas y sustituyendo las partes restantes del anticuerpo por sus contrapartidas humanas. Ver, por ejemplo, Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855, 1984; Morrison y Oi, Adv. Immunol. 44:65-92, 1988; Verhoeyen *et al.*, Science 239:1534-1536, 1988; Padlan, Molec. Immun. 28:489-498, 1991; Padlan, Molec. Immun. 31(3):169-217, 1994.

El término "aislado", aplicado a una proteína, se refiere a que la proteína se encuentra esencialmente libre de otros componentes celulares con los que se encuentra asociado en el estado natural. Resulta preferible en un estado homogéneo, aunque puede encontrarse en una solución seca o acuosa. La pureza y la homogeneidad típicamente se determinan utilizando técnicas de química analítica, tales como la electroforesis en gel de poli(acrilamida) o la cromatografía líquida de alto rendimiento. Se purifica sustancialmente una proteína que es la especie predominante

en una preparación. El término "purifica" se refiere a que una proteína da lugar a esencialmente una banda en un gel electroforético. En particular, se refiere a que la proteína presenta una pureza de por lo menos 85%, más preferentemente de por lo menos 95%, y más preferentemente de por lo menos 99%.

- 5 La expresión "se une específicamente (o selectivamente)" a un anticuerpo o es "inmunorreactivo específicamente (o selectivamente) con", en referencia a una proteína o péptido, se refiere a una reacción de unión que es determinante de la presencia de la proteína en una población heterogénea de proteínas y otras moléculas biológicas. De esta manera, bajo las condiciones de inmunoensayo indicadas, los anticuerpos especificados se unen a una proteína particular a niveles de por lo menos dos veces el nivel de fondo y no se unen sustancialmente en una cantidad significativa a otras proteínas presentes en la muestra. Típicamente una reacción específica o selectiva se producirá a niveles de por lo menos dos veces la señal o ruido de fondo y más típicamente 10 a 100 veces el nivel de fondo.

15 Los términos "peptidomimético" y "mimético" se refieren a un compuesto químico sintético que presenta sustancialmente las mismas características estructurales y funcionales de un polipéptido natural o no natural (por ejemplo un reactivo ligante de CCX-CKR2). Los análogos de péptidos se utilizan comúnmente en la industria farmacéutica como fármacos no peptídicos con propiedades análogas a las del péptido de molde. Estos tipos de compuesto no peptídico se denominan "miméticos de péptido" o "peptidomiméticos" (Fauchere, J. Adv. Drug Res. 15:29, 1986; Veber y Freidinger, TINS, página 392, 1985; y Evans *et al.*, J. Med. Chem. 30:1229, 1987). Los miméticos de péptido que son estructuralmente similares a los péptidos terapéuticamente útiles pueden utilizarse para producir un efecto terapéutico o profiláctico equivalente o mejorado. Generalmente, los peptidomiméticos son estructuralmente similares a un polipéptido paradigma (es decir, un polipéptido que presenta una actividad biológica o farmacológica), tal como se encuentra en un polipéptido de interés, pero que presenta uno o más enlaces peptídicos sustituidos opcionalmente por un enlace seleccionado de entre el grupo que consiste en, por ejemplo, -CH<sub>2</sub>NH-, -CH<sub>2</sub>S-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH=CH- (cis y trans), -COCH<sub>2</sub>-, -CH(OH)CH<sub>2</sub>- y -CH<sub>2</sub>SO-. El mimético puede estar enteramente compuesto de análogos sintéticos, no naturales, de aminoácidos o es una molécula quimérica de aminoácidos de péptido parcialmente naturales y análogos parcialmente no naturales de aminoácidos. El mimético puede incorporar además cualquier cantidad de sustituciones conservadoras de aminoácidos naturales con la condición de que estas sustituciones tampoco alteren sustancialmente la estructura y/o la actividad del mimético. Por ejemplo, una composición mimética se encuentra comprendida dentro del alcance de la invención en el caso de que sea capaz de llevar a cabo por lo menos una de las actividades de unión o enzimáticas de un polipéptido de interés.

Un "ligando" se refiere a un agente, por ejemplo un polipéptido u otra molécula, capaz de unirse a un receptor.

35 La expresión "variantes modificadas conservadoramente" se aplica a secuencias tanto de aminoácidos como de ácidos nucleicos. Con respecto a las secuencias de ácidos nucleicos particulares, la expresión "variantes modificadas conservadoramente" se refiere a aquellos ácidos nucleicos que codifican secuencias de aminoácidos idénticas o esencialmente idénticas, o en los que el ácido nucleico no codifica una secuencia de aminoácidos para producir secuencias esencialmente idénticas. Debido a la degeneración del código genético, varias secuencias de ácidos nucleicos codificarán cualquier proteína dada. Por ejemplo, los codones GCA, GCC, GCG y GCU codifican el aminoácido alanina. De esta manera, en cada posición en la que una alanina sea especificada por un codón, el codón puede alterarse en cualquiera de los codones correspondientes indicados sin alterar el polipéptido codificado. Estas variaciones del ácido nucleico son "variaciones silenciosas", y son una especie de variaciones modificadas conservadoramente. Cualquier secuencia de ácidos nucleicos en la presente memoria que codifique un polipéptido también describe cualquier posible variación silenciosa del ácido nucleico. El experto en la materia apreciará que cada codón en un ácido nucleico (excepto UG, que habitualmente es el único codón de la metionina, y TGG, que habitualmente es el único codón del triptófano) puede modificarse proporcionando una molécula funcionalmente idéntica. De acuerdo con lo anterior, cada variación silenciosa de un ácido nucleico que codifica un polipéptido se encuentra implícita en cada secuencia indicada.

50 Respecto a las secuencias de aminoácidos, el experto en la materia apreciará que las sustituciones, deleciones o adiciones individuales de una secuencia de ácido nucleico, péptido, polipéptido o proteína que altere, añada o delecione un único aminoácido o un porcentaje reducido de aminoácidos en la secuencia codificada es una "variante modificada conservadoramente" en la que la alteración resulta en la sustitución de un aminoácido por un aminoácido químicamente similar. Las tablas de sustitución conservadora que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares son bien conocidas de la técnica. Dichas variantes modificadas conservadoramente son adicionales y no excluyen las variantes polimórficas, homólogos entre especies y alelos de la invención.

Cada uno de los ocho grupos siguientes contiene aminoácidos que son sustituciones conservadoras entre sí:

- 60 1) Alanina (A), glicina (G),  
2) Ácido aspártico (D), ácido glutámico (E),  
3) Asparagina (N), glutamina (Q),  
65 4) Arginina (R), lisina (K),

5) Isoleucina (I), leucina (L), metionina (M), valina (V),

6) Fenilalanina (F), tirosina (Y), triptófano (W),

7) Serina (S), treonina (T), y

8) Cisteína (C), metionina (M)

(ver, por ejemplo, Creighton, Proteins, 1984).

La expresión "porcentaje de identidad de secuencia" se determina mediante la comparación entre dos secuencias óptimamente alineadas dentro de una ventana de comparación, en la que la parte de la secuencia polinucleótida en la ventana de comparación puede comprender adiciones o deleciones (es decir, huecos) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o deleciones) para la alineación óptima de las dos secuencias. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las que se encuentra una base de ácido nucleico o residuo aminoácido idéntico en ambas secuencias, proporcionando el número de posiciones correspondientes, dividido por el número de posiciones correspondientes por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100 para obtener el porcentaje de identidad de secuencias.

Los términos "idéntico" o porcentaje de "identidad" en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias polipeptídicas se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o presentan un porcentaje especificado de residuos aminoácidos o nucleótidos que son iguales (es decir, una identidad de 60%, opcionalmente una identidad de 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% en una región especificada, por ejemplo de la secuencia polipeptídica entera de la invención o los dominios extracelulares de los polipéptidos de la invención) en la composición y alineación para la máxima correspondencia en una ventana de comparación, o región indicada según se mida utilizando uno o más de los algoritmos siguientes de comparación de secuencias o mediante alineación manual e inspección visual. En este caso dichas secuencias se consideran "sustancialmente idénticas". Esta definición se refiere además al complemento de una secuencia de ensayo. Opcionalmente, la identidad existe en una región que presenta una longitud de por lo menos 50 nucleótidos aproximadamente, o más preferentemente en una región que presenta una longitud de 100 a 500 o 1.000 o más nucleótidos. Algunos anticuerpos comprendidos dentro del alcance de la presente invención, según las reivindicaciones, incluyen polipéptidos que son sustancialmente idénticos a SEC ID nº 12, SEC ID nº 14, SEC ID nº 16 y/o SEC ID nº 18.

Para la comparación entre secuencias, típicamente una secuencia actúa como secuencia de referencia, con la que se comparan las secuencias de ensayo. Al utilizar un algoritmo de comparación de secuencias, se introducen en un ordenador las secuencias de ensayo y de referencia, se indican las coordenadas de subsecuencia, en caso necesario, y se indican los parámetros del programa del algoritmo de secuencias. Pueden utilizarse parámetros por defecto del programa o pueden indicarse parámetros alternativos. A continuación, el algoritmo de comparación de secuencias calcula los porcentajes de identidad de secuencia para las secuencias de ensayo respecto a la secuencia de referencia basándose en los parámetros del programa.

Una "ventana de comparación", tal como se utiliza en la presente memoria, incluye la referencia a un segmento con cualquiera de entre varias posiciones contiguas seleccionadas de entre el grupo que consiste en, por ejemplo, una secuencia de longitud completa, o entre 20 y 600, entre aproximadamente 50 y aproximadamente 200, o entre aproximadamente 100 y aproximadamente 150, aminoácidos o nucleótidos en el que una secuencia puede compararse con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas tras alinear óptimamente las dos secuencias. Los métodos de alineación de secuencias para la comparación son bien conocidos en la técnica. La alineación óptima de secuencias para la comparación puede llevarse a cabo, por ejemplo, utilizando el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482c, 1970, el algoritmo de alineación de homologías de Needleman y Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443, 1970, el método de búsqueda de similitudes de Pearson y Lipman. Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444, 1988, mediante implementaciones computerizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el paquete de software de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI) o mediante alineación manual e inspección visual (ver, por ejemplo, Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology (suplemento de 1995)).

Un ejemplo de un algoritmo que resulta adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, que se describen en Altschul *et al.*, Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, 1977, y en Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990, respectivamente. El software para llevar a cabo los análisis de BLAST se encuentra disponible públicamente en el National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Este algoritmo implica identificar en primer lugar las parejas de secuencias de alta puntuación (HSP) mediante la identificación de palabras cortas de longitud W en la secuencia de pregunta, que correspondan con o satisfagan alguna puntuación umbral de valor positivo T al alinearse con una palabra de la misma longitud en una secuencia de la base de datos. Se denomina T al umbral de puntuación de palabra vecina (Altschul *et al.*, *supra*). Estos aciertos de palabra vecina iniciales actúan como núcleos para iniciar búsquedas para encontrar HSP más largas que las contengan. Los aciertos de palabra se extienden en ambas

direcciones a lo largo de cada secuencia mientras pueda incrementarse la puntuación de alineación acumulada. Las puntuaciones acumuladas se calculan utilizando, para las secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de premio para una pareja de residuos correspondientes, siempre >0) y N (puntuación de penalización para residuos no correspondientes, siempre <0). Para las secuencias de aminoácidos, se utiliza una matriz de puntuaciones para calcular la puntuación acumulada. La extensión de los aciertos de palabra en cada dirección se detiene cuando: la puntuación acumulada de la alineación disminuye en una cantidad X respecto al valor máximo alcanzado; la puntuación acumulada disminuye a cero o menos, debido a la acumulación de una o más alineaciones de residuos de puntuación negativa, o se alcanza el final de cualquiera de las secuencias. Los parámetros W, T y X del algoritmo BLAST determinan la sensibilidad y velocidad de la alineación. El programa BLASTN (para las secuencias de nucleótidos) utiliza como valores por defecto una longitud de palabra (W) de 11, un valor esperado (E) de 10, M=5, N=-4 y una comparación entre ambas cadenas. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP utiliza como valores por defecto una longitud de palabra de 3 y un valor esperado (E) de 10, y las alineaciones de la matriz de puntuaciones BLOSUM62 (ver Henikoff y Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915, 1989) (B) de 50, valor esperado (E) de 10, M=5, N=-4 y una comparación de ambas cadenas.

El algoritmo BLAST también lleva a cabo un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (ver, por ejemplo, Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787, 1993). Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la probabilidad de suma más pequeña (P(N)), que proporciona una indicación de la probabilidad de que una correspondiente entre dos secuencias de nucleótidos o de aminoácidos se produzca al azar. Por ejemplo, un ácido nucleico se considera similar a una secuencia de referencia en el caso de que la probabilidad de suma más pequeña en una comparación del ácido nucleico de ensayo y el ácido nucleico de referencia sea inferior a aproximadamente 0,2, más preferentemente inferior a aproximadamente 0,01 y todavía más preferentemente inferior a aproximadamente 0,001.

Una indicación de que dos secuencias de ácidos nucleicos o polipéptidos son sustancialmente idénticas es que el polipéptido codificado por el primer ácido nucleico presenta reactividad inmunológica cruzada con los anticuerpos inducidos contra el polipéptido codificado por el segundo ácido nucleico, tal como se indica posteriormente. De esta manera, un polipéptido típicamente es sustancialmente idéntico a un segundo polipéptido, por ejemplo, en el caso de que los dos péptidos difieran únicamente por sustituciones conservadoras. Otra indicación de que dos secuencias de ácidos nucleicos son sustancialmente idénticas es que las dos moléculas o sus complementos se hibridan entre sí bajo condiciones restrictivas, tal como se indica a continuación. Todavía otra indicación de que dos secuencias de ácidos nucleicos son sustancialmente idénticas es que pueden utilizarse los mismos cebadores para amplificar la secuencia.

### Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra algunas de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de los anticuerpos de la invención (SEC ID nº 19 a nº 22).

### Descripción detallada de la invención

#### I. Anticuerpos de la invención

La presente invención proporciona un anticuerpo que se une a CCX-CKR2, que comprende: i) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 14, o ii) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 16 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 18. Se describen reactivos y métodos para el tratamiento, el diagnóstico y el pronóstico de enfermedades y trastornos relacionados con CCX-CKR2 utilizando anticuerpos contra CCX-CKR2. Las enfermedades y trastornos relacionados con CCX-CKR2 se ejemplifican adicionalmente después y entre ellos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, el cáncer, enfermedades que implican la angiogénesis excesiva o anormal y la artritis.

En algunas formas de realización comprendidas dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones se aíslan los anticuerpos. En algunas formas de realización de la invención, los anticuerpos reconocen el mismo epítipo que el epítipo que se une a las CDR en SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14. En algunas formas de realización de la invención, los anticuerpos reconocen el mismo epítipo que el epítipo que se une a las CDR en SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18. Los anticuerpos que comprenden SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14 o SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18, se unen a CCX-CKR2 y compiten con las quimiocinas SDF-1 e I-TAC para la unión a CCX-CKR2. Se describen ensayos de competición para la unión de CCX-CKR2 en, por ejemplo, el documento PCT nº US04/34807 (WO 2005/044792) y en las publicaciones de patente US nº US2004/0170634 y nº 2005/0074826.

En algunas formas de realización comprendidas dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones, los anticuerpos se unen a CCX-CKR2 pero no se unen a sangre periférica humana. Por ejemplo, en algunas formas de realización comprendidas dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones, los anticuerpos de la invención no se unen a por lo menos una de las siguientes: basófilos, monocitos, células dendríticas plasmacitoides, células B ó células T CD4<sup>+</sup>.

Algunos anticuerpos comprendidos dentro del alcance de la presente invención, según las reivindicaciones, comprenden SEC ID nº 12 o SEC ID nº 14 o SEC ID nº 16 o SEC ID nº 18. En algunas formas de realización, los anticuerpos de la presente invención, según las reivindicaciones, comprenden SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14 o SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18. Los anticuerpos según la presente invención, según las reivindicaciones, comprenden las CDR de Kabat de SEC ID nº 12 y las CDR de Kabat de SEC ID nº 14, o las CDR de Kabat de SEC ID nº 16 y las CDR de Kabat de SEC ID nº 18.

