

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 531 385**

51 Int. Cl.:

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2009 E 09782818 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.01.2015 EP 2328559**

54 Título: **Formulación que comprende un anticuerpo contra la selectina P**

30 Prioridad:

19.09.2008 EP 08164746

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

13.03.2015

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**GRAUSCHOPF, ULLA;
MAHLER, HANNS-CHRISTIAN y
STAUCH, OLIVER BORIS**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 531 385 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

Formulación que comprende un anticuerpo contra la selectina P

5 La presente invención se refiere a una formulación farmacéutica según la reivindicación 1 de un anticuerpo contra la selectina P y a usos de la formulación.

La formulación según la invención puede encontrarse en una forma líquida, en una forma liofilizada o en una forma líquida reconstituida a partir de una forma liofilizada.

10 Los anticuerpos contra la selectina P se conocen a partir de, por ejemplo, la patente US nº 4.783.399, el documento nº WO 93/06863, Geng *et al.* (J. Biol. Chem. 266:22313-22318, 1991), y los documentos nº WO 93/21956 y nº WO 2005/100402. El documento nº US 2003/0138417 da a conocer una formulación farmacéutica que comprende 50 y 100 mg/ml del anticuerpo anti-selectina L HuEP5C7 en tampón de histidina 50 mM, cloruro sódico 125 mM y Tween-80 al 0,01% a pH 6,0.

15 Se describen anticuerpos ejemplares contra la selectina P en el documento nº WO 2005/100402 y se incluyen anticuerpos que se caracterizan porque la secuencia de aminoácidos de la CDR3 de cadena pesada variable de dicho anticuerpo se selecciona de entre el grupo que consiste de las secuencias de CDR3 de cadena pesada SEC ID nº 38, 39, 40, 41 ó 42.

Los anticuerpos se caracterizan porque dicho anticuerpo se une a la selectina P y comprende regiones variables pesada y ligera seleccionadas de entre el grupo que consiste del dominio variable de cadena pesada definido por la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 4 y el dominio variable de cadena ligera definido por SEC ID nº3.

25 Las secuencias de CDR pueden determinarse según la definición estándar de Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5a edición, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991. Las CDR en cada cadena se encuentran separadas por aminoácidos de marco. Las CDR de SEC ID nº 1 a 22 se muestran en la SEC ID nº 29 a nº 52.

30 En una realización, el anticuerpo se caracteriza por la unión a selectina P pero no se une al factor del complemento C1q y/o al receptor de Fc. Estos anticuerpos no inducen la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y/o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Preferentemente, dicho anticuerpo se caracteriza porque se une a selectina P, contiene una parte Fc derivada de origen humano y no se une al factor del complemento C1q. Más preferentemente, dicho anticuerpo es un anticuerpo humano o humanizado.

35 En otra realización, el anticuerpo se caracteriza porque las cadenas constantes son de origen humano. Dichas cadenas constantes son bien conocidas del estado de la técnica y se describen en, por ejemplo, Kabat (ver, por ejemplo, Johnson y Wu, Nucleic Acids Res. 28:214-218, 2000). Por ejemplo, una región constante de cadena pesada humana útil comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada independientemente de entre el grupo que consiste de SEC ID nº 24, 25, 26, 27 y 28. Por ejemplo, una región constante de cadena ligera humana útil comprende una secuencia de aminoácidos de una región constante de cadena ligera kappa de secuencia SEC ID nº 23.

45 La expresión "de unión a la selectina P" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a la unión del anticuerpo a la selectina P en un ensayo BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia) o en un ELISA en el que se utilizan selectina P purificada o CHO transfectantes de selectina P para recubrir placas de microtitulación.

50 En el ensayo BIAcore, el anticuerpo se une a una superficie y se mide la unión a la selectina P mediante resonancia del plasmón superficial (RPS). La afinidad de la unión se define con los términos k_a (constante de tasa para la asociación del anticuerpo del complejo de anticuerpo/antígeno), k_d (constante de disociación) y K_D (k_d/k_a). En otra realización adicional, los anticuerpos muestran una K_D de 10^{-8} o inferior, preferentemente de entre aproximadamente 10^{-11} y 10^{-9} M (ver Ejemplos). De acuerdo con lo anteriormente expuesto, un anticuerpo preferente es el indicado anteriormente, en el que el anticuerpo se une a la selectina P con un valor de K_D inferior a 10^{-8} M en un ensayo BIAcore, preferentemente en el que el intervalo de K_D es de 10^{-11} a 10^{-9} M.

Preferentemente, el anticuerpo es del subtipo IgG1 ó IgG4 humano.

60 Más preferentemente, el anticuerpo se caracteriza porque el anticuerpo es un anticuerpo de subclase IgG1 humana, que contiene por lo menos una mutación en L234, L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331 y/o P329 ó un anticuerpo de la subclase IgG4 humana, que contiene por lo menos una mutación en L235 y S228 (numeración según el índice EU).

