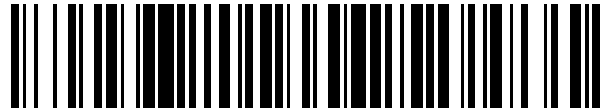


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 557 494**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)  
**C07K 16/28** (2006.01)  
**C07K 16/24** (2006.01)  
**A01K 67/027** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.04.2009 E 09738147 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.09.2015 EP 2279001**

54 Título: **Inhibidores de GM-CSF e IL-17 para terapia**

30 Prioridad:

**29.04.2008 US 125880 P**

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

**26.01.2016**

73 Titular/es:

**AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH (100.0%)  
Staffelseestrasse 2  
81477 München, DE**

72 Inventor/es:

**PLATER-ZYBERK, CHRISTINE**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**ES 2 557 494 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

Inhibidores de GM-CSF e IL-17 para terapia

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto neutralizante de GM-CSF y un compuesto neutralizante de IL-17 como se define en las reivindicaciones para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

Se ha demostrado recientemente que el factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), identificado inicialmente como un factor de crecimiento hematopoyético, es una citocina importante en la inflamación y la autoinmunidad. Los niveles elevados de proteína o ARNm GM-CSF se miden en varias localizaciones inflamatorias incluyendo en pacientes alérgicos y psoriásicos, pacientes artríticos y asmáticos.

Numerosos estudios *in vivo* han demostrado durante los últimos años que el bloqueo de GM-CSF por medio de anticuerpos neutralizantes puede evitar o incluso curar enfermedades proinflamatorias en diversos modelos de inflamación incluyendo modelos para artritis encefalitis autoinmunitaria experimental, psoriasis y enfermedad pulmonar, el GM-CSF desempeña un papel importante en la inmunidad innata estimulando la proliferación y activación de macrófagos y neutrófilos maduros. Además, se ha demostrado un papel clave para GM-CSF en la presentación de antígenos rigiendo la diferenciación y maduración de células dendríticas *in vitro*. *In vivo*, se ha informado de que el GM-CSF induce de forma preferente citocinas proinflamatorias de tipo 1 por PBMC humanas, linfocitos T y APC. El documento WO2006/111353 divulga anticuerpos neutralizantes frente a GM-CSF y su uso en enfermedades inflamatorias.

La interleucina-17 (IL-17) es una familia de citocinas del sistema inmunitario adquirido, que consiste en la actualidad en seis miembros, de IL-17A a IL-17F. Se describe que la IL-17 se une a receptores de IL-17, una familia que comprende en la actualidad cinco miembros, de IL-17RA a IL-17RE, que comparten una homología de secuencia considerable entre sí. Los miembros de la familia de receptores de IL-17 son proteínas transmembranarias de tipo I. En la actualidad, en general, se acepta que los receptores para IL-17 se expresan abundantemente por todas las células del sistema inmunitario, y la estimulación de varios tipos de células con A IL-17, IL-17F e IL-17D puede inducir la expresión de otras citocinas como IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  e IL-6, y las quimiocinas IL-8 y MIP-1 $\alpha$ . Al contrario que sus receptores, la IL-17 se produce principalmente por la célula Th17 recientemente descubierta, y su expresión se ha relacionado frecuentemente con la infección y la autoinmunidad. El documento WO2006/066088 muestra que IL-27 suprime la expresión de las citocinas de Th17 IL-17, IL-6 y GM-CSF.

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmunitaria crónica, inflamatoria y sistémica. Aunque la etiología y la patogénesis de la AR aún no se entiende totalmente, la enfermedad se caracteriza por hiperplasia sinovial agresiva (formación de paño sinovial) e inflamación (sinovitis), lo que da lugar a la destrucción progresiva del hueso y cartílago articular. La artritis reumatoide (AR) resulta de interacciones complejas entre muchos tipos de células y factores que pertenecen a tanto a la parte innata como adquirida del sistema inmunitario. Por ejemplo, se ha informado de que se observa un incremento general de la expresión de diferentes citocinas en pacientes con AR, es decir, niveles mucho mayores de IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-10, IL-13, IFN $\gamma$ , G-CSF, GM-CSF, MCP-1 y MIP-1 $\beta$  en comparación con los controles. Además, IL-1, TNF $\alpha$  e IL-18 se han identificado como factores inflamatorios destacados de estimulación de linfocitos T en AR. Informes publicados han planteado la hipótesis de un papel patógeno para GM-CSF en AR. En apoyo a esta hipótesis están los hallazgos de (i) que se produce GM-CSF en la cápsula sinovial de pacientes con AR y que se pueden medir los niveles elevados de esta citocina en su líquido sinovial; (ii) que el tratamiento con un anticuerpo monoclonal (mAb) anti-GM-CSF neutralizante disminuye la gravedad de la enfermedad en el modelo de ratón inducido por colágeno para artritis (CIA); (iii) que los ratones carentes de GM-CSF tienen una susceptibilidad reducida a la inducción de la enfermedad por colágeno y mBSA; (iv) que la inyección de GM-CSF recombinante a ratones CIA exacerba la enfermedad; y (v) que los pacientes con AR que reciben GM-CSF después de quimioterapia muestran empeoramientos de la gravedad de la artritis.