Las localizaciones de las regiones de CDR y FR y un sistema de numeración han sido descritos previamente (Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, quinta edición, U.S. Department of Health and Human Services, U.S. Government Printing Office, 1991). Las CDR generalmente pueden identificarse utilizando el algoritmo IgBLAST del NCBI. En algunos casos, las CDR de cadena pesada se encuentran en las posiciones aminoácidas 31 a 35 (CDR1), 50 a 65 (CDR2) y 96 a 102 (CDR3). En algunos casos, las CDR de cadena ligera se encuentran en las posiciones aminoácidas 24 a 34 (CDR1), 50 a 56 (CDR2) y 89 a 97 (CDR3). Las CDR1 y CDR2 de Kabat para las SEC ID nº 12, nº 14, nº 16 y nº 18 son las ilustradas en la figura 1.

La capacidad de un anticuerpo particular de reconocer el mismo epítipo que otro anticuerpo está determinada típicamente por la capacidad de un anticuerpo de inhibir competitivamente la unión del segundo anticuerpo al antígeno, por ejemplo a CCX-CKR2 ó a un fragmento o fusión del mismo. Puede utilizarse cualquiera de entre varios ensayos de unión competitiva para medir la competición entre dos anticuerpos contra el mismo antígeno. Un ensayo ejemplificativo es un ensayo Biacore. Brevemente, en estos ensayos pueden mapearse los sitios de unión en términos estructurales sometiendo a ensayo la capacidad de las partes interactuantes, por ejemplo diferentes anticuerpos, de inhibir la unión del otro. La inyección de dos muestras consecutivas de anticuerpos a concentración suficiente puede identificar parejas de anticuerpos competidores para el mismo epítipo de unión. Las muestras de anticuerpos deben presentar el potencial de alcanzar una saturación significativa con cada inyección. La unión neta de la segunda inyección de anticuerpo es indicativa para el análisis de epítopos ligantes. Pueden utilizarse dos niveles de respuesta para describir los límites de la competición perfecta frente a la unión no competitiva debida a epítopos diferentes. El nivel relativo de respuesta de unión de la segunda inyección de anticuerpo respecto a la unión de epítopos ligantes idénticos y diferentes determina el grado de solapamiento de los epítopos. Los anticuerpos pueden reconocer epítopos lineales o conformacionales, por lo tanto los anticuerpos pueden ser competitivos y reconocer epítopos no similares y distantes.

En la presente invención pueden utilizarse otros inmunoensayos convencionales conocidos de la técnica. Por ejemplo, pueden diferenciarse anticuerpos por el epítipo al que se unen utilizando un ensayo ELISA de tipo sándwich. Lo anterior se lleva a cabo mediante la utilización de un anticuerpo de captura para recubrir la superficie de un pocillo. A continuación, se añade una concentración subsaturante de antígeno etiquetado a la superficie de captura. Esta proteína se une al anticuerpo mediante una interacción específica de anticuerpo:epítipo. Tras el lavado, se añade al ELISA un segundo anticuerpo, el cual se ha unido covalentemente a una fracción detectable (por ejemplo HRP, definiendo el anticuerpo marcado como el anticuerpo de detección). En el caso de que este anticuerpo reconozca el mismo epítipo que el anticuerpo de captura, será incapaz de unirse a la proteína diana ya que ese epítipo particular ya no se encontrará disponible para la unión. Sin embargo, en el caso de que este segundo anticuerpo reconozca un epítipo diferente en la proteína diana, podrá unirse y esta unión podrá detectarse mediante la cuantificación del nivel de actividad (y por lo tanto la cantidad de anticuerpo unido) utilizando un sustrato relevante. El fondo se define mediante la utilización de un único anticuerpo como anticuerpo tanto de captura como de detección, mientras que la señal máxima se establece mediante la captura con un anticuerpo específico de antígeno y realizando la detección con un anticuerpo contra la etiqueta en el antígeno. Mediante la utilización de las señales de fondo y máxima como referencias, pueden evaluarse los anticuerpos por parejas con el fin de determinar la especificidad de los epítopos.

Se considera que un primer anticuerpo inhibe competitivamente la unión de un segundo anticuerpo en el caso de que la unión del segundo anticuerpo al antígeno se reduzca en por lo menos 30%, habitualmente en por lo menos aproximadamente 40%, 50%, 60% ó 75%, y con frecuencia en por lo menos aproximadamente 90%, en presencia del primer anticuerpo mediante la utilización de los ensayos descritos anteriormente.

Los métodos de preparación de anticuerpos policlonales son conocidos por el experto en la materia. Pueden inducirse anticuerpos policlonales en un mamífero, por ejemplo mediante una o más inyecciones de un agente inmunizador y, si se desea, un adyuvante. Típicamente, el agente inmunizador y/o adyuvante se inyectan en el mamífero mediante múltiples inyecciones subcutáneas o intraperitoneales. El agente inmunizador puede incluir una proteína codificada por un ácido nucleico o fragmento del mismo o una proteína de fusión del mismo. Puede resultar útil conjugar el agente inmunizador con una proteína que es conocido que es inmunogénica en el mamífero que se inmuniza. Entre los ejemplos de estas proteínas inmunogénicas se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, la hemocianina de lapa americana, la albúmina sérica, la tiroglobulina bovina y el inhibidor de la tripsina de soja. Entre los ejemplos de adyuvantes que pueden utilizarse se incluyen el adyuvante completo de Freund y el adyuvante MPL-TDM (monofosforil-lípido A, dicorinomicolato de trehalosa sintético). El protocolo de inmunización puede ser seleccionado por el experto en la materia sin necesidad de experimentación indebida.

Los anticuerpos pueden ser, alternativamente, anticuerpos monoclonales. Pueden prepararse anticuerpos monoclonales utilizando métodos de hibridoma, tales como los descritos por Kohler y Milstein, *Nature* 256:495, 1975. En un método de hibridoma, típicamente se inmuniza un ratón, hámster u otro animal huésped apropiado con un agente inmunizador para inducir linfocitos que producen o que son capaces de producir anticuerpos que se unen específicamente al agente inmunizador. Alternativamente, los linfocitos pueden inmunizarse *in vitro*. El agente inmunizador típicamente incluye un polipéptido CCX-CKR2, o un fragmento o fusión del mismo. Generalmente se utilizan linfocitos de sangre periférica ("PBL") en el caso de que se deseen células de origen humano, o células de bazo o células de nódulo linfático en el caso de que se deseen fuentes de mamífero no humano. A continuación, se fusionan los linfocitos con una línea celular inmortalizada utilizando un agente de fusión adecuado, tal como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, páginas 59 a 103, 1986). Las líneas celulares inmortalizadas habitualmente son células de mamífero transformadas, particularmente células de mieloma de origen roedor, bovino y humano. Habitualmente se utilizan líneas celulares de mieloma de rata o de ratón. Las células de hibridoma pueden cultivarse en un medio de cultivo adecuado que contenga una o más sustancias que inhiben el crecimiento o la supervivencia de las células inmortalizadas no fusionadas. Por ejemplo, en el caso de que las células parentales no presenten el enzima hipoxantina-guanina-fosforibosil transferasa (HGPRT o HPRT), el medio de cultivo de los hibridomas típicamente incluirá hipoxantina, aminopterina y timidina ("medio HAT"), evitando estas sustancias el crecimiento de las células deficientes en HGPRT.

En algunas formas de realización de la invención según las reivindicaciones, los anticuerpos son anticuerpos quiméricos o humanizados. Tal como se ha indicado anteriormente, las formas humanizadas de los anticuerpos son inmunoglobulinas quiméricas en las que los residuos de una región determinante de complementariedad (CDR) de anticuerpo humano se sustituyen por residuos de una CDR de una especie no humana, tal como el ratón, la rata o el conejo, que presenta la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. Por ejemplo, pueden insertarse las CDR de SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14 o SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18 en el marco de un anticuerpo humano.

Pueden producirse anticuerpos humanos utilizando diversas técnicas conocidas, incluyendo las bibliotecas de expresión fágica (Hoogenboom y Winter, *J. Mol. Biol.* 227:381, 1991; Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222:581, 1991). Las técnicas de Cole *et al.* y de Boerner *et al.* también se encuentran disponibles para la preparación de anticuerpos monoclonales humanos (Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, página 77, 1985, y Boerner *et al.*, *J. Immunol.* 147(1):86-95, 1991). De manera similar, pueden generarse anticuerpos humanos mediante la introducción de loci de inmunoglobulina humana en animales transgénicos, por ejemplo ratones en los que se han inactivado parcial o completamente genes de inmunoglobulina endógenos. Tras el reto, se observa la producción de anticuerpos humanos, que es estrechamente similar a la observada en el ser humano en todos los aspectos, incluyendo la reorganización génica, el ensamblaje y el repertorio de anticuerpos. Este enfoque se describe en, por ejemplo, las patentes US nº 5.545.807, nº 5.545.806, nº 5.569.825, nº 5.625.126, nº 5.633.425 y nº 5.661.016, y en las publicaciones científicas siguientes: Marks *et al.*, *Bio/Technology* 10:779-783, 1992; Lonberg *et al.*, *Nature* 368:856-859, 1994; Morrison, *Nature* 368:812-13, 1994; Fishwild *et al.*, *Nature Biotechnology* 14:845-51, 1996; Neuberger, *Nature Biotechnology* 14:826, 1996; Lonberg y Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93, 1995.

En algunas formas de realización comprendidas dentro del alcance según las reivindicaciones, los anticuerpos de la invención son Fv de cadena sencilla (scFv). Las regiones V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> (por ejemplo SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14 o SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18) de un anticuerpo scFv comprenden una cadena sencilla que se pliega para crear un sitio de unión a antígeno similar al presente en los anticuerpos de dos cadenas. Tras el pliegue, las interacciones no covalentes estabilizan el anticuerpo de cadena sencilla. Aunque las regiones V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> de algunas formas de realización de anticuerpos pueden unirse directamente entre sí, el experto en la materia apreciará que las regiones pueden encontrarse separadas por un conector peptídico consistente de uno o más aminoácidos. Los conectores peptídicos y su utilización son bien conocidos en la técnica. Ver, por ejemplo, Huston *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 8:5879, 1988; Bird *et al.*, *Science* 242:4236, 1988; Glockshuber *et al.*, *Biochemistry* 29:1362, 1990; patentes US nº 4.946.778 y nº 5.132.405, y Stemmer *et al.*, *Biotechniques* 14:256-265, 1993. Generalmente, el conector peptídico no presentará ninguna actividad biológica específica aparte de unir las regiones o de mantener cierta distancia mínima u otra relación especial entre V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub>. Sin embargo, los aminoácidos constituyentes del conector peptídico pueden seleccionarse para influir sobre alguna propiedad de la molécula, tal como el pliegue, la carga neta o la hidrofobicidad. Los anticuerpos Fv de cadena sencilla (scFv) opcionalmente incluyen un conector peptídico de longitud no superior a 50 aminoácidos, generalmente no superior a 40 aminoácidos, preferentemente no superior a 30 aminoácidos, y más preferentemente no superior a 20 aminoácidos. En algunas formas de realización comprendidas dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones, el conector peptídico es un concatámero de la secuencia Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEC ID nº 23), preferentemente 2, 3, 4, 5 ó 6 de dichas secuencias. Sin embargo, debe apreciarse que pueden realizarse algunas sustituciones de aminoácidos dentro del conector. Por ejemplo, puede sustituirse una valina por una glicina.

Se han descrito métodos de generación de anticuerpos scFv. Ve Huse *et al.*, *Science* 246:1275-1281, 1989; Ward *et al.*, *Nature* 341:544-546, 1989, y Vaughan *et al.*, *Nature Biotech.* 14:309-314, 1996. Brevemente, se aísla ARNm a partir de células B procedentes de un animal inmunizado y se prepara el ADNc. El ADNc es amplificado utilizando cebadores específicos de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulinas. Los productos de PCR se purifican y se unen las secuencias de ácidos nucleicos. En el caso de que se desee un conector

peptídico, se insertan secuencias de ácidos nucleicos codificantes del péptido entre las secuencias de ácidos nucleicos de las cadenas pesada y ligera. El ácido nucleico que codifica scFv se inserta en un vector y se expresa en la célula huésped apropiada. Los scFv que se unen específicamente al antígeno deseado típicamente se encuentran mediante selección por adsorción (panning) en una biblioteca de expresión fágica. La selección por adsorción puede llevarse a cabo mediante cualquiera de entre varios métodos. La selección por adsorción puede llevarse a cabo convenientemente utilizando células que expresan el antígeno deseado sobre su superficie o utilizando una superficie sólida recubierta con el antígeno deseado. Convenientemente, la superficie puede ser una perla magnética. El fago no unido se desprende por lavado de la superficie sólida y se eluyen los fagos unidos.

Encontrar el anticuerpo con la afinidad más alta está dictado por la eficiencia del procedimiento de selección y depende del número de clones que puedan cribarse y de la astringencia con la que se realiza. Típicamente, una astringencia más alta corresponde a una selección por adsorción más selectiva. Sin embargo, en condiciones excesivamente astringentes, el fago no se une. Tras una ronda de selección por adsorción, el fago que se une a las placas recubiertas con CCX-CKR2 o a células que expresan CCX-CKR2 sobre su superficie se expanden en *E. coli* y se someten a otra ronda de selección por adsorción. De esta manera, se produce un enriquecimiento de muchas veces en 3 rondas de selección por adsorción. De esta manera, aunque el enriquecimiento en cada ronda sea reducido, múltiples rondas de selección por adsorción conducirán al aislamiento de fagos raros y del material genético contenido en su interior que codifica el scFv con la afinidad más alta o uno que se expresa mejor sobre el fago.

Con independencia del método de selección por adsorción seleccionado, la unión física entre el genotipo y el fenotipo proporcionada por la expresión fágica permite someter a ensayo todos los miembros de una biblioteca de ADNc para la unión a antígeno, incluso en bibliotecas de clones de gran tamaño.

En una forma de realización comprendida dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones, los anticuerpos son anticuerpos biespecíficos. Los anticuerpos biespecíficos son monoclonales, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, anticuerpos humanos o humanizados que presentan especificidades de unión para por lo menos dos antígenos diferentes o que presentan especificidades de unión para dos epítopos sobre el mismo antígeno. En una forma de realización comprendida dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones, una de las especificidades de unión es para una proteína CCK-CKR2, siendo la otra para otro antígeno de cáncer diferente. Alternativamente, la tecnología de tipo tetrámero puede crear reactivos multivalentes.

En algunas formas de realización comprendidas dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones, el anticuerpo se conjuga con una fracción efectora. La fracción efectora puede ser cualquiera de entre varias moléculas, incluyendo fracciones de marcaje detectables, tales como marcadores radioactivos o marcadores fluorescentes, o puede ser una fracción terapéutica.

En otras formas de realización comprendidas dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones, la fracción terapéutica es un agente citotóxico. Al dirigir el agente citotóxico al tejido o a las células cancerosas, se consigue reducir el número de células afectadas, reduciendo de esta manera los síntomas asociados al cáncer. Los agentes citotóxicos son numerosos y variados y entre ellos se incluyen, aunque sin limitación, fármacos o toxinas citotóxicos o fragmentos activos de estas toxinas. Entre las toxinas adecuadas y fragmentos correspondientes de las mismas se incluyen la cadena A diftérica, la cadena de la exotoxina A, la cadena A de la ricina, la cadena A de la abrina, la curcina, la crotina, la fenomicina, la enomicina, la auristatina y similares. Entre los agentes citotóxicos se incluyen además compuestos radioquímicos generados mediante conjugación de radioisótopos con anticuerpos de la invención.

## II. Inmunoensayos

Los anticuerpos de la invención pueden utilizarse para detectar CCX-CKR2 ó células que expresan CCX-CKR2 utilizando cualquiera de entre varios ensayos de unión inmunológicos bien conocidos (ver, por ejemplo, las patentes US nº 4.366.241, nº 4.376.110, nº 4.517.288 y nº 4.837.168). Para una revisión de los inmunoensayos generales, ver también *Methods in Cell Biology*, vol. 37, Asai (editor), Academic Press, Inc., New York, 1993; *Basic and Clinical Immunology*, 7a edición, Stites y Terr, editores, 1991.