65 En el ELISA específico para la selectina P, la selectina P purificada se utiliza para recubrir placas de microtitulación y se detecta la unión del anticuerpo a la selectina P con un anticuerpo anti-IgG humana biotinilado y se llevan a cabo las etapas habituales de un ELISA. Los valores de EC_{50} en dicho ensayo preferentemente son de entre 0,002 y 0,03

- 5 $\mu\text{g/ml}$ en células CHO con selectina P, es decir, los anticuerpos preferentes son aquellos en los que los valores de EC_{50} para la unión de la selectina P se encuentran comprendidos en el intervalo de entre 0,002 y 0,03 mg/ml en células CHO presentadoras de selectina P en un ensayo ELISA. En un ensayo en el que se utilizan CHO transfectantes que expresan selectina P para recubrir la placa de microtitulación, los valores de EC_{50} se encuentran comprendidos entre 0,01 y 0,08 mg/ml , preferentemente entre 0,01 y 0,04 $\mu\text{g/ml}$.
- 10 Los valores de EC_{50} de transfectantes de selectina E y selectina L preferentemente son superiores a 100 $\mu\text{g/ml}$. Los anticuerpos preferentes se caracterizan porque se unen por lo menos 1.000 veces más específicamente a la selectina P que a la selectina E y/o selectina L según miden los valores de EC_{50} en un ensayo ELISA, en el que se utilizan la selectina P y la selectina E y/o la selectina L para recubrir la placa de microtitulación.
- 15 Los anticuerpos preferentemente son capaces de unirse a la selectina P en presencia del fragmento de selectina P de aminoácidos 60 a 75 (Swiss-Prot secuencia P16109) y/o no inhiben competitivamente la unión de un anticuerpo secretado por una línea celular denominada ATCC nº de acceso HB11041 a la selectina P.
- 20 Los anticuerpos preferentemente no inhiben la interacción de la selectina P y la glucoproteína de membrana plaquetaria GPIIb α en un formato de ensayo ELISA. En el ELISA, la glucocalicina, la parte extracelular soluble de GPIIb α , se inmovilizó sobre los pocillos de las placas de microtitulación, tal como se ha descrito (Romo *et al.*, J. Exp. Med. 190:803, 1999), y la unión de la selectina P purificada tras la preincubación con los mAb_hu de selectina P se detectó con un anticuerpo policlonal anti-selectina P.
- 25 El anticuerpo preferente se caracteriza porque no se une a la proteína C3, más preferentemente se caracteriza porque no induce citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Además, el anticuerpo puede caracterizarse porque no se une a receptores de Fc γ sobre las células efectoras NK. Preferentemente, el anticuerpo se caracteriza porque es un anticuerpo de subclase IgG1 humana, que contiene por lo menos una mutación en L234, L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331 y/o P329 ó un anticuerpo de la subclase IgG4 humana que contiene por lo menos una mutación en L235 y S228 (numeración según el índice EU). El anticuerpo preferente se caracteriza porque no induce citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).
- 30 Los anticuerpos comprenden el dominio variable de cadena ligera definido por la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 3 y el dominio variable de cadena pesada definido por SEC ID nº 4.
- 35 Los anticuerpos preferentes se caracterizan porque los anticuerpos son de la subclase IgG4 humana o porque comprenden por lo menos una mutación de aminoácido causante de la falta de unión al factor del complemento C1q. Estos anticuerpos variantes comprenden, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos seleccionada independientemente de entre el grupo que consiste de SEC ID nº 25 ó SEC ID nº 26 y SEC ID nº 28.
- 40 Un anticuerpo anti-selectina P "variante" se refiere en la presente memoria a una molécula que difiere en la secuencia de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo anti-selectina P "parental" en virtud de la adición, delección y/o sustitución de uno o más residuos aminoácidos en la secuencia del anticuerpo parental. Preferentemente, la variante comprende una o más sustituciones de aminoácidos en una o más regiones constantes o variables del anticuerpo parental, más preferentemente en la región constante. Por ejemplo, la variante puede comprender por lo menos una, por ejemplo entre aproximadamente una y aproximadamente diez, y preferentemente entre aproximadamente dos y aproximadamente cinco, sustituciones en una o más regiones variables del anticuerpo parental. Habitualmente la variante presenta una secuencia de aminoácidos que presenta una identidad de secuencia de aminoácidos de por lo menos 90% respecto a las secuencias de dominio constante y/o variable del anticuerpo parental, más preferentemente de por lo menos 95%, y todavía más preferentemente de por lo menos 99%.
- 45 La identidad u homología con respecto a la secuencia se define en la presente memoria como el porcentaje de residuos aminoácidos en la secuencia candidata que son idénticos a los de la secuencia parental, tras alinear las secuencias e introducir huecos, en caso necesario, para alcanzar el máximo porcentaje de identidad de secuencia. Ninguna de las extensiones, delecciones o inserciones N-terminales, C-terminales o internas en la secuencia del anticuerpo debe interpretarse que afecta a la identidad o a la homología de secuencia. La variante conserva la capacidad de unirse selectina P humana y preferentemente presenta propiedades que son superiores a las del anticuerpo parental. Por ejemplo, la variante puede presentar una afinidad de unión más fuerte, una capacidad incrementada de tratar una enfermedad asociada a isquemia crítica de las extremidades o enfermedad oclusiva arterial periférica (ICE/EOAP).
- 50 El anticuerpo variante de particular interés en la presente memoria es uno que muestra un incremento de por lo menos 4 veces aproximadamente de la actividad inhibitora en el ensayo de adhesión comparado con el anticuerpo parental debido a la eliminación de la unión a los receptores de Fc γ .
- 55 El anticuerpo "parental" en la presente memoria es uno codificado por una secuencia de aminoácidos utilizada para la preparación de la variante. Preferentemente, el anticuerpo parental presenta una región marco humana y, en caso
- 60
- 65

de encontrarse presente, una o más regiones constantes de anticuerpo humano. Por ejemplo, el anticuerpo parental puede ser un anticuerpo humanizado o un anticuerpo humano.