De esta manera, la presente invención proporciona, según las reivindicaciones, métodos para detectar células que expresan CCX-CKR2. En un método, se lleva a cabo una biopsia en el sujeto y el tejido recogido se somete a ensayo *in vitro*. El tejido o las células tisulares se ponen en contacto a continuación con el anticuerpo anti-CCX-CKR2 de la invención. Cualesquiera complejos inmunológicos resultantes indicarán la presencia de una proteína CCX-CKR2 en la muestra biopsiada. Para facilitar dicha detección, el anticuerpo puede marcarse radioactivamente o acoplarse a una molécula efectora que sea un marcador detectable, tal como un marcador fluorescente. Las células pueden detectarse *in vivo* utilizando sistemas de obtención de imágenes. A continuación, se determina la localización del marcaje. Puede utilizarse un método convencional para visualizar las imágenes diagnósticas. Por ejemplo, para la RMI pueden utilizarse isótopos paramagnéticos. La internalización del anticuerpo puede resultar importante para extender la vida dentro del organismo más allá de lo proporcionado por la unión extracelular, que

será susceptible a la eliminación por el ambiente enzimático extracelular conjuntamente con la eliminación circulatoria.

Las proteínas CCX-CKR2 también pueden detectarse utilizando métodos de inmunoensayo estándares y los anticuerpos de la invención. Entre los métodos estándares se incluyen, por ejemplo, el radioinmunoensayo, los inmunoensayos de tipo sándwich (incluyendo el ELISA), los ensayos de inmunofluorescencia, la transferencia western, la cromatografía de afinidad (ligando de afinidad unido a una fase sólida) y la detección *in situ* con anticuerpos marcados. También puede utilizarse un agente de detección secundario, por ejemplo anticuerpo de cabra anti-ratón FITC. Puede encontrarse una visión general de la tecnología aplicable en Harlow y Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, 1988.

La presente invención proporciona, según las reivindicaciones, métodos para detectar una célula cancerosa, incluyendo métodos para proporcionar un pronóstico o diagnóstico de cáncer. El CCX-CKR2 se expresa en prácticamente todas las células cancerosas sometidas a ensayo hasta el momento, mientras que la expresión normal (no cancerosa) de CCX-CKR2 aparentemente se encuentra limitada al riñón y a algunas células cerebrales, así como en determinados estadios del desarrollo del hígado fetal. Ver, por ejemplo, el documento PCT nº US04/34807 (WO 2005/044792) y las solicitudes de patente US nº 10/698.541 (US 2004/0170634 A1) y nº 10/912.638 (US 2005/0074826 A1). Por lo tanto, la expresión de CCX-CKR2 en una célula, y en particular en una célula no fetal y/o en una célula diferente de una célula renal o cerebral, indica la presencia probable de una célula cancerosa. La presencia de CCX-CKR2 en el endotelio vascular de un tejido también podría indicar la presencia de un cáncer. En algunos casos, algunas muestras que contienen células que expresan CCX-CKR2 se comprueban para la presencia de células cancerosas utilizando otros métodos conocidos de la técnica.

Se describen métodos para seleccionar un curso de tratamiento de un sujeto que presenta o que se sospecha que presenta cáncer. Entre los métodos se incluyen obtener del sujeto una muestra biológica, poner en contacto la muestra con anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a CCX-CKR2, detectar la presencia o ausencia de unión de anticuerpos y seleccionar un curso de tratamiento apropiado al cáncer del sujeto. En algunos casos, el tratamiento consiste en administrar anticuerpos de CCX-CKR2 de la invención en el sujeto.

Se describen métodos de diagnóstico de enfermedades humanas, incluyendo, aunque sin limitarse a cáncer, por ejemplo carcinomas, gliomas, mesoteliomas, melanomas, linfomas, leucemias, adenocarcinomas, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer cervical, glioblastoma, leucemia, linfoma, cáncer de próstata y linfoma de Burkitt, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer pulmonar de células no pequeñas, cáncer pulmonar de células pequeñas, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer hepatobiliar, cáncer de la vesícula biliar, cáncer de intestino delgado, cáncer rectal, cáncer renal, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de pene, cáncer uretral, cáncer testicular, cáncer cervical, cáncer vaginal, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer del tiroides, cáncer paratiroideo, cáncer adrenal, cáncer pancreático endocrino, cáncer carcinoide, cáncer óseo, cáncer de piel, retinoblastoma, linfoma de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin (ver Cancer: Principles and Practice (DeVita V.T. *et al.*, editores, 1997) para cánceres adicionales), así como disfunciones cerebrales y neuronales, tales como la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple; disfunciones renales; artritis reumatoide, rechazo del aloinjerto cardiaco, aterosclerosis, asma, glomerulonefritis, dermatitis por contacto, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis, soriasis, daño por reperfusión, así como otros trastornos y enfermedades indicados en la presente memoria. En algunas formas de realización, el sujeto no presenta sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman multicéntrica o el linfoma de efusión primaria asociado al SIDA.

### III. Moduladores de CCX-CKR2

#### A. Método de identificación de moduladores de receptores de quimiocina

Pueden utilizarse varios protocolos de cribado diferentes para identificar los agentes que modulan el nivel de actividad o función de CCX-CKR2 en las células, particularmente en las células de mamífero, y especialmente en las células humanas. En términos generales, los métodos de cribado implican el cribado de una pluralidad de agentes para identificar un agente que interactúa con CCX-CKR2 (o un dominio extracelular del mismo), por ejemplo mediante la unión a CCX-CKR2 y que impide que los anticuerpos de la invención se unan a CCX-CKR2 ó activen CCX-CKR2. En algunas formas de realización un agente se une a CCX-CKR2 con una afinidad por lo menos aproximadamente 1,5, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50, 100, 300, 500 ó 1.000 veces la afinidad del agente para otra proteína.

#### 1. Ensayos de unión de receptores de quimiocina

Según un método de la invención, se identifican moduladores de CCX-CKR2 mediante el cribado para moléculas que compiten con anticuerpo de la invención para la unión a un polipéptido CCX-CKR2. El experto en la materia apreciará que existen varias maneras de llevar a cabo los análisis de competición. En algunas formas de realización comprendidas dentro del alcance del método de la invención, se preincuban muestras que incluyen CCX-CKR2 con un anticuerpo marcado de la invención y después se ponen en contacto con una molécula competidora potencial. La

alteración (por ejemplo la reducción) de la cantidad de anticuerpo unido a CCX-CKR2 en presencia de un compuesto de ensayo indica que el compuesto de ensayo es un modulador potencial de CCX-CKR2.

5 Pueden llevarse a cabo cribados preliminares mediante el cribado para agentes capaces de unirse a CCX-CKR2, ya que por lo menos algunos de los agentes identificados de esta manera es probable que sena moduladores de receptores de quimiocina. Los ensayos de unión habitualmente implican poner en contacto CCX-CKR2 con uno o más agentes de ensayo y dejar suficiente tiempo para que la proteína y los agentes de ensayo formen un complejo de unión. Cualesquiera complejos de unión formados pueden detectarse utilizando cualquiera de entre varias técnicas de análisis establecidas. Entre los ensayos de unión de proteínas se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, 10 ensayos de unión inmunohistoquímicos, citometría de flujo, unión de radioligandos, unión de ligandos marcados con europio, unión de ligandos marcados con biotina u otros ensayos que mantienen la conformación de CCX-CKR2. El receptor de quimiocina utilizado en dichos ensayos puede expresarse, clonarse o sintetizarse naturalmente. Pueden utilizarse ensayos de unión para identificar agonistas o antagonistas. Por ejemplo, mediante la puesta en contacto de CCX-CKR2 con un agonista potencial y midiendo para la actividad de CCX-CKR2, resulta posible identificar 15 aquellas moléculas que estimulan la actividad de CCX-CKR2.

## 2. Células y reactivos

20 Los métodos de cribado de la invención pueden llevarse a cabo en forma de ensayo *in vitro* o celulares. Los ensayos *in vitro* se llevan a cabo, por ejemplo, utilizando fracciones membranales o células completas que comprenden CCX-CKR2. Los ensayos celulares pueden llevarse a cabo en cualesquiera células en las que se exprese CCX-CKR2.

25 Los ensayos celulares implican células completas o fracciones celulares que contienen CCX-CKR2 para el cribado de la unión del agente o para la modulación de la actividad de CCX-CKR2 por parte del agente. Entre los tipos celulares ejemplificativos que pueden utilizarse según los métodos de la invención se incluyen, por ejemplo, cualesquiera células de mamífero, incluyendo leucocitos, tales como neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos, basófilos, mastocitos y linfocitos, tales como células T y células B, leucemias, linfomas de Burkitt, células tumorales, células endoteliales, pericitos, fibroblastos, células cardíacas, células musculares, células de tumor de mama, 30 carcinomas de cáncer ovárico, carcinomas cervicales, glioblastomas, células hepáticas, células renales y células neuronales, así como células fúngicas, incluyendo levaduras. Las células pueden ser células primarias o células tumorales u otros tipos de líneas celulares inmortales. Evidentemente CCX-CKR2 puede expresarse en células que no expresen una versión endógena de CCX-CKR2.

35 En algunos casos, pueden utilizarse para el cribado fragmentos de CCX-CKR2, así como proteínas de fusión. En el caso de que se deseen moléculas que compitan para la unión con ligandos de CCX-CKR2, los fragmentos de CCX-CKR2 utilizados son fragmentos capaces de unirse a los anticuerpos de la invención. Alternativamente, puede utilizarse cualquier fragmento de CCX-CKR2 como diana para identificar moléculas que se unan a CCX-CKR2. Entre los fragmentos de CCX-CKR2 puede incluirse cualquier fragmento de, por ejemplo, por lo menos 20, 30, 40, 50 40 aminoácidos, hasta una proteína que contenga todos los aminoácidos de CCX-CKR2 excepto uno. Típicamente, los fragmentos de unión a ligando comprenden regiones transmembranarias y/o la mayoría o la totalidad de los dominios extracelulares de CCX-CKR2.

## 3. Actividad de señalización o de adhesión

45 En algunas formas de realización, la señalización inducida por la activación de CCX-CKR2 se utiliza para identificar los moduladores de CCX-CKR2. La actividad de señalización de los receptores de quimiocina puede determinarse de muchas maneras. Por ejemplo, la señalización puede determinarse mediante la detección de la adhesión celular mediada por receptores de quimiocina. Las interacciones entre las quimiocinas y los receptores de quimiocina pueden conducir a la adhesión rápida mediante la modificación de la afinidad y avidéz de la integrina. Ver, por 50 ejemplo, Laudanna, *Immunological Reviews* 186:37-46, 2002.

La señalización puede medirse también mediante la determinación, cualitativa y cuantitativa, de mensajeros secundarios tales como AMP cíclico o inositol fosfatos, y también puede realizarse un seguimiento de los sucesos de fosforilación o desfosforilación. Ver, por ejemplo, Premack *et al.*, *Nature Medicine* 2:1174-1178, 1996, y Bokoch, 55 *Blood* 86:1649-1660, 1995.

Además, también puede realizarse un seguimiento de otros sucesos posteriores a la activación de CCX-CKR2 para determinar la actividad de señalización. Entre los sucesos posteriores se incluyen aquellas actividades o manifestaciones que se producen como resultado de la estimulación de un receptor de quimiocina. Entre los 60 sucesos posteriores ejemplificativos se incluyen, por ejemplo, la modificación del estado de una célula (por ejemplo de cáncer normal a célula cancerosa, o de células cancerosas a célula no cancerosa). Entre las respuestas celulares se incluyen la adhesión de las células (por ejemplo a células endoteliales). También puede realizarse un seguimiento de las cascadas de señalización establecidas que se producen en la angiogénesis (por ejemplo la señalización mediada por VEGF) para los efectos causados por los moduladores de CCX-CKR2. Puede evaluarse la capacidad 65 de los agentes de inducir la angiogénesis en, por ejemplo, la membrana corioalantoica de pollo, tal como se expone en Leung *et al.*, *Science* 246:1306-1309, 1989. Otra opción es llevar a cabo ensayos con córneas de rata, tal como

se comenta en Rastinejad *et al.*, Cell 56:345-355, 1989. Se dan a conocer otros ensayos en la patente US nº 5.840.693. También pueden utilizarse modelos de angiogénesis ovárica (ver, por ejemplo, Zimmerman R.C. *et al.*, J. Clin. Invest. 112:659-669, 2003; Zimmerman R.C. *et al.*, Microvasc. Res. 62:15-25, 2001, y Hixenbaugh E.A. *et al.*, Anat. Rec. 235:487-500, 1993).

5 Otros métodos de cribado se basan en la observación de que la expresión de determinadas proteínas reguladoras resulta inducida por la presencia o activación de CCX-CKR2. De esta manera, la detección de dichas proteínas puede utilizarse para determinar indirectamente la actividad de CCX-CKR2. Se llevó a cabo una serie de investigaciones de ELISA para comparar la concentración relativa de diversas proteínas secretadas en los medios de cultivo celular para células transfectadas con CCX-CKR2 y en células no transfectadas. Mediante estos estudios se determinó que CCX-CKR2 induce la producción de una serie de proteínas reguladoras diversas, incluyendo factores de crecimiento, quimiocinas, metaloproteinasas e inhibidores de metaloproteinasas. De esta manera, algunos de los métodos de cribado que se proporcionan implican determinar si un agente de ensayo modula la producción de determinados factores de crecimiento, quimiocinas, metaloproteinasas e inhibidores de metaloproteinasas por parte de CCX-CKR2. En algunos casos, los ensayos se llevan a cabo con células (o extractos de las mismas) que se han cultivado bajo condiciones de suero limitantes, ya que se ha encontrado que ello incrementa la producción de las proteínas inducidas por CCX-CKR2.

20 Las proteínas siguientes son ejemplos de las diversas clases de proteínas que se detectaron, así como proteínas específicas dentro de cada clase: (1) factores de crecimiento (por ejemplo GM-CSF), (2) quimiocinas (por ejemplo RANTES, MCP-1), (3) citocinas (por ejemplo IL-6), (4) metaloproteinasas (por ejemplo MMP3), y (5) inhibidor de metaloproteinasas (por ejemplo TIMP-1). Se espera que también puedan detectarse otras proteínas en estas diversas clases.

25 Dichas proteínas particulares pueden detectarse utilizando métodos estándares de detección inmunológica que son conocidos en la técnica. Un enfoque que resulta adecuado para la utilización en un formato de alto rendimiento, por ejemplo, es el ensayo ELISA que se lleva a cabo en placas multipocillo. Un kit ELISA para detectar TIMP-1 se encuentran disponible en DakoCytomation (código de producto nº EL513). Los kits ELISA para IL-6 y MMP3 pueden obtenerse de R&D Systems. En los ejemplos, posteriormente, se proporcionan ejemplos adicionales de proveedores de anticuerpos que se unen específicamente a las proteínas indicadas anteriormente. También pueden detectarse proteínas tales como las metaloproteinasas que son enzimas mediante ensayos enzimáticos conocidos.

35 En otras formas de realización comprendidas dentro del alcance de la invención según las reivindicaciones se someten a ensayo moduladores potenciales de CCX-CK2 para su capacidad de modular la adhesión celular. La adhesión de células tumorales a las monocapas de células endoteliales se ha estudiado como modelo de invasión metastásica (ver, por ejemplo, Blood y Zetter, Biochem. Biophys. Acta 1032:89-119, 1990). Estas monocapas de células endoteliales imitan la vasculatura linfática y pueden estimularse con diversas citocinas y factores de crecimiento (por ejemplo TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ). Las células que expresan CCX-CKR2 pueden evaluarse para su capacidad de adherirse a esta monocapa tanto en ensayos de adhesión estática, como en ensayos en los que las células se encuentra en condiciones de flujo para imitar la fuerza de la vasculatura *in vivo*. Además, también pueden llevarse a cabo *in vivo* ensayos para evaluar la adhesión (ver, por ejemplo, von Andrian U.H., Microcirculation 3(3):287-300, 1996).

#### 4. Validación

45 Los agentes que se identifican individualmente mediante cualquiera de los métodos de cribado anteriormente indicados pueden someterse a ensayo adicionalmente para validar la actividad aparente. Preferentemente, dichos estudios se llevan a cabo con modelos animales adecuados. El formato básico de dichos métodos implica administrar un compuesto cabeza de serie identificado durante un cribado inicial en un animal que sirve como modelo de la enfermedad para el ser humano y después determinar si la enfermedad (por ejemplo cáncer, infarto de miocardio, cicatrización de heridas u otras enfermedades relacionadas con la angiogénesis) de hecho resulta modulada y/o si la enfermedad o afección mejora. Los modelos animales utilizados en los estudios de validación generalmente son mamíferos de cualquier tipo. Entre los ejemplos específicos de animales adecuados se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, primates, ratones, ratas y peces cebra.

55 En algunas formas de realización, se utilizan modelos animales de artritis para cribar y/o validar usos terapéuticos de agentes que modulan CCX-CKR2. Entre los modelos animales ejemplificativos de artritis se incluyen, por ejemplo, el modelo animal de artritis inducida por colágeno (AIC).

#### 60 B. Agentes que interactúan con CCX-CKR2

Entre los moduladores de CCX-CKR2 (por ejemplo antagonistas o agonistas) pueden incluirse, por ejemplo, anticuerpos (incluyendo proteínas monoclonales, humanizadas u otros tipos de proteínas ligantes que son conocidas en la técnica), moléculas orgánicas pequeñas, ARNip, polipéptidos CCX-CKR2 o variantes de los mismos, quimiocinas (incluyendo, aunque sin limitación, SDF-1 y/o I-TAC), miméticos de quimiocinas, polipéptidos quimiocinas, etc.

Los agentes sometidos a ensayo como moduladores de CCX-CKR2 pueden ser cualesquier compuestos químicos pequeños, o una entidad biológica, tal como un polipéptido, azúcar, ácido nucleico o lípido. Alternativamente, los moduladores pueden ser versiones genéticamente alteradas, o versiones peptidomiméticas, de una quimiocina o de otro ligando. Típicamente, los compuestos de ensayo serán moléculas químicas y péptidos pequeños. Puede utilizarse esencialmente cualquier compuesto químico como potencial modulador o ligando en los ensayos de los métodos de la invención, aunque más frecuentemente se utilizan compuestos que pueden disolverse en soluciones acuosas u orgánicas (especialmente basadas en DMSO). Los ensayos se diseñan para cribar bibliotecas químicas de gran tamaño mediante automatización de las etapas de ensayo y proporcionando compuestos de cualquiera fuente conveniente para los ensayos, que típicamente se llevan a cabo en paralelo (por ejemplo en formatos de microtitulación en placas de microtitulación en ensayos robotizados). Se apreciará que existen muchos proveedores de compuestos químicos, incluyendo Sigma (St. Louis, MO), Aldrich (St. Louis, MO), Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), Fluka Chemika-Biochemica Analytika (Buchs, Suiza) y similares.

En algunas formas de realización, los agentes presentan un peso molecular inferior a 1.500 daltons, y en algunos casos inferior a 1.000, 800, 600, 500 ó 400 daltons. El tamaño relativamente reducido de los agentes puede resultar deseable debido a que las moléculas más pequeñas presentan una mayor probabilidad de presentar propiedades físicoquímicas compatibles con buenas características farmacocinéticas, incluyendo la absorción oral, que los agentes de peso molecular más elevado. Por ejemplo, los agentes que es menos probable que resulten exitosos como fármacos, basándose en la permeabilidad y solubilidad, han sido descritos por Lipinski *et al.* de la manera siguiente: presentan más de 5 donantes de enlace de H (expresado como la suma de los OH y los NH), presentan un peso molecular superior a 500, presentan un logP superior a 5 (o MLogP superior a 4,15) y/o presentan más de 10 aceptores de enlace de H (expresado como la suma de los N y los O). Ver, por ejemplo, Lipinski *et al.*, *Adv. Drug Delivery Res.* 23:3-25, 1997. Las clases de compuesto que son sustratos para los transportadores biológicos típicamente son excepciones a esta regla.

En una forma de realización, los métodos de cribado de alto rendimiento implican proporcionar una biblioteca combinatorial química o de péptidos que contiene un gran número de potenciales compuestos terapéuticos (potenciales compuestos moduladores o ligandos). Estas "bibliotecas combinatoriales químicas" o "bibliotecas de ligandos" seguidamente se criban en uno o más ensayos, tal como se indica en la presente memoria, para identificar aquellos miembros de la biblioteca (especies o subclases químicas particulares) que muestran una actividad característica deseada. Los compuestos identificados de esta manera pueden servir como "compuestos cabeza de serie" convencionales o pueden utilizarse ellos mismos como terapéuticos potenciales o reales.

Una biblioteca combinatorial química es una colección de diversos compuestos químicos generados mediante síntesis química o síntesis biológica, mediante la combinación de varios "bloques constructivos" químicos. Por ejemplo, se forma una biblioteca combinatoria química lineal, tal como una biblioteca de polipéptidos mediante la combinación de un grupo de bloques constructivos químicos (aminoácidos) en todas las posibles maneras para una longitud de compuesto dada (es decir, el número de aminoácidos en un compuesto polipeptídico). Pueden sintetizarse millones de compuestos químicos mediante dicha mezcla combinatorial de bloques constructivos químicos.

La preparación y cribado de las bibliotecas combinatoriales químicas son bien conocidos por el experto en la materia. Entre estas bibliotecas combinatoriales químicas se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, bibliotecas de péptidos (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.010.175, Furka, *Int. J. Pept. Prot. Res.* 37:487-493, 1991, y Houghton *et al.*, *Nature* 354:84-88, 1991). También pueden utilizarse otras químicas para generar bibliotecas de diversidad química. Entre estas químicas se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, peptoides (por ejemplo la publicación PCT nº WO 91/19735), péptidos codificados (por ejemplo la publicación PCT nº WO 93/20242), biooligómeros aleatorios (por ejemplo la publicación PCT nº WO 92/00091), las benzodiazepinas (por ejemplo la patente US nº 5.288.514), diversómeros tales como las hidantoínas, las benzodiazepinas y los dipéptidos (Hobbs *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90:6909-6913, 1993), polipéptidos vinílogos (Hagihara *et al.*, *J. Amer. Chem. Soc.* 114:6568, 1992), peptidomiméticos no peptídicos con andamiaje de glucosa (Hirschmann *et al.*, *J. Amer. Chem. Soc.* 114:9217-9218, 1992), síntesis orgánicas análogas de bibliotecas de compuestos pequeños (Chen *et al.*, *J. Amer. Chem. Soc.* 116:2661, 1994), oligocarbamatos (Cho *et al.*, *Science* 261:1303, 1993) y/o peptidil-fosfonatos (Campbell *et al.*, *J. Org. Chem.* 59:658, 1994), bibliotecas de ácidos nucleicos (ver Ausubel, Berger y Sambrook, *supra*), bibliotecas de ácidos péptido-nucleicos (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.539.083), bibliotecas de anticuerpos (ver, por ejemplo, Vaughn *et al.*, *Nature Biotechnology* 14(3):309-314, 1996) y PCT/US96/10287 (WO 1997/000271), bibliotecas de carbohidratos (ver, por ejemplo, Liang *et al.*, *Science* 274:1520-1522, 1996) y la patente US nº 5.593.853), bibliotecas de moléculas orgánicas pequeñas (ver, por ejemplo, benzodiazepinas, Baum *C&EN*, 18 de enero, página 33, 1993): isoprenoides, patente US nº 5.569.588; tiazolidinonas y metatiazanonas, patente US nº 5.549.975; pirrolidinas, patentes US nº 5.525.735 y nº 5.519.134; compuestos morfolino, patente US nº 5.506.337; benzodiazepinas, patente US nº 5.288.514, y similares).

Los dispositivos para la preparación de bibliotecas combinatorias se encuentran disponibles comercialmente (ver, por ejemplo 357 MPS, 390 MPS, Advanced Chem. Tech., Louisville KY, Symphony, Rainin, Woburn, MA, 433A Applied Biosystems, Foster City, CA, 9050 Plus, Millipore, Bedford, MA). Además, numerosas bibliotecas

combinatorias se encuentran ellas mismas disponibles comercialmente (ver, por ejemplo, ComGenex, Princeton, N.J., Tripos, Inc., St. Louis, MO, 3D Pharmaceuticals, Exton, PA, Martek Biosciences, Columbia, MD, etc.).

#### IV. Cáncer, angiogénesis y otros aspectos biológicos de CCX-CKR2

Los anticuerpos de la invención pueden ponerse en contacto con una célula que expresa CCX-CKR2 *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo* (es decir, extraerse del cuerpo, tratarse y devolverse al cuerpo). Los anticuerpos de la invención pueden administrarse directamente en el sujeto mamífero para la modulación de la actividad de receptores de quimiocina *in vivo*. En algunos casos, los anticuerpos compiten con SDF1 y/o I-TAC para la unión a CCX-CKR2. Según la invención, los anticuerpos reconocen el mismo epítipo que el epítipo unido a las CDR en SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14, o SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18. En algunas formas de realización, los anticuerpos comprenden SEC ID nº 12 y/o SEC ID nº 14, o SEC ID nº 16 y/o SEC ID nº 18.

Los anticuerpos de CCX-CKR2 pueden administrarse en un sujeto que presenta cáncer. Los moduladores de CCX-CKR2 pueden administrarse para tratar el cáncer, por ejemplo carcinomas, gliomas, mesoteliomas, melanomas, linfomas, leucemias, adenocarcinomas, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer cervical, glioblastoma, leucemia, linfoma, cáncer de próstata y linfoma de Burkitt, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer pulmonar de células no pequeñas, cáncer pulmonar de células pequeñas, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer hepatobiliar, cáncer de la vesícula biliar, cáncer del intestino delgado, cáncer rectal, cáncer renal, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de pene, cáncer uretral, cáncer testicular, cáncer cervical, cáncer vaginal, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer de tiroides, cáncer de paratiroides, cáncer adrenal, cáncer pancreático endocrino, cáncer carcinoide, cáncer óseo, cáncer de piel, retinoblastomas, linfoma de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin (ver Cancer: Principles and Practice (DeVita V.T. *et al.*, editores, 1997) para cánceres adicionales), así como disfunciones cerebrales y neuronales, tales como la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple; disfunciones renales; artritis reumatoide, rechazo del aloinjerto cardiaco, aterosclerosis, asma, glomerulonefritis, dermatitis por contacto, enfermedad intestinal inflamatoria, colitis, soriasis, daño por reperfusión, así como otros trastornos y enfermedades indicados en la presente memoria. En algunas formas de realización, el sujeto no presenta sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman multicéntrica o el linfoma de efusión primaria asociado al SIDA.

Se describe la reducción de la angiogénesis en cualquier sujeto que lo necesite, mediante la administración de anticuerpos de la invención. Por ejemplo, la reducción de la actividad de CCX-CKR2 mediante el contacto de CCX-CKR2 con un anticuerpo de la invención, reduciendo de esta manera la angiogénesis, resulta útil para inhibir la formación, crecimiento y/o metástasis de los tumores, especialmente de tumores sólidos. Se proporciona una descripción de CCX-CKR2 modulado y la angiogénesis en, por ejemplo, la solicitud de patente US nº 11/050.345 (US 2005/0214287 A1).

Entre otros trastornos que implican una angiogénesis no deseada o problemática se incluyen la artritis reumatoide, la soriasis, las enfermedades angiogénicas oculares, por ejemplo la retinopatía diabética, la retinopatía del prematuro, la degeneración macular, el rechazo del injerto corneal, el glaucoma neovascular, la fibroplasia retrolental, la rubeosis, el síndrome de Osler-Webber, la angiogénesis miocárdica, la neovascularización de placas, la telangiectasia, las articulaciones hemofílicas, el angiofibroma, la enfermedad de estimulación excesiva o anormal de las células endoteliales, incluyendo las adhesiones intestinales, la enfermedad de Crohn, enfermedades de la piel tales como la soriasis, el eccema y el escleroderma, la diabetes, la retinopatía diabética, la retinopatía del prematuro, la degeneración macular asociada a la edad, la aterosclerosis, el escleroderma, la granulación de heridas y las cicatrices hipertróficas, es decir, los queloides, y las enfermedades que presentan la angiogénesis como consecuencia patológica, tales como la enfermedad por arañazo de gato y las úlceras (*Helicobacter pylori*), también pueden tratarse con anticuerpos de la invención. Pueden utilizarse inhibidores angiogénicos para prevenir o inhibir las adhesiones, especialmente las adhesiones intraperitoneales o pélvicas, tales como las resultantes de cirugía abierta o laparoscópica y contracturas de quemaduras. Entre otros estados que resultarían beneficiosamente tratadas utilizando los inhibidores de angiogénesis se incluyen la prevención de la cicatrización tras el trasplante, la cirrosis hepática, la fibrosis pulmonar secundaria a síndrome del distrés respiratorio agudo u otras fibrosis pulmonares del neonato, la implantación de prótesis temporales y las adhesiones tras cirugía cerebral y de la duramadre. La endometriosis, la poliposis, la hipertrofia cardiaca, así como la obesidad, también pueden tratarse mediante la inhibición de la angiogénesis. Estos trastornos pueden implicar incrementos del tamaño o crecimiento de otros tipos de tejido normal, tales como los fibroides uterinos, la hipertrofia prostática y la amiloidosis. Los anticuerpos de la presente invención pueden utilizarse profiláctica o terapéuticamente para cualquiera de los trastornos o enfermedades indicados en la presente memoria.

La reducción de la actividad de CCX-CKR2 con los anticuerpos de la presente invención también puede utilizarse para prevenir la neovascularización con el fin de tratar eficazmente un abanico de trastornos. De esta manera, por ejemplo, la reducción de la angiogénesis puede utilizarse como parte de un tratamiento para trastornos de los vasos sanguíneos (por ejemplo hemangiomas y proliferación capilar dentro de las placas ateroscleróticas), enfermedades musculares (por ejemplo angiogénesis miocárdica, infarto miocárdico o angiogénesis dentro de músculos lisos), articulaciones (por ejemplo artritis, articulaciones hemofílicas, etc.) y otros trastornos asociados a la angiogénesis. La inducción de la angiogénesis también puede ayudar a acelerar diversos procesos fisiológicos y el tratamiento de

enfermedades que requieren una vascularización incrementada, tales como la cicatrización de heridas, las fracturas y las quemaduras, las enfermedades inflamatorias, el corazón isquémico y las enfermedades vasculares periféricas.

Los anticuerpos de la presente invención también pueden utilizarse para incrementar la cicatrización de heridas. Sin pretender limitar la invención a un mecanismo de acción particular, puede ocurrir que el antagonismo de CCX-CKR2 permita por el contrario que ligandos endógenos se unan a receptores de afinidad más baja, induciendo de esta manera una cicatrización de heridas mejorada. Por ejemplo, SDF-1 se une tanto a CCX-CKR2 como a CXCR4, aunque se une a CXCR4 con menor afinidad. De manera similar, I-TAC se une a CXCR3 con una afinidad más baja que la de la unión de I-TAC a CCX-CKR2. Al evitar que la unión de estos ligandos a CCX-CKR2, los antagonistas de CCX-CKR2 podrían permitir que los ligandos se unan a otros receptores, mejorando de esta manera la cicatrización de heridas. De esta manera, el antagonismo de CCX-CKR2 para mejorar la cicatrización de heridas podría encontrarse mediado por un mecanismo diferente que la mejora de la cicatrización de heridas mediante la estimulación de la actividad de CCX-CKR2 utilizando un agonista.

Aparte del tratamiento de trastornos y síntomas asociados a la neovascularización, la inhibición de la angiogénesis puede utilizarse para modular o prevenir la aparición de condiciones fisiológicas normales asociadas a la neovascularización, por ejemplo como medida de control de la natalidad. La reducción de la actividad de CCX-CKR2 en los ovarios o en el endometrio puede atenuar la neovascularización asociada a la ovulación, a la implantación de un embrión, a la formación de placenta, etc.

Los inhibidores de la angiogénesis presentan todavía otros usos terapéuticos. Por ejemplo, los anticuerpos de la presente invención pueden utilizarse para lo siguiente:

(a) ablación de tejido adiposo y tratamiento de la obesidad. Ver, por ejemplo, Kolonin *et al.*, *Nature Medicine* 10(6):625-632, 2004.

(b) Tratamiento de la preclampsia. Ver, por ejemplo, Levine *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 350(7):672-683, 2004; Maynard *et al.*, *J. Clin. Invest.* 111(5):649-658, 2003, y

(c) Tratamiento de enfermedades cardiovasculares. Ver, por ejemplo, March *et al.*, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 287:H458-H463, 2004; Rehman *et al.*, *Circulation* 109:1292-1298, 2004.

#### V. Administración y composiciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas descritas pueden comprender, por ejemplo, un anticuerpo de la presente invención y un portador farmacéuticamente aceptable. Los portadores farmacéuticamente aceptables están determinados en parte por la composición particular que se administra, así como por el método particular utilizado para administrar la composición. De acuerdo con ello, existe una amplia diversidad de formulaciones adecuadas de las composiciones farmacéuticas descritas (ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª edición, 1985).