5 Entre los anticuerpos según la invención se incluyen, además, anticuerpos que presentan “modificaciones de secuencia conservadoras”, modificaciones de la secuencia de nucleótidos y de aminoácidos que no afectan o alteran las características anteriormente indicadas del anticuerpo según la invención. Pueden introducirse modificaciones mediante técnicas estándares conocidas de la técnica, tales como la mutagénesis dirigida a sitio y la mutagénesis mediada por PCR. Entre las sustituciones conservadoras de aminoácidos se incluyen aquéllas en las que se sustituye un residuo aminoácido por un residuo aminoácido que presenta una cadena lateral similar. Se han definido 10 en la técnica familias de residuos aminoácidos que presentan cadenas laterales similares. Entre estas familias se incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo lisina, arginina e histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo ácido aspártico y ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (por ejemplo glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína y triptófano), cadenas laterales no polares (por ejemplo alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina y metionina), cadenas laterales beta-ramificadas (por ejemplo treonina, valina e isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo tirosina, fenilalanina, triptófano e histidina). De esta manera, un residuo aminoácido no esencial predicho en un anticuerpo anti-selectina P humano puede 15 sustituirse preferentemente por otro residuo aminoácido de la misma familia de cadenas laterales.

20 Pueden llevarse a cabo sustituciones de aminoácidos mediante mutagénesis basándose en el modelaje molecular, tal como describen Riechmann *et al.*, Nature 332:323-327, 1988, y Queen *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033, 1989.

25 Algunos anticuerpos preferentes adicionales comprenden una región constante de cadena ligera κ definida por SEC ID n° 23.

30 Son anticuerpos preferentes adicionales los definidos como IgG1v1 (PVA-236; GLPSS331 tal como se especifica mediante E233P; L234V; L235A; delta G236; A327G; A330S; P331S), IgG1v2 (L234A; L235A) e IgG4v1 (S228P; L235E).

30 Descripción del listado de secuencias

SEC ID n° 1	cadena ligera LC1004-001, dominio variable de mAb_hu 1004-001
SEC ID n° 2	cadena pesada LC1004-001, dominio variable de mAb_hu 1004-001
SEC ID n° 3	cadena ligera CL1004-002, dominio variable de mAb_hu 002
SEC ID n° 4	cadena pesada LC 1004-002, dominio variable de mAb_hu 002
SEC ID n° 5	cadena ligera LC 1004-003, dominio variable de mAb_hu 003
SEC ID n° 6	cadena pesada LC 1004-003, dominio variable de mAb_hu 003
SEC ID n° 7	cadena ligera (I) LC 1004-004, dominio variable de mAb_hu 004 (I)
SEC ID n° 8	cadena pesada (I) LC 1004-004, dominio variable de mAb_hu 004 (I)
SEC ID n° 9	cadena ligera (II) LC 1004-004, dominio variable de mAb_hu 004 (II)
SEC ID n° 10	cadena pesada (II) LC 1004-004, dominio variable de mAb_hu 004 (II)
SEC ID n° 11	cadena ligera, dominio variable de mAb_hu 005
SEC ID n° 12	cadena pesada, dominio variable de mAb_hu 005
SEC ID n° 13	cadena ligera, dominio variable de mAb_hu 010 (I)
SEC ID n° 14	cadena pesada, dominio variable de mAb_hu 010 (I)
SEC ID n° 15	cadena ligera, dominio variable de mAb_hu 010 (II)
SEC ID n° 16	cadena pesada, dominio variable de mAb_hu 010 (II)
SEC ID n° 17	cadena ligera, dominio variable de mAb_hu 010 (III)
SEC ID n° 18	cadena pesada, dominio variable de mAb_hu 010 (III)
SEC ID n° 19	cadena ligera, dominio variable de mAb_hu 011
SEC ID n° 20	cadena pesada, dominio variable de mAb_hu 011
SEC ID n° 21	cadena ligera, dominio variable de mAb_hu 017
SEC ID n° 22	cadena pesada, dominio variable de mAb_hu 017
SEC ID n° 23	región constante de cadena ligera κ
SEC ID n° 24	región constante de cadena pesada γ 1
SEC ID n° 25	Región constante de cadena pesada γ 1 PVA236/GLPSS331 (IgG1v1)
SEC ID n° 26	región constante de cadena pesada γ 1 L234A/L235A (IgG1v2)
SEC ID n° 27	región constante de cadena pesada γ 4
SEC ID n° 28	región constante de cadena pesada γ 4 S228/L235E (IgG4v1)
SEC ID n° 29-32	CDR1 de cadena pesada
SEC ID n° 33-37	CDR2 de cadena pesada
SEC ID n° 38-42	CDR3 de cadena pesada

SEC ID nº 43-44 CDR1 de cadena ligera
 SEC ID nº 45-46 CDR2 de cadena ligera
 SEC ID nº 47-52 CDR3 de cadena ligera

En una realización, la presente invención proporciona una formulación en la que el anticuerpo se encuentra presente ne una cantidad comprendida en el intervalo de entre 1 y 50 mg/ml. Los anticuerpos monoclonales antagónicos contra la selectina P pueden producirse con líneas celulares de hibridoma. Las líneas celulares de hibridoma preferentes son mAb_hu<selectina P>LC 1004-001 (anticuerpo mAb_hu 001), mAb_hu<selectina P>LC 1004-002 (anticuerpo mAb_hu 002) y mAb_hu<selectina P>LC 1004-017 (anticuerpo mAb_hu 017), que han sido depositadas bajo el Tratado de Budapest sobre el reconocimiento internacional del depósito de microorganismos a los fines del procedimiento en materia de patentes, en el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), Alemania.