Entre las formulaciones adecuadas para la administración se incluyen soluciones acuosas y no acuosas, soluciones estériles isotónicas, las cuales pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos y solutos que convierten la formulación en isotónica, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizadores, agentes espesantes, estabilizadores y conservantes. Las composiciones pueden administrarse, por ejemplo, por las vías oral, nasal, tópica, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intratecal. Las formulaciones de los compuestos pueden presentarse en recipientes sellados unidos o multidosis, tales como ampollas y viales. Pueden prepararse soluciones y suspensiones a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo anteriormente indicado.

La composición puede administrarse mediante una bomba de infusión, por ejemplo del tipo utilizado para administrar insulina o quimioterapia en órganos o tumores específicos. Las composiciones pueden inyectarse utilizando una jeringa o catéter directamente en un tumor o en el sitio de un tumor primario antes o después de la extirpación, o sistémicamente después de la extirpación del tumor primario. Las composiciones pueden administrarse por vía tópica o local, según resulte necesario. Para la administración local prolongada, los anticuerpos pueden administrarse en un implante de liberación controlada inyectado en el sitio de un tumor. Alternativamente, pueden transfectarse *ex vivo* las células de un individuo con plásmidos de manera que expresen el anticuerpo de la invención y posteriormente inyectarse en el sitio del tumor. Para el tratamiento tópico de una afección de la piel, los anticuerpos de enzima pueden administrarse en la piel en una pomada o gel.

Los anticuerpos de CCX-CKR2 de la presente invención pueden administrarse en combinación con otros agentes terapéuticos apropiados, incluyendo, por ejemplo, agentes quimioterápicos, radiación, etc. El experto ordinario en la materia podrá realizar la selección de los agentes apropiados para la utilización en terapia de combinación, según principios farmacéuticos convencionales. La combinación de agentes terapéuticos puede actuar sinérgicamente para llevar a cabo el tratamiento o la prevención de diversos trastornos, tales como, por ejemplo, cáncer, heridas, disfunción renal, disfunción cerebral o disfunción neuronal. Mediante la utilización de este enfoque, puede

conseguirse eficacia terapéutica con dosis más bajas de cada agente, reduciendo de esta manera el potencial de efectos secundarios negativos.

5 La dosis administrada en un paciente debería ser suficiente para producir una respuesta beneficiosa en el sujeto con el tiempo (por ejemplo para reducir el tamaño tumoral o la carga tumoral). El nivel de dosis óptimo para cualquier paciente dependerá de una diversidad de factores, incluyendo la eficacia del modulador específico utilizado, la edad, el peso corporal, la actividad física y la dieta del paciente, de una posible combinación con otros fármacos y de la gravedad de una enfermedad particular. El tamaño de la dosis se determinará a partir de la existencia, naturaleza y grado de cualesquiera efectos secundarios negativos que acompañen a la administración de un compuesto o vector particular en un sujeto particular.

10 Al determinar la cantidad efectiva del anticuerpo que debe administrarse, el médico puede evaluar los niveles plasmáticos circulantes del anticuerpo, la toxicidad del anticuerpo y la producción de anticuerpos anti-anticuerpo. En general, la dosis equivalente de un anticuerpo es de entre aproximadamente 1 ng/kg y 10 mg/kg para un sujeto típico.

15 Para la administración, los anticuerpos de la presente invención pueden administrarse a una tasa determinada por la LD-50 del anticuerpo, y los efectos secundarios del anticuerpo a diversas concentraciones, según se aplican a la masa y salud global del sujeto. La eliminación del anticuerpo por el sistema inmunológico del paciente también puede afectar a la dosis adecuada que debe administrarse. La administración puede llevarse a cabo mediante dosis individuales o dosis divididas.

20 Las composiciones que contienen anticuerpos de la invención pueden administrarse para tratamientos terapéuticos o profilácticos. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones se administran en un paciente que sufre una enfermedad (por ejemplo un cáncer, artritis u otra enfermedad o trastorno relacionado con CCX-CKR2) en una cantidad suficiente para curar o por lo menos detener parcialmente la enfermedad y sus complicaciones, por ejemplo la reducción del tamaño del tumor, etc. Una cantidad adecuada para conseguirlo se define como una "dosis terapéuticamente efectiva". Las cantidades efectivas para este uso dependerán de la gravedad de la enfermedad y del estado general de salud del paciente. Las administraciones individuales o múltiples de las composiciones pueden administrarse dependiendo de la dosis y frecuencia requeridos y tolerados por el paciente. En cualquier caso, la composición debería proporcionar una cantidad suficiente de los agentes de la presente invención para tratar con efectividad el paciente. Una cantidad de modulador que sea capaz de prevenir o enlentecer el desarrollo de cáncer en un mamífero se denomina "dosis profilácticamente efectiva". La dosis particular requerida para un tratamiento profiláctico dependerá del estado y del historial médico del mamífero, del cáncer particular que se prevenir, así como de otros factores tales como la edad, el peso, el género, la vía de administración, la eficiencia, etc. Dichos tratamientos profilácticos pueden utilizarse, por ejemplo, en un mamífero que ha sufrido previamente de cáncer, con el fin de prevenir una recurrencia del cáncer, o en un mamífero que se sospecha que presenta una probabilidad significativa de desarrollar cáncer.

#### 40 VI. Terapias de combinación

45 Los anticuerpos de la invención pueden suministrarse solos o conjuntamente con otro u otros fármacos. Entre las posibles parejas de combinación pueden incluirse, por ejemplo, factores antiangiogénicos y/o agentes quimioterápicos adicionales (por ejemplo agentes citotóxicos) o radiación, una vacuna del cáncer, un agente inmunomodulador, un agente antivascular, un inhibidor de la transducción de señales, un agente antiproliferativo o un inductor de apoptosis.

50 Los anticuerpos de la invención pueden utilizarse conjuntamente con anticuerpos y péptidos que bloquean la unión de integrina, proteínas y moléculas pequeñas que inhiben las metaloproteinasas (por ejemplo el marmistat), agentes que bloquean las cascadas de fosforilación dentro de las células endoteliales (por ejemplo la herbamicina), receptores negativos dominantes para inductores conocidos de la angiogénesis, anticuerpos contra inductores de angiogénesis u otros compuestos que bloquean su actividad (por ejemplo la suramina) u otros compuestos (por ejemplo retinoides, IL-4, interferones, etc.) que actúan por otros medios. En efecto, debido a que dichos factores podrían modular la angiogénesis por mecanismos diferentes, la utilización de anticuerpos de la invención en combinación con otros agentes antiangiogénicos puede potenciar una inhibición más potente (y potencialmente sinérgica) de la angiogénesis dentro del tejido deseado.

55 Los agentes antiangiogénesis, tales como los inhibidores de MMP-2 (metaloproteinasa matricial 2), los inhibidores de MMP-9 (metaloproteinasa matricial 9) y los inhibidores de COX-II (ciclooxigenasa II), pueden utilizarse conjuntamente con anticuerpos de la invención y las composiciones farmacéuticas indicadas en la presente memoria. Los anticuerpos anti-CCX-CKR2 de la invención también pueden utilizarse con inhibidores de la transducción de señales, tales como agentes que pueden inhibir las respuestas de EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico), tales como anticuerpos de EGFR, anticuerpos de EGF y moléculas que son inhibidores de EGFR; inhibidores del VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), tales como receptores de VEGF y moléculas que pueden inhibir VEGF, e inhibidores del receptor de erbB2, tales como moléculas orgánicas o anticuerpos que se unen al receptor de erbB2, por ejemplo HERCEPTIN<sup>TM</sup> (Genentech, Inc., de South San Francisco, Calif., USA).

Los anticuerpos anti-CCX-CKR2 de la invención también pueden combinarse con otros fármacos, incluyendo fármacos que estimulan la angiogénesis y/o la cicatrización de heridas. El experto en la materia apreciará que pueden incorporarse una o más sustancias medico-quirúrgicamente útiles o agentes terapéuticos, por ejemplo aquellos que puedan intensificar adicionalmente la respuesta angiogénica y/o acelerar y/o modificar beneficiosamente el proceso de cicatrización al aplicar la composición en el sitio deseado que requiere angiogénesis. Por ejemplo, para estimular adicionalmente la angiogénesis, la reparación y/o el crecimiento de tejido, puede incluirse en la composición por lo menos una de entre varias hormonas, factores de crecimiento o proteínas mitógenas, por ejemplo factor de crecimiento fibroblástico, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento derivado de macrófagos, etc. Además, pueden incluirse agentes antimicrobianos en las composiciones, por ejemplo antibióticos tales como sulfato de gentamicina o eritromicina. Entre otros agentes medico-quirúrgicamente útiles pueden incluirse antiinflamatorios, analgésicos, anestésicos, rubificantes, enzimas, antihistamínicos y pigmentos.

Los anticuerpos anti-CCX-CKR2 de la invención también pueden combinarse con otros fármacos, incluyendo fármacos para el tratamiento de la artritis. Entre los ejemplos de dichos agentes se incluyen agentes terapéuticos antiinflamatorios. Por ejemplo, los glucocorticoesteroides tales como la prednisolona y la metilprednisolona son fármacos antiinflamatorios utilizados con frecuencia. También se utilizan fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) para suprimir la inflamación. Los NSAID inhiben los enzimas ciclooxigenasa (COX), COX-1 y COX-2, los cuales son cruciales para la producción de prostaglandinas producidas en exceso en los sitios de inflamación. Además, la citocina estimuladora de inflamación, el factor  $\alpha$  de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ), se asocia a múltiples sucesos inflamatorios, incluyendo la artritis y se están utilizando clínicamente terapias anti-TNF $\alpha$ .

#### VII. Kits para la utilización en aplicaciones diagnósticas y/o pronósticas

También se describen kits para la utilización en las aplicaciones diagnósticas, de investigación y terapéuticas propuestas anteriormente. En las aplicaciones diagnósticas y de investigación, dichos kits pueden incluir cualquiera o la totalidad de los siguientes: reactivos de ensayo, tampones y los anticuerpos anti-CCX-CKR2 de la invención. Un producto terapéutico puede incluir solución salina estéril u otra emulsión farmacéuticamente aceptable y suspensión base.

Además, los kits pueden incluir materiales de instrucciones que contienen indicaciones (es decir, protocolos) para la puesta en práctica de los métodos de la presente invención. Aunque los materiales de instrucciones típicamente comprenden materiales escritos o impresos, no se encuentran limitados a los mismos. Se encuentran contemplados cualesquier medios que puedan almacenar dichas instrucciones y comunicarlas a un usuario final. Entre dichos medios se incluyen, aunque sin limitación, medios de almacenamiento electrónico (por ejemplo discos magnéticos, cintas, cartuchos o chips), medios ópticos (por ejemplo CD-ROM) y similares. Entre dichos medios pueden incluirse direcciones de sitios de Internet que proporcionan dichos materiales de instrucciones.

#### **Ejemplos**

La producción de anticuerpos contra los receptores acoplados a proteína G (GPCR) ha resultado ser notoriamente difícil. Se utilizó el método de Genovac AG, DE, descrito de manera general en la solicitud de patente canadiense nº CA 2.350.078. Se crearon anticuerpos que se unían a CCX-CKR2 mediante inoculación de ratones con ADNc que expresaba CCX-CKR2 (SEC ID nº 1). Brevemente, se clonó CCX-CKR2 en un vector de expresión y se inocularon ratones con el vector mediante el método de la pistola génica. En un punto temporal apropiado, se aislaron las células B, se fusionaron con células de mieloma mediante técnicas estándares y las células de hibridoma fusionadas se seleccionaron en cultivo *in vitro*. Los sobrenadantes de los cultivos clonales se analizaron para la unión a células transfectadas establemente con CCX-CKR2 mediante citometría de flujo. Los clones positivos se amplificaron y se sometieron a rondas adicionales de cribado mediante citometría de flujo.

Se determinó que los anticuerpos monoclonales 6E10 y 11G8 se unían a CCX-CKR2. Los anticuerpos 6E10 y 11G8 detectaron CCX-CKR2 en líneas celulares transfectadas que no producían endógenamente CCX-CKR2, así como en células que expresaban endógenamente CCX-CKR2, tales como HeLa y MCF-7 (ATCC, VA). Además, los anticuerpos pudieron reconocer el homólogo de ratón de CCX-CKR2. Por ejemplo, los anticuerpos 6E10 y 11G8 detectaron CCX-CKR2 en la línea de células de tumor mamario de ratón 4T1 y las células de carcinoma pulmonar de Lewis (ATCC, Va). Los anticuerpos 6E10 y 11G8, pero no los controles de isotipo, se detectaron en una línea celular HEK293 transfectada con CCX-CKR2, pero no se unían a las células HEK293 transfectadas con un vector vacío o a las que expresaban otros receptores de quimiocina (por ejemplo CXCR2).

Los anticuerpos también eran neutralizadores, tal como se demostró mediante ensayos de unión competitiva de radioligandos. Los dos anticuerpos, 6E10 y 11G8, competían tanto con SDF-1 como con I-TAC para la unión a CCX-CKR2 tanto de ratón como humano. El anticuerpo 11G8 típicamente mostraba un porcentaje de inhibición de la unión de quimiocina más elevado que el anticuerpo 6E10.

Los anticuerpos 6E10 y 11G8 también reconocían CCX-CKR2 en ensayos inmunohistoquímicos (IHC) en secciones de tejido incluidas en parafina. En experimentos con diversos tipos de tejido, la tinción de IHC con los anticuerpos 6E10 y 11G8 se correspondía con los patrones de expresión determinados con ensayos de unión que incorporaban SDF marcado radioactivamente o I-TAC en los tejidos respectivos. Por ejemplo, se observó tinción de CCX-CKR2 en secciones de ratón fetal E13, pero no en secciones de ratón fetal o adulto E17. La tinción de CCX-CKR2 también se observó en citocentrifugados de células que expresaban establemente CCX-CKR2 humano.

Se determinó la secuencia codificante de la región variable de las cadenas pesada y ligera y las secuencias de aminoácidos mencionadas anteriormente. La región variable de cadena pesada de 6E10 se encontraba contenida en SEC ID nº 12 (codificada por SEC ID nº 11). La región variable de cadena ligera de 6E10 se encontraba contenida en SEC ID nº 14 (codificada por SEC ID nº 13). La región variable de cadena pesada de 11G8 se encontraba contenida en SEC ID nº 16 (codificada por SEC ID nº 15). La región variable de cadena ligera de 11G8 se encontraba contenida en SEC ID nº 18 (codificada por SEC ID nº 17).