Línea celular	Depósito nº	Fecha de depósito
mAb_hu<selectina P>LC 1004-001	DSM ACC2640	30.03.2004
mAb_hu<selectina P>LC 1004-002	DSM ACC2641	30.03.2004
mAb_hu<selectina P>LC 1004-017	DSM ACC2642	30.03.2004

Los anticuerpos que resultan útiles en las formulaciones según la invención se producen preferentemente por medios recombinantes, por ejemplo los descritos en el documento nº WO 2006/072564. Dichos métodos son ampliamente conocidos del estado de la técnica y comprenden la expresión de proteínas en células procarióticas y eucarióticas con el posterior aislamiento del polipéptido anticuerpo y habitualmente la purificación hasta una pureza farmacéuticamente aceptable. Para la expresión de proteínas, se insertan ácidos nucleicos codificantes de cadenas ligeras y pesadas o fragmentos de las mismas en vectores de expresión mediante métodos estándares. La expresión se lleva a cabo en células huésped procarióticas o eucarióticas apropiadas, tales como células CHO, células NS0, células SP2/0, células HEK293, células COS, levaduras o células de *E. coli*, y el anticuerpo se recupera de las células (del sobrenadante o de las células tras la lisis) mediante técnicas estándares, incluyendo el tratamiento alcalino/SDS, la formación de bandas en CsCl, la cromatografía de columna, la electroforesis en gel de agarosa y otras bien conocidas de la técnica, por ejemplo tal como se describe en el documento nº WO 2006/072564.

El término "tampón" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un excipiente farmacéuticamente aceptable que estabiliza el pH de la preparación farmacéutica. Los tampones adecuados son bien conocidos de la técnica y pueden encontrarse en la literatura. Los tampones farmacéuticamente aceptables son los tampones de histidina, los tampones de citrato, los tampones de succinato, los tampones de acetato y los tampones de fosfato. El tampón es hidrocloreuro de L-histidina con ajuste del pH con un ácido o una base conocido de la técnica. Este tampón se utiliza en una cantidad de 20 mM. Independientemente del tampón utilizado, se ajusta el pH a un valor de 6,0 con un ácido o una base conocido de la técnica, por ejemplo ácido clorhídrico, ácido acético, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido cítrico, hidróxido sódico e hidróxido potásico.

El término "surfactante" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un excipiente farmacéuticamente aceptable que se utiliza para proteger las formulaciones de proteínas frente a tensiones mecánicas tales como la agitación y la cizalladura. Entre los ejemplos de surfactantes farmacéuticamente aceptables se incluyen ésteres de polioxietilén-sorbitán-ácido graso (Tween), alquil-éteres de polioxietileno (Brij), éteres de alquilfenilpolioxietileno (Triton-X), copolímero de polioxietileno-polioxipropileno (poloxámero, plurónico) y dodecilsulfato sódico (SDS). Los ésteres de polioxietilén-sorbitán-ácido graso son el polisorbato 20 (comercializado bajo la marca comercial Tween 20TM) y el polisorbato 80 (comercializado bajo la marca comercial Tween 80TM). Los copolímeros de polietileno-polipropileno preferentes se comercializan bajo los nombres Pluronic® F68 ó Poloxamer 188TM. Los alquil-éteres de polioxietileno se comercializan bajo la marca comercial BrijTM. Los éteres de alquilfenil-polioxietileno se comercializan bajo la marca comercial Triton-X. El polisorbato 20 (Tween 20TM) se encuentra presente a una concentración del 0,2%.

El término "estabilizador" se refiere a un excipiente farmacéuticamente aceptable que protege el ingrediente farmacéutico activo y/o la formación frente a la degradación química y/o física durante la fabricación, almacenamiento y aplicación. Las rutas de degradación química y física de los farmacéuticos proteicos se revisan en Cleland *et al.* Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 10(4):307-77, 1993; Wang, Int. J. Pharm. 185(2):129-88, 1999; Wang, Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60, 2000, y Chi *et al.* Pharm. Res. 20(9): 1325-36, 2003. Entre los estabilizadores se incluyen azúcares, aminoácidos, polioles, ciclodextrinas, por ejemplo hidroxipropil-β-ciclodextrina, sulfobutiletill-β-ciclodextrina, β-ciclodextrina, polietilenglicoles, por ejemplo PEG 3000, PEG 3350, PEG 4000, PEG 6000, albúmina, albúmina de suero humano (ASH), albúmina de suero bovino (ASB), sales, por ejemplo cloruro sódico, cloruro de magnesio, cloruro cálcico, quelantes, por ejemplo EDTA, tal como se define posteriormente en la presente memoria. Tal como se ha mencionado anteriormente en la presente memoria, los estabilizadores pueden encontrarse presentes en la formulación en una cantidad de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 500 mM,

preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 300 mM, y más preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 100 mM y aproximadamente 300 mM.