**Listado de secuencias**

SEC ID nº 1: secuencia codificante de CCX-CKR2

ATGGATCTGCATCTCTTCGACTACTCAGAGCCAGGGAACTTCTCGGACATCAGCT  
 GGCCATGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA  
 TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC  
 GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA  
 CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACCTGGCCATTGCCGACCTGTG  
 GGTTGTCCTACCCATCCCAGTCTGGGTGGTCAGTCTCGTGCAGCACAACCAGTGG  
 CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT  
 TCGGCAGCATTTTCTTCCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC  
 TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCGTCTGC  
 ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA  
 GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCCCTTCTACCCCGAG  
 CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT  
 TTGCCGTTCCCTTCTCCATTATCGCTGTCTTCTACTTCCCTGCTGGCCAGAGCCATC  
 TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC  
 GTGGTGGTCTTCTTGTCTGCTGGCTGCCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACA  
 TCTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTCACCTGCCGGCTGGAGCACGCCCTCTTC  
 ACGGCCCTGCATGTCACACAGTGCCTGTCGCTGGTGCCTGCTGCGTCAACCCTG  
 TCCTCTACAGCTTCATCAATCGAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCTTCAT  
 CTTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTC  
 TCAGAGACGGAGTACTCTGCCTTGGAGCAGAGCACCAAATGA

SEC ID nº 2: secuencia de aminoácidos de CCX-CKR2

MDLHLFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPNKSVELLYTSLFIYIFIFVIGM  
 IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIDLWVVLTPVWVVSLSVQHNQWPMGEL  
 TCKVTHLIFSINLFGSIFFLTCMSVDRYLSITYFTNTPSSRKKMVRVVCILVWLLAFC  
 VSLPDTYYLKTVTSASNNETYCRSFYPEHSIKEWLIGMELVSVVLGFAVPFSIIAVFYF  
 LLARAISSDQEKHSSRKIIFSYYVVVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHAL  
 FTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFINRNYRYELMKAFIFKYSAKTGLTKLIDASRVSE  
 TEYSALEQSTK

SEC ID nº 3: secuencia codificante de CCX-CKR2.2

ATGGATCTGCACCTCTTCGACTACGCCGAGCCAGGCAACTTCTCGGACATCAGCT  
 GGCCATGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA  
 TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC  
 GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA  
 CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACCTGGCCATTGCCGACCTGTG  
 GGTGTCTCACCATCCCAGTCTGGGTGGTCACTCTCGTGCAGCACAACCAGTGG  
 CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT  
 TCAGCGGCATTTTCTTCCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC  
 TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCTGTCTGC  
 ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA  
 GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCTTCTACCCCGAG  
 CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT  
 TTGCCGTTCCCTTCTCCATTATCGCTGTCTTCTACTTCTGCTGGCCAGAGCCATC  
 TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC  
 GTGGTGGTCTTCTTGTCTGCTGGCTGCCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACA  
 TCTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTCACCTGCCGGCTGGAGCAGCCCTCTTC  
 ACGGCCCTGCATGTCACACAGTGCCTGTGCTGGTGCCTGCTGCGTCAACCCTG  
 TCCTCTACAGCTTCATCAATCGCAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCTTCAT  
 CTTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTG  
 TCGGAGACGGAGTACTCCGCCTTGGAGCAAAAACGCCAAGTGA

SEC ID nº 4: secuencia de aminoácidos de CCX-CKR2.2

5

MDLHLFDYAEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDVVMCPNMPNKSULLYTLFSFIYIFVIGM  
 IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIDLWVVLTPVWVWVSLVQHNQWPMGEL  
 TCKVTHLIFSINLFSGIFFLTCMSVDRYLSITYFTNTPSSRKKMVRVVCILVWLLAFC  
 VSLPDTYYLKTVTSASNNETYCRSFYPEHSIKEWLIGMELVSVVLGFAVPFSIIAVFYF  
 LLARASASSDQEKHSSRKIIFSYYVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHAL  
 FTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFINRNYRYELMKAFIFKYSAKTGLTKLIDASRVSE  
 TEYSALEQNAK

SEC ID nº 5: secuencia codificante de CCX-CKR2.3

ATGGATCTGCATCTCTTCGACTACTCAGAGCCAGGGAAGTCTCGGACATCAGCT  
 GGCCATGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA  
 TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC  
 GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA  
 CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACCTGGCCATTGCCGACCTGTG  
 GGTGTCTCACCATCCCAGTCTGGGTGGTCACTCTCGTGCAGCACAACCAGTGG  
 CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT  
 TCGGCAGCATTTTCTTCCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC  
 TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCTGTCTGC  
 ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA  
 GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCTTCTACCCCGAG  
 CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT  
 TTGCCGTTCCCTTCTCCATTGTGCTGTCTTCTACTTCTGCTGGCCAGAGCCATC  
 TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC  
 GTGGTGGTCTTCTTGTCTGCTGGTGGCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACAT  
 CTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTCACCTGCCGGCTGGAGCAGCCCTCTTCA  
 CGGCCCTGCATGTCACACAGTGCCTGTGCTGGTGCCTGCTGCGTCAACCCTGT  
 CCTCTACAGCTTCATCAATCGCAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCTTCATC  
 TTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTCT  
 CAGAGACGGAGTACTCTGCCTTGGAGCAGAGCACCAAATGA

10

SEC ID nº 6: secuencia de aminoácidos de CCX-CKR2.3

MDLHLFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPNKSULLYTLFSFIYIFIVIGM  
 IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIDLWVVLTPVWVVSLSVQHNQWPMGEL  
 TCKVTHLIFSINLFGSIFFLTCMSVDRYLSITYFTNTPSSRKKMVRVVCILVWLLAFC  
 VSLPDTYYLKTIVTSASNNETYCRSFYPEHSIKEWLIGMELSVVVLGFAVPFSIVAVFY  
 FLLARASASSDQEKHSSRKIIFS YVVVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHA  
 LFTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFINRNYRYELMKAFIFKYS AKTGLTKLIDASRV S  
 ETEYSALEQSTK

SEC ID nº 7: secuencia codificante de CCX-CKR2.4

5

ATGGATCTGCATCTCTTCGACTACTCAGAGCCAGGGA ACTTCTCGGACATCAGCT  
 GGCCATGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA  
 TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC  
 GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA  
 CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACCTGGCCATTGCCGACCTGTG  
 GGTGTCTCCTACCATCCCAGTCTGGGTGGTCAGTCTCGTGCAGCACAACCAGTGG  
 CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT  
 TCGGCAGCATTTTCTTCTCCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC  
 TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCGTCTGC  
 ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA  
 GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCTTCTACCCCCGAG  
 CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT  
 TTGCCGTTCCCTTCTCCATTATCGTGTCTTCTACTTCTGCTGGCCAGAGCCATC  
 TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC  
 GTGGTGGTCTTCTTGTCTGCTGGCTGCCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACA  
 TCTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTCACCTGCCGGCTGGAGCACGCCCTCTTC  
 ACGGCCCTGCATGTACACAGTGCCTGTGCTGGTGCCTGCTGCGTCAACCCTG  
 TCCTCTACAGCTTCATCAATCGCAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCCTCAT  
 CTTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTCACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTC  
 TCAGAGACGGAGTACTCTGCCTTGGAGCAGAGCACCAAATGA

SEC ID nº 8: secuencia de aminoácidos de CCX-CKR2.4

10

MDLHLFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDTVMCPNMPNKSULLYTLFSFIYIFIVIGM  
 IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIDLWVVLTPVWVVSLSVQHNQWPMGEL  
 TCKVTHLIFSINLFGSIFFLTCMSVDRYLSITYFTNTPSSRKKMVRVVCILVWLLAFC  
 VSLPDTYYLKTIVTSASNNETYCRSFYPEHSIKEWLIGMELSVVVLGFAVPFSIIVFYF  
 LLARASASSDQEKHSSRKIIFS YVVVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHAL  
 FTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFINRNYRYELMKAFIFKYS AKTGLTKLIDASRVSE  
 TEYSALEQSTK

SEC ID nº 9: secuencia codificante de CCX-CKR2.5

ATGGATCTGCATCTCTTCGACTACTCAGAGCCAGGGA ACTTCTCGGACATCAGCT  
 GGCCGTGCAACAGCAGCGACTGCATCGTGGTGGACACGGTGATGTGTCCCAACA  
 TGCCCAACAAAAGCGTCCTGCTCTACACGCTCTCCTTCATTTACATTTTCATCTTC  
 GTCATCGGCATGATTGCCAACTCCGTGGTGGTCTGGGTGAATATCCAGGCCAAGA  
 CCACAGGCTATGACACGCACTGCTACATCTTGAACCTGGCCATTGCCGACCTGTG  
 GGTGTCTCCTACCATCCCAGTCTGGGTGGTCAGTCTCGTGCAGCACAACCAGTGG  
 CCCATGGGCGAGCTCACGTGCAAAGTCACACACCTCATCTTCTCCATCAACCTCT  
 TCAGCAGCATTTTCTTCTCCTCACGTGCATGAGCGTGGACCGCTACCTCTCCATCACC  
 TACTTCACCAACACCCCCAGCAGCAGGAAGAAGATGGTACGCCGTGTCGTCTGC  
 ATCCTGGTGTGGCTGCTGGCCTTCTGCGTGTCTCTGCCTGACACCTACTACCTGAA  
 GACCGTCACGTCTGCGTCCAACAATGAGACCTACTGCCGGTCTTCTACCCCCGAG  
 CACAGCATCAAGGAGTGGCTGATCGGCATGGAGCTGGTCTCCGTTGTCTTGGGCT

TTGCCGTTCCCTTCTCCATTATCGCTGTCTTCTACTTCCTGCTGGCCAGAGCCATC  
 TCGGCGTCCAGTGACCAGGAGAAGCACAGCAGCCGGAAGATCATCTTCTCCTAC  
 GTGGTGGTCTTCTTGTCTGCTGGTTGCCCTACCACGTGGCGGTGCTGCTGGACAT  
 CTTCTCCATCCTGCACTACATCCCTTTCACCTGCCGGCTGGAGCACGCCCTCTTCA  
 CGGCCCTGCATGTCACACAGTGCCTGTGCTGGTGCCTGCTGCGTCAACCCTGT  
 CCTCTACAGCTTCATCAATCGCAACTACAGGTACGAGCTGATGAAGGCCTTCATC  
 TTCAAGTACTCGGCCAAAACAGGGCTCACCAAGCTCATCGATGCCTCCAGAGTCT  
 CAGAGACGGAGTACTCCGCCTTGGAGCAGAGCACCAAATGA

SEC ID nº 10: secuencia de aminoácidos de CCX-CKR2.5

MDLHLFDYSEPGNFSDISWPCNSSDCIVVDVVMCPNMPNKSULLYTLSEFYIFIVIGM  
 IANSVVVWVNIQAKTTGYDTHCYILNLAIDLWVVLTPVWVVSLLVQHNQWPMGEL  
 TCKVTHLIFSINLFSIFLTCMSVDRYLSITYFTNTPSSRKKMVRVVCILVWLLAFC  
 VSLPDTYYLKTVTSASNNETYCRSFYPEHSIKEWLIGMELVSVVLGFAVPFSIIAVFYF  
 LLARASASSDQEKHSSRKIIFSYYVFLVCWLPYHVAVLLDIFSILHYIPFTCRLEHAL  
 FTALHVTQCLSLVHCCVNPVLYSFINRNYRYELMKAFIFKYSAKTGLTKLIDASRVSE  
 TEYSALEQSTK

5

SEC ID nº 11: secuencia de ADN de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 6E10

ATGTACTIONGGACTGAGCTGTGTATTGTTTTTCTCTTAAAAGGTGTCAGTG  
 TGAGGTGAAGCTGGATGAGACTGGAGGAGGCTTGGTGCAACCTGGGAGGCCCAT  
 GAACTCTCCTGTGTTGCCTCTGGATTCACTTTTAGTGACTACTGGATGAACTGG  
 GTCCGCCAGTCTCCAGAAAAAGGACTGGAGTGGGTAGGACAAATTAGAAACAAA  
 CCTTATAATTATGAAACATATTATTCAGATTCTGTGAAAGGCAGATTCACCATCT  
 CAAGAGATGATTCCAAAAGTAGTGTCTACCTGCAAATGAACAACCTTAAGAAGCTG  
 AAGACACGGGTACTACTACTGTACATCCTTACGTTACTGGGGCCAAGGAACTCT  
 GGTCACTGTCTCTGCAGCCAAAACGACACCCCCATCCGTGTATCCTGTGGCCCCCT  
 GGAAGCTTGGG

10

SEC ID nº 12: secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 6E10

MYLGLSCVFIVFLKGVQCEVKLDETGGGLVQPGRPMKLSVAVSGFTFSDYWMNW  
 VRQSPEKGLEWVGQIRNKPYNYETYSDSVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNLRTEDT  
 GIYYCTSLRYWGGTLVTVSAAKTTPPSVYPVAPGSL

15

SEC ID nº 13: secuencia de ADN de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 6E10

ATGGTCCTCATGTCCTTGTCTGTTCTGGGTATCTGGTACCTGTGGGGACATTGTGAT  
 GACACAGTCTCCATCCTCCCTGACTGTGACAGCAGGAGAGAAGGTCACTATGAG  
 CTGCAAGTCCAGTCACAGTCTGTTAAACAGTGGAATTCAAAAGAACTTCTTGACC  
 TGGTATCAACAGAAACCAGGGCAGCCTCCTAAAGTATTGATCTACTGGGCATTCA  
 CTAGGGAATCTGGGGTCCCTGAACGCTTACAGGCAGTGGATCTGGAACAGATT  
 CACTCTACCATCAGTAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTCAG  
 AGTGATTATACTTATCCATTCACGTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAAC  
 GGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTAAGCTTGGGG

20

SEC ID nº 14: secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 6E10

MVLMSELLFWVSGTCGDIVMTQSPSSLVTAGEKVTMSCKSSHLLNSGIQKNFLTW  
 YQQKPGQPPKVLIIYWAFTRESGVPERFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQSDY  
 TYPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSKLG

SEC ID nº 15: secuencia de ADN de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G8

ATGGAGTTGGGGTTAAACTGGGTTTTCTTGTCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTG  
 TGAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTCCAGCCTGGAGGGTCCCT  
 GAAACTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCACTTTCAGTGACTATTACATGTTTTGGG  
 TTCGCCAGACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCATACATTACTAATGGGG  
 GTGATAGAAGTTATTATTTCAGACACTGTAACGGGCGGATTTCATCATCTCCAGAGA  
 CAATGCCAAGAACACCCCTGTATCTGCAAATGAGCCGTCTGAAGTCTGAGGACAC  
 AGCCATGTATTACTGTGCAAGACAAGGGAAGTGGGCCGCTGGTTTGTATTGG  
 GGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTTTCTGCAGCCAAAACGACACCCCCATCCGTTT  
 ATCCCTTGGCCCCTGGAAGCTTGG

SEC ID nº 16: secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 11G8

MELGLNWVFLVFLVKGVQCEVKLVESGGDLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMFW  
 VRQTPEKRLEWVAYITNGGDRSYYSDTVTRFIIRDNAKNTLYLQMSRLKSEDTAM  
 YYCARQGNWAAWFVYWGQGLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSL

5

SEC ID nº 17: secuencia de ADN de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G8

ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCTCCTGCCACCAG  
 TGATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAA  
 GCCTCCATCTCTGTCAGATCTAGTCACTATATTGTACATAGTGACGGAAACACCT  
 ATTTAGAGTGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAA  
 AGTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGG  
 ACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAATTTAT  
 TACTGCTTCAAGGTTACATGTTCCGCTCACGTTCCGGTCTGGGACCAAGCTGG  
 AGCTGAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTAA  
 GCTTGGG

10

SEC ID nº 18: secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera del anticuerpo 11G8

MKLPVRLVLMFWIPASTSDVLMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSHVIVHSDGNTYLE  
 WYLQKPGQSPKLLIYKVS NRFSGV PDRFSGSGS GTFDLKISRVEAEDLGIYYCFQGS  
 HVPLTFGAGTKLELKRADAAPT VSI FPPSSKLG

15 **Listado de secuencias**

<110> Howard, Maureen  
 Schall, Thomas  
 ChemoCentryx, Inc.

20

<120> Reactivos que se unen a CCX-CKR2

<130> 019934-005610PC

25 <140> Todavía no asignado  
 <141> Todavía no asignado

<150> US 60/674.140  
 <151> 2005-04-21

30

<160> 23

<170> PatentIn Ver. 2.1

35 <210> 1  
 <211> 1089  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens

40 <220>  
 <223> ADNc de receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2 (RDC1)

<400> 1

ES 2 434 852 T3

```

atggatctgc atctcttcga ctactcagag ccaggggaact tctcggacat cagctggcca 60
tgcaacagca gcgactgcat cgtgggtggac acggtgatgt gtcccaacat gcccaacaaa 120
agcgtcctgc tctacacgct ctcttcatt tacatthtca tcttcgtcat cggcatgatt 180
gccaactceg tggtaggtctg ggtgaatctc caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
tgctacatct tgaacctggc cattgccgac ctgtgggttg tcctcacat cccagtctgg 300
gtggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggcg agctcacgtg caaagtcaaa 360
cacctcatct tctccatcaa cctcttcggc agcatthtct tcctcacgtg catgagcgtg 420
gaccgctacc tctccatcac ctacttcacc aacaccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
cgccgtgtcg tctgcatcct ggtgtggctg ctggccttct gcgtgtctct gcctgacacc 540
tactacctga agaccgtcac gtctgcgtcc aacaatgaga cctactgccg gtccttctac 600
cccgagcaca gcatcaagga gtggctgatc ggcattggagc tggctctcgt tgtcttgggc 660
tttgccgttc cttctccat tatcgctgtc ttctacttcc tgcaggccag agccatctcg 720
gcgtccagtg accaggagaa gcacagcagc cggaagatca tcttctccta cgtgggtggc 780
ttccttgtct gctggctgcc ctaccacgtg gcggtgctgc tggacatctt ctccatcctg 840
cactacatcc ctttcacctg ccggctggag cacgccctct tcacggccct gcatgtcaca 900
cagtgcctgt cgctggtgca ctgctgcgtc aaccctgtcc tctacagctt catcaatcgc 960
aactacaggt acgagctgat gaaggccttc atcttcaagt actcggccaa aacagggctc 1020
accaagctca tcgatgcctc cagagtctca gagacggagt actctgcctt ggagcagagc 1080
accaaata 1089

```

- <210> 2
- 5 <211> 362
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
  
- <220>
- 10 <223> receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2

ES 2 434 852 T3

Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ser Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp  
 1 5 10 15

Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val  
 20 25 30

Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser  
 35 40 45

Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val  
 50 55 60

Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His  
 65 70 75 80

Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr  
 85 90 95

Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met  
 100 105 110

Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu  
 115 120 125

Phe Gly Ser Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu  
 130 135 140

Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val  
 145 150 155 160

Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser  
 165 170 175

Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn  
 180 185 190

Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp  
 195 200 205

Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro  
 210 215 220

Phe Ser Ile Ile Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser  
 225 230 235 240

Ala Ser Ser Asp Gln Glu Lys His Ser Ser Arg Lys Ile Ile Phe Ser  
 245 250 255

Tyr Val Val Val Phe Leu Val Cys Trp Leu Pro Tyr His Val Ala Val  
 260 265 270

Leu Leu Asp Ile Phe Ser Ile Leu His Tyr Ile Pro Phe Thr Cys Arg  
 275 280 285

Leu Glu His Ala Leu Phe Thr Ala Leu His Val Thr Gln Cys Leu Ser  
 290 295 300

Leu Val His Cys Cys Val Asn Pro Val Leu Tyr Ser Phe Ile Asn Arg  
 305 310 315 320

Asn Tyr Arg Tyr Glu Leu Met Lys Ala Phe Ile Phe Lys Tyr Ser Ala  
 325 330 335

Lys Thr Gly Leu Thr Lys Leu Ile Asp Ala Ser Arg Val Ser Glu Thr  
 340 345 350

Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Gln Ser Thr Lys  
 355 360

<210> 3  
 <211> 1089  
 <212> ADN

5

ES 2 434 852 T3

<213> Homo sapiens

<220>

<223> secuencia codificante de receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2.2

5

<400> 3

```

atggatctgc acctcttcga ctacgccgag ccaggcaact tctcggacat cagctggcca 60
tgcaacagca gcgactgcat cgtgggtggac acgggtgatgt gtcccaacat gccaacaaca 120
agcgctctgc tctacacgct ctctctcatt tacattttca tcttcgcat cggcatgatt 180
gccaactccg tgggtggtctg ggtgaatata caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
tgctacatct tgaacctggc cattgccgac ctgtgggttg tcctcaccat cccagtctgg 300
gtggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggcg agctcacgtg caaagtca 360
cacctcatct tctccatcaa cctcttcagc ggcattttct tcctcacgtg catgagcgtg 420
gaccgtaacc tctccatcac ctacttcacc aacaccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
cgccgtgctg tctgcatect ggtgtggctg ctggcettct gcgtgtctct gcctgacacc 540
tactacctga agaccgtcac gtctgcgtcc aacaatgaga cctactgccg gtccttctac 600
cccagcaca gcatcaagga gtggctgatc ggcattggagc tggctctcgt tgtcttgggc 660
tttgcggttc ccttctccat tatcgctgtc ttctacttcc tgctggccag agccatctcg 720
gctccagtg accaggagaa gcacagcagc cggaagatca tcttctccta cgtggtggtc 780
ttccttgtct gctggctgcc ctaccacgtg gcgggtgctg tggacatctt ctccatcctg 840
cactacatcc ctttcacctg ccggctggag cacgccctct tcacggccct gcatgtcaca 900
cagtgctctg cgctgggtgca ctgctgcgtc aaccctgtcc tctacagctt catcaatcgc 960
aactacaggt acgagctgat gaaggccttc atcttcaagt actcggccaa aacagggtctc 1020
accaagctca tcgatgcctc cagagtgtcg gagacggagt actccgcctt ggagcaaac 1080
gccaagtga                                     1089
    
```

10 <210> 4

<211> 362

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <220>

<223> receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2.2

<400> 4

```

Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ala Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp
  1             5             10             15

Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val
          20             25             30

Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser
          35             40             45

Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val
  50             55             60
    
```

20

ES 2 434 852 T3

Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His  
65 70 75 80

Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr  
85 90 95

Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met  
100 105 110

Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu  
115 120 125

Phe Ser Gly Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu  
130 135 140

Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val  
145 150 155 160

Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser  
165 170 175

Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn  
180 185 190

Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp  
195 200 205

Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro  
210 215 220

Phe Ser Ile Ile Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser  
225 230 235 240

Ala Ser Ser Asp Gln Glu Lys His Ser Ser Arg Lys Ile Ile Phe Ser  
245 250 255

Tyr Val Val Val Phe Leu Val Cys Trp Leu Pro Tyr His Val Ala Val  
260 265 270

Leu Leu Asp Ile Phe Ser Ile Leu His Tyr Ile Pro Phe Thr Cys Arg  
275 280 285

Leu Glu His Ala Leu Phe Thr Ala Leu His Val Thr Gln Cys Leu Ser  
290 295 300

Leu Val His Cys Cys Val Asn Pro Val Leu Tyr Ser Phe Ile Asn Arg  
305 310 315 320

Asn Tyr Arg Tyr Glu Leu Met Lys Ala Phe Ile Phe Lys Tyr Ser Ala  
325 330 335

Lys Thr Gly Leu Thr Lys Leu Ile Asp Ala Ser Arg Val Ser Glu Thr  
340 345 350

Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Gln Asn Ala Lys  
355 360

<210> 5  
<211> 1089  
5 <212> ADN  
<213> Homo sapiens

<220>  
<223> secuencia codificante de receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2.3

10 <400> 5

ES 2 434 852 T3

```

atggatctgc atctcttcga ctactcagag ccagggaaact tctcggacat cagctggcca 60
tgcaacagca gcgactgcat cgtgggtggac acgggtgatgt gtccaacat gcccaacaaa 120
agcgtcctgc tctacacgct ctcttcatt tacattttca tcttcgcat cggcatgatt 180
gccaaactcgg tggtggctctg ggtgaatata caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
tgctacatct tgaacctggc cattgccgac ctgtgggttg tcctcaccat cccagtctgg 300
gtggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggcg agctcacgtg caaagtcaca 360
cacctcatct tctccatcaa cctcttcggc agcattttct tcctcacgtg catgagcgtg 420
gaccgctacc tctccatcac ctacttcacc aacaccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
cgccgtgctg tctgcatcct ggtgtggctg ctggccttct gcgtgtotct gcctgacacc 540
tactacctga agaccgtcac gtctgcgtcc aacaatgaga cctactgccg gtccttctac 600
cccgagcaca gcatcaagga gtggctgac ggcatggagc tggctccgt tgtcttgggc 660
tttgccgttc ccttctccat tgtcgtctgc ttctacttcc tgctggccag agccatctcg 720
gcgtccagtg accaggagaa gcacagcagc cggaagatca tcttctccta cgtgggtggtc 780
ttccttgtct gctgggttgc ctaccacgtg gcggtgctgc tggacatctt ctccatcctg 840
cactacatcc ctttcacctg ccggctggag cagccctct tcacggcctt gcatgtcaca 900
cagtgctgtg cgctggtgca ctgctgcgtc aaccctgtcc tctacagctt catcaatcgc 960
aactacaggt acgagctgat gaaggccttc atcttcaagt actcggccaa aacagggctc 1020
accaagctca tcgatgcctc cagagtctca gagacggagt actctgcctt ggagcagagc 1080
accaaatga
1089

```

<210> 6

<211> 362

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2.3

10

<400> 6

```

Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ser Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp
  1           5           10           15

Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val
           20           25           30

Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser
           35           40           45

Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val
           50           55           60

Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His
           65           70           75           80

Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr
           85           90           95

Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met
           100          105          110

```

ES 2 434 852 T3

Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu  
 115 120 125

Phe Gly Ser Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu  
 130 135 140

Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val  
 145 150 155 160

Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser  
 165 170 175

Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn  
 180 185 190

Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp  
 195 200 205

Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro  
 210 215 220

Phe Ser Ile Val Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser  
 225 230 235 240

Ala Ser Ser Asp Gln Glu Lys His Ser Ser Arg Lys Ile Ile Phe Ser  
 245 250 255

Tyr Val Val Val Phe Leu Val Cys Trp Leu Pro Tyr His Val Ala Val  
 260 265 270

Leu Leu Asp Ile Phe Ser Ile Leu His Tyr Ile Pro Phe Thr Cys Arg  
 275 280 285

Leu Glu His Ala Leu Phe Thr Ala Leu His Val Thr Gln Cys Leu Ser  
 290 295 300

Leu Val His Cys Cys Val Asn Pro Val Leu Tyr Ser Phe Ile Asn Arg  
 305 310 315 320

Asn Tyr Arg Tyr Glu Leu Met Lys Ala Phe Ile Phe Lys Tyr Ser Ala  
 325 330 335

Lys Thr Gly Leu Thr Lys Leu Ile Asp Ala Ser Arg Val Ser Glu Thr  
 340 345 350

Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Gln Ser Thr Lys  
 355 360

<210> 7  
 <211> 1089  
 <212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> secuencia codificante de receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2.4

10 <400> 7

atggatctgc atctcttoga ctactcagag ccaggggaact tctcggacat cagctggcca 60  
 tgcaacagca gcgactgcat cgtgggtggac acggtgatgt gtccaacat gcccaacaaa 120

ES 2 434 852 T3

```

agcgtcctgc tctacacgct ctccttcatt tacattttca tcttcgtcat cggcatgatt 180
gccaactccg tgggtggtctg ggtgaataac caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
tgctacatct tgaacctggc cattgccgac ctgtgggttg tcctcaccat cccagtctgg 300
gtggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggcg agctcacgtg caaagtcaaca 360
cacctcatct tctccatcaa cctcttcggc agcattttct tcctcacgtg catgagcgtg 420
gaccgctacc tctccatcac ctacttcacc aacaccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
cgccgtgtcg tetgcatcct ggtgtggctg ctggccttct gcgtgtctct gcctgacacc 540
tactacctga agaccgtcac gtctgcgtcc aacaatgaga cctactgccg gtccttctac 600
cccagacaca gcatcaagga gtggctgatc ggcattggagc tggctcctcg tgccttgggc 660
tttgccgttc ccttctccat tatcgctgtc ttctacttcc tgctggccag agccatctcg 720
gcgtccagtg accaggagaa gcacagcagc cggaagatca tcttctccta cgtgggtggtc 780
ttccttgtct gctgggtgcc ctaccacgtg gcgggtgctg tggacatctt ctccatcctg 840
cactacatcc ctttcacctg ccggctggag cagccctctc tcacggccct gcatgtcaca 900
cagtgcctgt cgctgggtgca ctgctgcgtc aaccctgtcc tctacagctt catcaatcgc 960
aactacaggt acgagctgat gaaggccttc atcttcaagt actcggccaa aacagggttc 1020
accaagctca tcgatgcctc cagagtctca gagacggagt actctgcctt ggagcagagc 1080
accaaatga

```

<210> 8

<211> 362

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2.4

10

<400> 8

```

Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ser Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp
  1           5           10           15
Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val
           20           25           30
Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser
           35           40           45
Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val
  50           55           60
Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His
  65           70           75           80
Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr
           85           90           95
Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met
           100          105          110
Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu
           115          120          125
Phe Gly Ser Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu
           130          135          140
Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val
           145          150          155          160
Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser
           165          170          175

```

ES 2 434 852 T3

Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn  
 180 185 190  
 Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp  
 195 200 205  
 Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro  
 210 215 220  
 Phe Ser Ile Ile Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser  
 225 230 235 240  
 Ala Ser Ser Asp Gln Glu Lys His Ser Ser Arg Lys Ile Ile Phe Ser  
 245 250 255  
 Tyr Val Val Val Phe Leu Val Cys Trp Leu Pro Tyr His Val Ala Val  
 260 265 270  
 Leu Leu Asp Ile Phe Ser Ile Leu His Tyr Ile Pro Phe Thr Cys Arg  
 275 280 285  
 Leu Glu His Ala Leu Phe Thr Ala Leu His Val Thr Gln Cys Leu Ser  
 290 295 300  
 Leu Val His Cys Cys Val Asn Pro Val Leu Tyr Ser Phe Ile Asn Arg  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Arg Tyr Glu Leu Met Lys Ala Phe Ile Phe Lys Tyr Ser Ala  
 325 330 335  
 Lys Thr Gly Leu Thr Lys Leu Ile Asp Ala Ser Arg Val Ser Glu Thr  
 340 345 350  
 Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Gln Ser Thr Lys  
 355 360

<210> 9

<211> 1089

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<220>

<223> secuencia codificante de receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2.5

10 <400> 9

```

atggatctgc atctcttcga ctactcagag ccaggggaact tctcggacat cagctggccg 60
tgcaacagca gcgactgcat cgtggtggac acggtgatgt gtcccaacat gcccaacaaa 120
agcgtcctgc tctacacgct ctctctcatt tacatcttca tcttcgctcat cggcatgatt 180
gcoaactccg tgggtggtctg ggtgaatata caggccaaga ccacaggcta tgacacgcac 240
tgctacatct tgaacctggc cattgcccac ctgtgggttg tcttcacat cccagtctgg 300
gtggtcagtc tcgtgcagca caaccagtgg cccatgggag agctcacgtg caaagtcaca 360
cacctcatct tctccatcaa cctcttcagc agcattttct tcttcacgtg catgagcgtg 420
gaccgctacc tctccatcac ctacttcacc aacaccccca gcagcaggaa gaagatggta 480
cgccgtgctg tctgcatcct ggtgtggctg ctggccttct cgtgtctct gcttgacacc 540
tactacctga agaccgtcac gtctgctgcc aacaatgaga cctactgccg gtccttctac 600
cccagacaca gcatcaagga gtggctgate ggcatggage tggctcctgt tgtcttgggc 660
tttgccgctc ccttctccat tatcgtgtgc ttctacttcc tgctggccag agccatctcg 720
gctgccagtg accaggagaa gcacagcagc cggagatca tcttctccta cgtgggtggc 780
ttccttgtct gctgggtgcc ctaccacgtg cgggtgctgc tggacatctt ctccatcctg 840
cactacatcc ctttcacctg ccggctggag cagccctct tcacggcctt gcatgtcaca 900
cagtgcctgt cgctgggtgca ctgctgcgtc aacctgtcc tctacagctt catcaatcgc 960
aactacaggt acgagctgat gaaggcctc atcttcaagt actcggccaa aacagggtc 1020
accaagctca tcgatgcctc cagagtctca gagacggagt actccgcctt ggagcagagc 1080
accaaatga 1089
    
```

15 <210> 10

<211> 362

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 434 852 T3

<220>

<223> receptor acoplado a proteína G (GPCR) CCX-CKR2.5

5 <400> 10

```

Met Asp Leu His Leu Phe Asp Tyr Ser Glu Pro Gly Asn Phe Ser Asp
 1          5          10          15
Ile Ser Trp Pro Cys Asn Ser Ser Asp Cys Ile Val Val Asp Thr Val
          20          25          30
Met Cys Pro Asn Met Pro Asn Lys Ser Val Leu Leu Tyr Thr Leu Ser
          35          40          45
Phe Ile Tyr Ile Phe Ile Phe Val Ile Gly Met Ile Ala Asn Ser Val
          50          55          60
Val Val Trp Val Asn Ile Gln Ala Lys Thr Thr Gly Tyr Asp Thr His
          65          70          75          80
Cys Tyr Ile Leu Asn Leu Ala Ile Ala Asp Leu Trp Val Val Leu Thr
          85          90          95
Ile Pro Val Trp Val Val Ser Leu Val Gln His Asn Gln Trp Pro Met
          100          105          110
Gly Glu Leu Thr Cys Lys Val Thr His Leu Ile Phe Ser Ile Asn Leu
          115          120          125
Phe Ser Ser Ile Phe Phe Leu Thr Cys Met Ser Val Asp Arg Tyr Leu
          130          135          140
Ser Ile Thr Tyr Phe Thr Asn Thr Pro Ser Ser Arg Lys Lys Met Val
          145          150          155          160
Arg Arg Val Val Cys Ile Leu Val Trp Leu Leu Ala Phe Cys Val Ser
          165          170          175
Leu Pro Asp Thr Tyr Tyr Leu Lys Thr Val Thr Ser Ala Ser Asn Asn
          180          185          190
Glu Thr Tyr Cys Arg Ser Phe Tyr Pro Glu His Ser Ile Lys Glu Trp
          195          200          205
Leu Ile Gly Met Glu Leu Val Ser Val Val Leu Gly Phe Ala Val Pro
          210          215          220
Phe Ser Ile Ile Ala Val Phe Tyr Phe Leu Leu Ala Arg Ala Ile Ser
          225          230          235          240
Ala Ser Ser Asp Gln Glu Lys His Ser Ser Arg Lys Ile Ile Phe Ser
          245          250          255
Tyr Val Val Val Phe Leu Val Cys Trp Leu Pro Tyr His Val Ala Val
          260          265          270
Leu Leu Asp Ile Phe Ser Ile Leu His Tyr Ile Pro Phe Thr Cys Arg
          275          280          285
Leu Glu His Ala Leu Phe Thr Ala Leu His Val Thr Gln Cys Leu Ser
          290          295          300
Leu Val His Cys Cys Val Asn Pro Val Leu Tyr Ser Phe Ile Asn Arg
          305          310          315          320
Asn Tyr Arg Tyr Glu Leu Met Lys Ala Phe Ile Phe Lys Tyr Ser Ala
          325          330          335
Lys Thr Gly Leu Thr Lys Leu Ile Asp Ala Ser Arg Val Ser Glu Thr
          340          345          350
Glu Tyr Ser Ala Leu Glu Gln Ser Thr Lys
          355          360

```

ES 2 434 852 T3

<210> 11  
 <211> 449  
 <212> ADN  
 5 <213> Mus sp.