5 El término "azúcar" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un monosacárido o a un oligosacárido. Un monosacárido es un carbohidrato monomérico que no es hidrolizable por ácidos, incluyendo azúcares simples y sus derivados, por ejemplo aminoazúcares. Entre los ejemplos de monosacáridos se incluyen glucosa, fructosa, galactosa, manosa, sorbosa, ribosa, desoxirribosa y ácido neuramínico. Un oligosacárido es un carbohidrato que consiste de más de una unidad sacárida monomérica conectada mediante uno o más enlaces glucosídicos ramificadamente o en una cadena. Las unidades sacáridas monoméricas en un oligosacárido pueden ser idénticas o
10 diferentes. Según el número de unidades sacáridas monoméricas, el oligosacárido es un di-, tri-, tetra-, penta-sacárido, etc. En contraste con los polisacáridos, los monosacáridos y oligosacáridos son solubles en agua. Entre los ejemplos de oligosacáridos se incluyen sacarosa, trehalosa, lactosa, maltosa y rafinosa. La trehalosa se encuentra presente en una cantidad de 240 mM.

15 El término "aminoácido" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a una molécula orgánica farmacéuticamente aceptable que presenta una fracción amino situada en posición α respecto a un grupo carboxílico. Entre los ejemplos de aminoácidos se incluyen arginina, glicina, ornitina, lisina, histidina, ácido glutámico, ácido aspárgico, isoleucina, leucina, alanina, fenilalanina, tirosina, triptófano, metionina, serina y prolina. Los aminoácidos generalmente se utilizan en una cantidad de entre aproximadamente 10 y 500 mM, preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 300 mM y más preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 100 mM y aproximadamente 300 mM.

25 El término "polioles" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a alcoholes farmacéuticamente aceptables con más de un grupo hidroxilo. Los polioles adecuados comprenden, aunque sin limitarse a ellos, manitol, sorbitol, glicerina, dextrano, glicerol, arabitol, propilenglicol, polietilenglicol y combinaciones de los mismos. Los polioles pueden utilizarse en una cantidad de entre aproximadamente 10 mM y aproximadamente 500 mM, preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 300 mM, y más preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 100 y aproximadamente 300 mM.

30 Un subgrupo dentro de los estabilizadores son los lioprotectores. El término "lioprotector" se refiere a excipientes farmacéuticamente aceptables que protegen el ingrediente activo lábil (por ejemplo una proteína) frente a condiciones desestabilizadores durante el procedimiento de liofilización, y posterior almacenamiento y reconstitución. Los lioprotectores comprenden, aunque sin limitarse a ellos, el grupo que consiste de azúcares, polioles (tales como, por ejemplo, los alcoholes de azúcares) y los aminoácidos. Los lioprotectores pueden seleccionarse de entre el grupo que consiste de azúcares, tales como sacarosa, trehalosa, lactosa, glucosa, manosa, maltosa, galactosa, fructosa, sorbosa, rafinosa, ácido neuroamínico, aminoazúcares tales como glucosamina, galactosamina, N-metilglucosamina ("meglumina"), polioles tales como manitol y sorbitol, y aminoácidos tales como arginina y glicina, o mezclas de los mismos. Los lioprotectores generalmente se utilizan en una cantidad de entre aproximadamente 10 y 500 mM, preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 300 mM y más preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 100 mM y aproximadamente 300 mM.

45 Un subgrupo dentro de los estabilizadores son los antioxidantes. El término "antioxidante" se refiere a excipientes farmacéuticamente aceptables, que impiden la oxidación del ingrediente farmacéutico activo. Los antioxidantes comprenden, aunque sin limitarse a ellos, ácido ascórbico, glutatión, cisteína, metionina, ácido cítrico y EDTA. Los antioxidantes pueden utilizarse en una cantidad de entre aproximadamente 0,01 y 100 mM, preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 50 mM y más preferentemente en una cantidad de entre aproximadamente 5 mM y aproximadamente 20 mM.

50 La expresión "agentes de tonicidad" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a agentes de tonicidad farmacéuticamente aceptables. Los agentes de tonicidad se utilizan para modular la tonicidad de la formulación. La formulación puede ser hipotónica, isotónica o hipertónica. La isotonicidad en general se refiere a la presión osmótica respecto a una solución, habitualmente respecto a la de suero sanguíneo humano. La formulación según la invención puede ser hipotónica, isotónica o hipertónica, aunque preferentemente es isotónica. Una formulación isotónica es líquida o líquido reconstituido a partir de una forma sólida, por ejemplo a partir de una forma liofilizada y se refiere a una solución que presenta la misma tonicidad que otra solución con la que se compara, tal como solución salina fisiológica y el suero sanguíneo. Los agentes de tonicidad adecuados comprenden, aunque sin limitarse a ellos, cloruro sódico, cloruro potásico, glicerina y cualquier componente del grupo constituido por aminoácidos y azúcares, en particular glucosa. Los agentes de tonicidad generalmente se utilizan en una cantidad de entre aproximadamente 5 mM y aproximadamente 500 mM.
60

Dentro de los estabilizadores y los agentes de tonicidad se encuentra un grupo de compuestos que pueden funcionar de ambas maneras, es decir, puede ser simultáneamente un estabilizador y un agente de tonicidad. Pueden encontrarse ejemplos de los mismos en el grupo de los azúcares, aminoácidos, polioles, ciclodextrinas, polietilenglicoles y sales. Un ejemplo de un azúcar que puede ser simultáneamente un estabilizador y un agente de tonicidad es la trehalosa.
65

- Las composiciones pueden contener además adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la presencia de microorganismos puede garantizarse tanto mediante procedimientos de esterilización, como mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. Los conservantes generalmente se utilizan en una cantidad de entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 2% (p/v). Los conservantes comprenden, aunque sin limitarse a ellos, etanol, alcohol bencílico, fenol, m-cresol, p-clor-m-cresol, metil- o propil-parabenos y cloruro de benzalconio.
- El término "líquido" tal como se utiliza en la presente memoria en relación a la formulación según la invención se refiere a una formulación que es líquida a una temperatura de entre por lo menos aproximadamente 2°C y aproximadamente 8°C bajo presión atmosférica.
- El término "liofilizado" tal como se utiliza en la presente memoria en relación a la formulación según la invención se refiere a una formulación que se prepara mediante métodos de liofilización conocidos de la técnica *per se*. Se elimina el solvente (por ejemplo agua) mediante congelación tras la sublimación bajo vacío y la desorción del agua residual a temperatura elevada. El liofilizado habitualmente presenta una humedad residual de aproximadamente 0,1% a 5% (p/p) y se encuentra presente en forma de unos polvos o una torta físicamente estable. El liofilizado se caracteriza por una disolución rápida tras la adición de un medio de reconstitución.
- La expresión "formulación reconstituida" tal como se utiliza en la presente memoria en relación a la formulación según la invención se refiere a una formulación que se liofiliza y se redissuelve mediante la adición de medio de reconstitución. El medio de reconstitución comprende, aunque sin limitarse a ellos, agua para inyección (API), agua bacteriostática para inyección (ABPI), soluciones de cloruro sódico (por ejemplo NaCl al 0,9% (p/v)), soluciones de glucosa (por ejemplo glucosa al 5%), soluciones que contienen surfactante (por ejemplo polisorbato 20 al 0,01%), una solución de pH tamponado (por ejemplo soluciones tamponadas con fosfato).
- Las formulaciones según la invención presentan nuevas propiedades inventivas que causan un beneficio para un paciente que sufre de asma o una enfermedad alérgica.
- La invención comprende además la utilización de una formulación según la invención para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento del asma.
- Una composición de la presente invención puede administrarse mediante una diversidad de métodos conocidos de la técnica. Tal como apreciará el experto en la materia, la vía y/o modo de administración variarán dependiendo de los resultados deseados.
- Para administrar una composición de la invención mediante determinadas vías de administración, puede resultar necesario diluir la composición en un diluyente. Entre los diluyentes farmacéuticamente aceptables se incluyen solución salina, glucosa, Ringer y soluciones tamponadoras acuosas.
- Las expresiones "administración parenteral" y "administrado parenteralmente" tal como se utilizan en la presente memoria se refieren a modos de administración diferentes de la administración entérica y tópica, habitualmente mediante inyección, e incluyen, sin limitarse a las mismas, las inyecciones e infusiones intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal.
- La composición debe ser estéril y líquida en grado suficiente para que la composición resulte administrable mediante jeringa. Además de agua, el portador puede ser una solución salina tamponada isotónica, etanol, poliol (por ejemplo glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares) y mezclas adecuadas de los mismos.
- La formulación según la invención puede administrarse por vía intravenosa (i.v.), subcutánea (s.c.) o cualesquiera otros medios de administración parenteral, tales como los conocidos de la técnica farmacéutica.
- La formulación según la invención puede prepararse mediante métodos conocidos de la técnica, por ejemplo ultrafiltración-diafiltración, diálisis, adición y mezcla, liofilización, reconstitución y combinaciones de los mismos. A continuación en la presente memoria pueden encontrarse ejemplos de preparaciones de formulaciones según la invención.
- Ejemplos
- Ejemplo 1: preparación de formulaciones líquidas
- Se proporcionó mAb_hu-selectina P preparada, fermentada y purificada tal como se describe en el documento nº WO 2005/100402, a una concentración de aproximadamente 22 a 27 mg/ml en un tampón de histidina 20 mM a un pH de aprox. 6,0, o en un tampón de acetato 20 mM a un pH de aprox. 5,2.

5 Para la preparación de las formulaciones líquidas, se añadió mAb_hu-selectina P en los excipientes (por ejemplo trehalosa) como soluciones madre de 2 a 10 veces a la solución de anticuerpo. A continuación, se añadió el surfactante como solución madre de 2 a 200 veces o como surfactante puro. Finalmente, se ajustó la concentración de proteína con un tampón hasta una concentración final de mAb_hu-selectina P de aprox. 15 mg/ml.

10 Todas las formulaciones se filtraron a esterilidad a través de filtros de 0,22 µm de baja unión a proteínas y se utilizaron para llenar asépticamente bajo una atmósfera de nitrógeno viales de vidrio estériles de 6 ml con tapas de caucho recubiertas con ETFE (copolímero de etileno y tetrafluoroetileno) y cápsulas de aluminio plegadas. El volumen de llenado era de aproximadamente 2,4 ml. Estas formulaciones se almacenaron bajo diferentes condiciones climáticas ICH (5°C, 25°C y 40°C) durante diferentes intervalos de tiempo y se perturbaron utilizando métodos de agitación (1 semana a una frecuencia de agitación de 200 min⁻¹ a 5°C) y de perturbación mediante congelación-descongelación. Se analizaron las muestras antes y después de aplicar los ensayos de perturbación mediante los métodos de análisis siguientes: 1) espectrofotometría de UV, y 2) cromatografía de exclusión por tamaño (CET).