<220>  
 <223> región variable de cadena pesada de anticuerpo monoclonal 6E10 de ratón

10 <400> 11

```

atgtacttgg gactgagctg tgtattcatt gtttttctct taaaagggtg ccagtgtgag 60
gtgaagctgg atgagactgg aggaggcttg gtgcaacctg ggaggcccat gaaactctcc 120
tgtgttgctt ctggattcac ttttagtgac tactggatga actgggtccg ccagtctcca 180
gaaaaaggac tggagtgggt aggacaaatt agaaacaaac cttataatta tgaacatat 240
tattcagatt ctgtgaaagg cagattcacc atctcaagag atgattccaa aagtagtgtc 300
tacctgcaa tgaacaactt aagaactgaa gacacgggta tctactactg tacatcctta 360
cgttactggg gccaaggaac tctggtcact gtctctgcag ccaaaacgac acccccatcc 420
gtgtatcctg tggcccctgg aagcttggg 449
    
```

15 <210> 12  
 <211> 149  
 <212> PRT  
 <213> Mus sp.

20 <220>  
 <223> región variable de cadena pesada de anticuerpo monoclonal 6E10 de ratón

<400> 12

```

Met Tyr Leu Gly Leu Ser Cys Val Phe Ile Val Phe Leu Leu Lys Gly
  1           5           10           15
Val Gln Cys Glu Val Lys Leu Asp Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln
          20           25           30
Pro Gly Arg Pro Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe
          35           40           45
Ser Asp Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu
  50           55           60
Glu Trp Val Gly Gln Ile Arg Asn Lys Pro Tyr Asn Tyr Glu Thr Tyr
  65           70           75           80
Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
          85           90           95
Lys Ser Ser Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr
          100          105          110
Gly Ile Tyr Tyr Cys Thr Ser Leu Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
          115          120          125
Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Val
          130          135          140
Ala Pro Gly Ser Leu
145
    
```

25 <210> 13  
 <211> 439  
 <212> ADN  
 30 <213> Mus sp.

<220>  
 <223> región variable de cadena ligera de anticuerpo monoclonal 6E10 de ratón

35 <400> 13

ES 2 434 852 T3

```

atggctctca tgtccttctt gttctgggta tctgggtacct gtggggacat tgtgatgaca 60
cagtctccat cctccctgac tgtgacagca ggagagaagg tcactatgag ctgcaagtcc 120
agtcacagtc tgttaaacag tgggaattcaa aagaacttct tgacctggta tcaacagaaa 180
ccagggcagc ctcttaaagt attgatctac tgggcattca ctagggaaac tggggctcct 240
gaacgettca caggcagtgg atctggaaca gatttcactc tcaccatcag tagtgtgcag 300
gctgaagacc tggcagttta ttactgtcag agtgattata cttatccatt cacgttcggc 360
tcggggacaa agttggaat aaaacgggct gatgctgcac caactgtatc catcttccca 420
ccatccagta agcttggggg                                     439

```

- 5 <210> 14
- <211> 146
- <212> PRT
- <213> Mus sp.

- 10 <220>
- <223> región variable de cadena ligera de anticuerpo monoclonal 6E10 de ratón

<400> 14

```

Met Val Leu Met Ser Leu Leu Phe Trp Val Ser Gly Thr Cys Gly Asp
 1           5           10           15

Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly Glu
           20           25           30

Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser His Ser Leu Leu Asn Ser Gly
           35           40           45

Ile Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro
 50           55           60

Pro Lys Val Leu Ile Tyr Trp Ala Phe Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro
 65           70           75           80

Glu Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
           85           90           95

Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Ser Asp
           100          105          110

Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
           115          120          125

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Lys
           130          135          140

Leu Gly
145

```

- 15 <210> 15
- <211> 463
- <212> ADN
- 20 <213> Mus sp.

- <220>
- <223> región variable de cadena pesada de anticuerpo monoclonal 11G8 de ratón

25 <400> 15

```

atggagttgg ggtaaactg ggttttcctt gtccttgttt taaaaggtgt ccagtgtgaa 60
gtgaagctgg tggagtctgg gggagacttg gtccagcctg gagggctcct gaaactctcc 120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt tttgggttcg ccagactcca 180
gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt actaatgggg gtgatagaag ttattattca 240
gacactgtaa cgggcccatt catcatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtatctg 300
caaatgagcc gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acaagggaaac 360
tgggcccctt ggtttgttta ttggggccaa gggactctgg tcaactgtttc tgcagccaaa 420
acgacacccc catccgttta tcccttggcc cctggaagct tgg                                     463

```

ES 2 434 852 T3

<210> 16  
 <211> 154  
 <212> PRT  
 <213> Mus sp.

5

<220>  
 <223> región variable de cadena pesada de anticuerpo monoclonal 11G8 de ratón

<400> 16

10

```

Met Glu Leu Gly Leu Asn Trp Val Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
  1           5           10           15

Val Gln Cys Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln
      20           25           30
Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe
      35           40           45

Ser Asp Tyr Tyr Met Phe Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
      50           55           60

Glu Trp Val Ala Tyr Ile Thr Asn Gly Gly Asp Arg Ser Tyr Tyr Ser
      65           70           75           80

Asp Thr Val Thr Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
      85           90           95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Arg Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
      100          105          110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Gly Asn Trp Ala Ala Trp Phe Val Tyr Trp
      115          120          125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro
      130          135          140

Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Leu
145          150
    
```

<210> 17  
 <211> 447  
 <212> ADN  
 <213> Mus sp.

15

<220>  
 <223> región variable de cadena ligera de anticuerpo monoclonal 11G8 de ratón

<400> 17

25

```

atgaagtgc ctgtaggct gttggtgctg atgttctgga ttctgcttc caccagtgat 60
gttttgatga cccaaactcc actctocctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc 120
tcttgcatat ctagtacta tattgtacat agtgacggaa acacctattt agagtggtag 180
ctgcagaaac caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240
ggggtcccag acaggttcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc 300
agagtggagg ctgaggatct gggaaattat tactgctttc aaggttcaca tgttccgctc 360
acgttcggtg ctgggaccaa gctggagctg aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc 420
atcttccac catccagtaa gcttggg          447
    
```

<210> 18  
 <211> 149  
 <212> PRT  
 <213> Mus sp.

30

<220>  
 <223> región variable de cadena ligera de anticuerpo monoclonal 11G8 de ratón

<400> 18

35

ES 2 434 852 T3

```

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Ala
 1           5           10           15

Ser Thr Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
 20           25           30

Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser His Tyr Ile
 35           40           45

Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
 50           55           60

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
 65           70           75           80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85           90           95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys
 100          105          110

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
 115          120          125

Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro
 130          135          140

Ser Ser Lys Leu Gly
145

```

- 5 <210> 19  
 <211> 99  
 <212> PRT  
 <213> Mus sp.
- 10 <220>  
 <223> regiones marco 1, 2 y 3 y regiones determinantes de complementariedad 1 y 2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo monoclonal 6E10 de ratón
- 15 <220>  
 <221> PÉPTIDO  
 <222> (1) .. (30)  
 <223> región marco 1 (FR1)
- 20 <220>  
 <221> PÉPTIDO  
 <222> (31) .. (35)  
 <223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
- 25 <220>  
 <221> PÉPTIDO  
 <222> (36) .. (49)  
 <223> región de marco 2 (FR2)
- 30 <220>  
 <221> PÉPTIDO  
 <222> (50) .. (68)  
 <223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2)
- 35 <220>  
 <221> PÉPTIDO  
 <222> (69) .. (99)  
 <223> región de marco 3 (FR3)
- <400> 19

ES 2 434 852 T3

```

Glu Val Lys Leu Asp Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
  1           5           10           15
Pro Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
          20           25           30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35           40           45
Gly Gln Ile Arg Asn Lys Pro Tyr Asn Tyr Glu Thr Tyr Tyr Ser Asp
  50           55           60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
  65           70           75           80
Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
          85           90           95
Tyr Cys Thr

```

- <210> 10
- <211> 101
- 5 <212> PRT
- <213> Mus sp.
  
- <220>
- 10 <223> regiones de marco 1, 2 y 3 y regiones determinantes de complementariedad 1 y 2 de la región variable de cadena ligera del anticuerpo monoclonal 6E10 de ratón
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (1) .. (23)
- 15 <223> región de marco 1 (FR1)
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (24) .. (40)
- 20 <223> región determinante de complementariedad 1 (CDR1)
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (41) .. (55)
- 25 <223> región de marco 2 (FR2)
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (56) .. (62)
- 30 <223> región determinante de complementariedad 2 (CDR2)
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (63) .. (94)
- 35 <223> región de marco 3 (FR3)
  
- <400> 20

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
  1           5           10           15

```

ES 2 434 852 T3

```

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser His Ser Leu Leu Asn Ser
          20                      25                      30

Gly Ile Gln Lys Asn Phe Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
          35                      40                      45

Pro Pro Lys Val Leu Ile Tyr Trp Ala Phe Thr Arg Glu Ser Gly Val
          50                      55                      60

Pro Glu Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
          65                      70                      75                      80

Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Ser
          85                      90                      95

Asp Tyr Thr Tyr Pro
          100
    
```

- <210> 21
- <211> 98
- 5 <212> PRT
- <213> Mus sp.
  
- <220>
- 10 <223> regiones de marco 1, 2 y 3, y regiones determinantes de complementariedad 1 y 2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo monoclonal 11G8 de ratón
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (1) .. (30)
- 15 <223> región de marco 1 (FR1)
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (31) .. (35)
- 20 <223> región determinante de complementariedad (CDR1)
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (36) .. (49)
- 25 <223> región marco 2 (FR2)
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (50) .. (66)
- 30 <223> región determinante de complementariedad (CDR2)
  
- <220>
- <221> PÉPTIDO
- <222> (67) .. (98)
- 35 <223> región de marco 3 (FR3)
  
- <400> 21

```

Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly
  1          5          10          15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
          20                      25                      30
    
```



ES 2 434 852 T3

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
50 55 60  
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile  
65 70 75 80  
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
85 90 95  
Ser His Val Pro  
100

<210> 23

<211> 5

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido conector

<400> 23

Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5

15

**REIVINDICACIONES**

1. Anticuerpo que se une a CCX-CKR2, que comprende:
  - 5 i) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 14; o
  - 10 ii) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 16 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 18.
2. Anticuerpo según la reivindicación 1, que comprende las CDR de Kabat de SEC ID nº 12 y las CDR de Kabat de SEC ID nº 14.
- 15 3. Anticuerpo según la reivindicación 1 o 2, que comprende las SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14.
4. Anticuerpo según la reivindicación 1, que comprende las CDR de Kabat de SEC ID nº 16 y las CDR de Kabat de SEC ID nº 18.
- 20 5. Anticuerpo según la reivindicación 1 o 4, que comprende las SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18.
6. Anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el anticuerpo se enlaza a un marcador detectable.
7. Anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
- 25 8. Anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.
9. Método de detección de una célula que expresa CCX-CKR2 en una muestra biológica, comprendiendo el método poner en contacto la muestra biológica con un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y detectar la presencia del anticuerpo.
- 30 10. Método para identificar un modulador de CCX-CKR2, que comprende:
  - 35 (a) combinar con un agente de ensayo:
    - i) una célula que expresa un polipéptido CCX-CKR2, en el que dicha célula no es una célula humana *in vivo*, o
    - 40 ii) un extracto de una célula que expresa un polipéptido CCX-CKR2; y
  - (b) llevar a cabo un ensayo para detectar si el agente de ensayo compite con un anticuerpo competidor para la unión al polipéptido CCX-CKR2, en el que el anticuerpo competidor es un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y en el que la competición entre el anticuerpo competidor y el agente de ensayo para la unión al polipéptido CCX-CKR2 es una indicación de que el agente de ensayo es un modulador de la actividad de CCX-CKR2.
- 45 11. Método para someter a ensayo la eficacia de un agente de ensayo que modula la actividad de CCX-CKR2, comprendiendo el método:
  - 50 (a) administrar el reactivo de ensayo a un primer animal no humano,
  - (b) administrar a un segundo animal no humano un anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; y
  - 55 (c) comparar el efecto del reactivo de ensayo sobre el primer animal no humano con el efecto del anticuerpo sobre el segundo animal no humano, determinando de esta manera la eficacia de un agente de ensayo.
12. Polinucleótido codificante de un anticuerpo quimérico que se une a CCX-CKR2, comprendiendo dicho anticuerpo quimérico:
  - 60 i) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 14; o
  - 65 ii) las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 16 y las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 18.

13. Polinucleótido según la reivindicación 12, en el que el anticuerpo comprende las CDR de Kabat de SEC ID nº 12 y las CDR de Kabat de SEC ID nº 14.

5 14. Polinucleótido según la reivindicación 12, en el que el anticuerpo comprende las CDR de Kabat de SEC ID nº 16 y las CDR de Kabat de SEC ID nº 18.

15. Método de producción de un anticuerpo según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, comprendiendo el método:

10 ligar funcionalmente los polinucleótidos codificantes de las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de Kabat de SEC ID nº 12 y SEC ID nº 14 o SEC ID nº 16 y SEC ID nº 18 con polinucleótidos heterólogos codificantes de por lo menos las regiones marco de una cadena pesada o ligera de un anticuerpo, con el fin de formar polinucleótidos de fusión codificantes de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo;

15 y

expresar las cadenas pesada y ligera a partir de los polinucleótidos de fusión.

Figura 1

Para SEC ID n° 12:

<-----FR1-----> <CDR1> <-----FR2-----> <-----CDR2-----> <-----FR3----->  
 1 EVKLDETGGGLVQGRPMKLSVAGGFTFS DYWMN WVRQSPKGLWVG QIRNKPYNYFYSDSVKG RFTISRDDSKSS VYLQMNMLRTEDTGIYYCT- 99

Para SEC ID n° 14:

<-----FR1-----> <-----CDR1-----> <-----FR2-----> <-----CDR2> <-----FR3----->  
 1 DIVMTQSPSSLIVTAGEKVTMSC KSSHSLNLSGIQKNFLT WYQKPGQPKVLIY WAFTRFS GVPERTGSGSGTFTLTISSVQAE DLAVYIC QSDYTYP 101

Para SEC ID n° 16:

<-----FR1-----> <CDR1> <-----FR2-----> <-----CDR2-----> <-----FR3----->  
 1 EVKLVESGGDLVQPGGSLKLSCAISGFTFS DYVMF WVRQTPKRLWVA YITNGGDRSYSDTIVTG RFLISRDNAKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCAR 98

Para SEC ID n° 18:

<-----FR1-----> <-----CDR1-----> <-----FR2-----> <-----CDR2> <-----FR3----->  
 1 DVLMTQTPPLSLFVSLGDAQSISC RSSHYIVHSDGNTYLE WYLQKPGQSPKLLIY KVSNRFS GVPDRFSGSGGTFTLKISRVEAEDLGIYIC FQGSHVP 100