20 Se utilizó la cromatografía de exclusión por tamaño (CET) para detectar las especies solubles de alto peso molecular (agregados) y los productos de hidrólisis de bajo peso molecular (BPM) en las formulaciones. El método se llevó a cabo en un instrumento de HPLC Water Alliance 2795 dotado de una columna TOSOH BIOSCIENCE TSK G3000 SWXL. Se separó el monómero intacto, los agregados y los productos de hidrólisis mediante un perfil de elución isocrática utilizando K₂HPO₄/KOH 0,2 M, KCl 0,25 M, pH 7,0, como la fase móvil, y se detectaron a una longitud de onda de 280 nm. La espectroscopía de UV, utilizada para la determinación del contenido de proteínas, se llevó a cabo en un espectrofotómetro de UV Varian Cary Bio en un intervalo de longitudes de onda de 240 a 400 nm. Se diluyeron muestras de proteínas puras hasta aprox. 0,5 mg/ml con el tampón de formulación correspondiente. Se calculó la concentración de proteína según la ecuación 1.

$$\text{Ecuación 1: contenido de proteínas} = \frac{A(280) - A(320) \times \text{factor de dil.}}{\epsilon \left(\frac{\text{cm}^2}{\text{mg}} \right) \times d(\text{cm})}$$

30 Se corrigió la absorción de la luz UV a 280 nm para la dispersión lumínica a 320 nm y se multiplicó por el factor de dilución, determinado a partir del peso de las masas y las densidades de la muestra pura y el tampón de dilución. Se dividió el numerador por el producto del camino óptico de la cubeta d y el coeficiente de extinción ε.

Tabla 1:

Formulación A Almacenamiento a 2-8°C		mAb_hu-selectina P 15 mg/ml HCl de L-histidina 20 mM, trehalosa 240 mM, polisorbato 20 al 0,02%, a pH 6,0		
Punto temporal	Conc. de proteína (mg/ml)	HPLC de exclusión por tamaño		
		PME (%)	Monómero (%)	PMB (%)
Initial	16,7	0,2	99,8	0,0
5 semanas	15,8	0,2	99,8	0,0
11 semanas	16,2	0,3	99,7	0,0
23 semanas	16,6	0,4	99,0	0,6
Formulación B (de referencia) Almacenamiento a 2-8°C		mAb_hu-selectina P 15 mg/ml acetato sódico 20 mM, trehalosa 140 mM,		
Punto temporal	Conc. de proteína (mg/ml)	HPLC de exclusión por tamaño		
		PMA (%)	Monómero (%)	PMB (%)
		Glicina 75 mM, polisorbato 20 al 0,04%, a pH 5,2		
Punto temporal	Conc. de proteína	HPLC de exclusión por tamaño		

	(mg/ml)	PMA (%)	Monómero (%)	PMB (%)
Inicial	16,5	0,1	99,9	0,0
5 semanas	16,1	0,2	99,8	0,0
11 semanas	16,0	0,2	99,8	0,0
26 semanas	15,6	0,1	99,9	0,0

Ejemplo 2: preparación de formulaciones liofilizadas y formulaciones líquidas reconstituidas a partir de formulaciones liofilizadas

- 5 Se proporcionó mAb_hu-selectina P preparada, fermentada y purificada tal como se describe en el documento n° WO 2005/100402, a una concentración de aproximadamente 22 a 27 mg/ml en un tampón de histidina 20 mM a un pH de aprox. 6,0, o en un tampón de succinato 20 mM a un pH de aprox. 5,2, y se liofilizó utilizando el ciclo de congelación-secado informado en la Tabla 2.

10 Tabla 2 Ciclo de congelación-secado tipo I

Etapa	Temperatura de almacenamiento (°C)	Velocidad de cambio (°C/min)	Tiempo de mantenimiento (min.)	Nivel de vacío (µbar)
Preenfriamiento	5	0,0	60	-
Congelación	-40°C	1,0	120	-
Secado primario	-25°C	0,5	3900	80
Secado secundario	+25°C	0,2	300	80

- 15 En primer lugar el producto se enfrió desde la temperatura ambiente hasta aprox. 5°C (preenfriamiento), seguido de una etapa de congelación a -40°C con una velocidad de enfriamiento de la placa de aprox. 1°C/min., seguido de una etapa de mantenimiento a -40°C de aproximadamente 2 horas. La primera etapa de secado se llevó a cabo a una temperatura de la placa de aprox. -25°C y una presión en la cámara de aprox. 80 µbar durante aproximadamente 65 horas. A continuación, se inició la segunda etapa de secado con una rampa de temperatura de 0,2°C/min. de -25°C a 25°C, seguido de una etapa de mantenimiento a 25°C durante por lo menos 5 horas a una presión en la cámara de aprox. 80 mbar.

- 20 Se llevó a cabo la liofilización en un liofilizador Usifroid SMH-90 LN2 (Usifroid, Maurepas, Francia). Todas las tortas liofilizadas presentaban un contenido de agua residual de aproximadamente 0,1% a 2,0% según se determinó mediante el método de Karl-Fischer. Las muestras liofilizadas se incubaron a diferentes temperaturas durante diferentes intervalos de tiempo.

- 25 Las formulaciones liofilizadas se reconstituyeron hasta un volumen final de 5,3 ml con agua para inyección (API), rindiendo una formulación isotónica con una concentración de anticuerpo de aprox. 15 mg/ml. El tiempo de reconstitución de las tortas liofilizadas fue inferior a 1 min. El análisis de las muestras reconstituidas se llevó a cabo inmediatamente después de la reconstitución o después de un periodo de incubación de 24 horas de la muestra líquida reconstituida a 25°C.

- 30 Las muestras se analizaron mediante: 1) espectrofotometría de UV, y 2) cromatografía de exclusión por tamaño (CET).

Tabla 3

Formulación C Almacenamiento a 2-8°C		mAb_hu-selectina P 15 mg/ml HCl de L-histidina 20 mM, trehalosa 240 mM, polisorbato 20 al 0,02%, a pH 6,0		
Punto temporal	Conc. de proteína (mg/ml)	HPLC de exclusión por tamaño PMA (%) Monómero (%) PMB (%)		
Inicial	16,7	0,2	99,8	0,0
5 semanas	17,1	0,2	99,8	0,0
11 semanas	17,0	0,2	99,8	0,0
23 semanas	16,4	0,3	99,1	0,6

Formulación D (de referencia) Almacenamiento a 2-8°C		mAb_hu-selectina P 15 mg/ml succinato 20 mM, trehalosa 240 mM, arginina 20 mM, polisorbato 20 al 0,02%, a pH 6,0		
Punto temporal	Conc. de proteína (mg/ml)	HPLC de exclusión por tamaño PMA (%) Monómero (%) PMB (%)		
Inicial	16,7	0,2	99,8	0,0
5 semanas	17,0	0,2	99,8	0,0
11 semanas	17,1	0,2	99,8	0,0
36 semanas	16,5	0,2	99,8	0,0

LISTADO DE SECUENCIAS

- 5 <110> F. Hoffmann-La Roche AG
- <120> NUEVA FORMULACIÓN DE ANTICUERPO
- <130> 25380
- 10 <160> 28
- <170> PatentIn versión 3.2
- 15 <210> 1
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens
- <400> 1
- Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
- Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
- Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
- Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
- Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
- Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Leu
85 90 95
- Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
- 20 <210> 2
<211> 124
<212> PRT
<213> Homo sapiens
- 25 <400> 2

ES 2 531 385 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 20 25 30
 35 40 45

Ser Gly Ile Thr Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Gly Arg Ile Ser Met Asp Arg Gly Val Lys Asn Asn Trp Phe Asp
 100 105 110

Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

- 5 <210> 3
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

10 <400> 3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

ES 2 531 385 T3

<210> 4
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 4

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

10

<210> 5
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 5

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

ES 2 531 385 T3

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

5 <210> 6
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 6

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Thr Phe Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Ser
 65 70 75 80

Leu Leu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Thr Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Ser Phe Asp Tyr Tyr Tyr
 100 105 110

10 Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10 <210> 7
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 7

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45

ES 2 531 385 T3

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Ser Tyr Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 8

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 8

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
 20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Thr Asp Asp Leu Asp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

10 <210> 9

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 9

ES 2 531 385 T3

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

<210> 10
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 10

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

10

ES 2 531 385 T3

<210> 11
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 11

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
 85 90 95

Val Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 12
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 12

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Thr Phe Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

ES 2 531 385 T3

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Ser
65 70 75 80

Leu Leu Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Ser Phe Asp Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 13

<211> 107

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

10 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 14

<211> 124

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 14

ES 2 531 385 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Arg Phe Asp Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Asp Trp Phe Asp
100 105 110

Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

- 5 <210> 15
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens

10 <400> 15

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

ES 2 531 385 T3

<210> 16
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 16

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

<210> 17
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

<400> 17

15

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Tyr Asn Trp Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

5 <210> 18
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 18

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Gly Arg Phe Asp Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Asp Trp Phe Asp
 100 105 110

10 Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

15 <210> 19
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

ES 2 531 385 T3

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

<210> 20
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 20

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Thr Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Gln Asn Trp Ile Asp Val Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115

10

<210> 21
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15

<400> 21

ES 2 531 385 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 22

<211> 12

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 22

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Asn Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asn Gly Glu Ala Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Asp Leu Ala Gly Gly Ser Asp Phe Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp
 100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 23
 <211> 107
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens

<400> 23

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105

10 <210> 24
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 24

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

ES 2 531 385 T3

50						55						60					
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr		
65					70					75							80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys		
				85					90					95			
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys		
			100					105					110				
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro		
		115					120					125					
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys		
	130					135					140						
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp		
145					150					155					160		
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu		
				165					170					175			
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu		
			180					185					190				
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn		
		195					200					205					
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly		
	210					215					220						
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu		
225					230					235					240		
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr		
				245					250					255			
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn		
			260					265					270				
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe		
		275					280					285					
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn		
	290					295					300						

ES 2 531 385 T3

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 25
 <211> 329
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens

<400> 25

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 115 120 125

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 130 135 140

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 145 150 155 160

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 165 170 175

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 180 185 190

ES 2 531 385 T3

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 195 200 205

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 210 215 220

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325

<210> 26
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 26

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

10

ES 2 531 385 T3

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 27
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 27

ES 2 531 385 T3

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

ES 2 531 385 T3

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 28

<211> 327

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

ES 2 531 385 T3

Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

REIVINDICACIONES

1. Formulación farmacéutica que comprende:

5 mAb_hu-selectina P 1 a 50 mg/ml,
tampón de HCl de L-histidina 20 mM, polisorbato al 0,02%,
trehalosa 240 mM,
a pH 6,0,

10 en la que el mAb_hu-selectina P es un anticuerpo contra la selectina P que comprende el dominio variable de
cadena ligera definido por la secuencia de aminoácidos SEC ID nº 3 y el dominio variable de cadena pesada definido
por SEC ID nº 4.

15 2. Formulación según la reivindicación 1, que es una formulación líquida o una formulación liofilizada o una
formulación líquida reconstituida a partir de una formulación liofilizada.

3. Formulación según la reivindicación 1 ó 2 para la utilización en el tratamiento del asma o alergias.