Aparte de las diferentes citocinas identificadas anteriormente, la IL-17 también parece implicada en la patología de AR debido a que los niveles de IL-17 son elevadas en la cápsula sinovial y el líquido sinovial de AR, y el bloqueo de IL-17 reduce la inflamación y destrucción articular durante la artritis en modelos experimentales. Además, los ratones carentes genéticamente de IL-17 muestran artritis inducida por colágeno reducida, y cuando se cruzan con ratones IL-1Ra $^{-/-}$ , los ratones IL-17 $^{-/-}$  carecen completamente de la aparición espontánea de poliartritis observada normalmente en ratones Balb/c carentes del antagonista del receptor de IL-1. También se ha informado de que la coestimulación local con IL-17 más TNF $\alpha$  en experimentos con ratones *in vivo* provocó una acumulación dependiente de GM-CSF de neutrófilos en las vías respiratorias por medio de efectos tanto sobre el reclutamiento como la supervivencia de neutrófilos.

Uno de los modelos usado para investigar una enfermedad similar a AR humana en ratones es la artritis de la pared celular estreptocócica (SCW). En este modelo, se puede inducir tanto una enfermedad aguda como una artritis recidivante crónica por inyección intraarticular (i.a) de fragmentos de la pared celular bacteriana en una articulación de rodilla de los ratones. Se obtiene una artritis aguda, en la que la inmunidad innata desempeña el principal papel patógeno, por una única inyección de fragmentos de SCW en las articulaciones de la rodilla de ratones no sometidos previamente a experimentación. Por inyección i.a. repetida de fragmentos de SCW, se establece un modelo

recidivante crónico en el que los mediadores de inmunidad adquirida asumen gradualmente la dominancia inicial de la respuesta innata. La artritis inducida por colágeno (CIA) es otro modelo de artritis ampliamente aceptado basado la reactividad autoinmunitaria mediada por anticuerpos y linfocitos T frente al colágeno del cartílago de tipo II (CII). Este modelo de ratón comparte varios rasgos clínicos, histopatológicos e inmunológicos con la AR humana, y se caracteriza principalmente por inflamación sinovial seguido de erosiones de hueso y cartílago graves. Los presentes inventores exploraron la eficacia terapéutica de la neutralización de GM-CSF en el modelo de artritis de SCW crónica independiente de TNF $\alpha$  y el modelo de CIA dependiente de TNF $\alpha$ . Además, se ha estudiado el efecto del bloqueo de la inmunidad tanto innata como adaptiva inhibiendo las rutas de GM-CSF e IL-17. Esto se realiza neutralizando el GM-CSF en ratones carentes genéticamente del receptor de IL-17 (ratones IL-17R-KO) o por tratamiento de combinación con compuestos neutralizantes de GM-CSF e IL-17. Los inventores observaron sorprendentemente que ambos tipos de enfermedades inflamatorias se pueden tratar de un modo altamente eficaz, por el bloqueo combinado de las rutas de GM-CSF e IL-17. En el modelo de CIA, la administración combinada de un compuesto inhibidor de GM-CSF y un compuesto inhibidor de IL-17 redujo significativamente las puntuaciones clínicas de artritis inducida por colágeno, mientras que el tratamiento con el compuesto inhibidor de GM-CSF o el compuesto inhibidor de IL-17 solo no disminuyó significativamente la gravedad de la artritis. Además, un análisis histológico detallado demostró el efecto sinérgico del tratamiento de combinación sobre la inflamación articular y la destrucción de cartílago y hueso. Por tanto, el bloqueo combinado de ambas rutas dio como resultado una protección altamente eficaz contra la inflamación y la destrucción articular. Estos resultados fueron particularmente sorprendentes ya que, hasta muy recientemente, se planteó la hipótesis de que el GM-CSF se encuentra corriente abajo de IL-17 (véase, por ejemplo, Kawaguchi M. *et al.*, J. Allergy Clin. Immunol. 114 (2004), 444-450; Starnes T. *et al.*, The Journal of Immunology 169 (2002), 642-646; Laan M. *et al.*, Eur. Respir. J. 21 (2003), 387-393). Por lo tanto, no se esperó ningún efecto aditivo o sinérgico de los tratamientos que combinan compuestos neutralizantes de GM-CSF e IL-17. La presente solicitud es la primera en demostrar los efectos ventajosos del bloqueo combinado de IL-17 y GM-CSF *in vivo*. Los datos presentados aquí plantean una observación firme de que el tratamiento anti-GM-CSF en combinación con anti-IL-17 no sólo tiene un efecto terapéutico profundo en la AR sino también en otras situaciones de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, como se define en el presente documento a continuación.

Por tanto, los medios farmacéuticos y medios farmacéuticos para su uso en los procedimientos de la presente invención están particularmente dirigidos al tratamiento de artritis pero también se pueden aplicar a otras enfermedades inflamatorias, incluyendo esclerosis múltiple, psoriasis e inflamación pulmonar tal como asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

#### Definiciones

El término "sujeto", como se usa en el presente documento a lo largo de todo el presente texto, se refiere a un animal. El término "animal" incluye, pero no se limita a, mamíferos tales como animales de laboratorio (roedores, por ejemplo, ratas, cobayas, hámsteres o ratones, primates no humanos, por ejemplo, macaco de Java o mono macaco), animales domésticos o mascotas (por ejemplo, perros o gatos), animales de granja o agropecuarios (por ejemplo, animales bovinos, ovinos, caprinos y porcinos) y/o seres humanos. Preferentemente, el animal es un primate humano o no humano.

El término "GM-CSF", como se usa en el presente documento a lo largo de todo el presente texto, significa GM-CSF de primate tanto humano (*Homo sapiens*) como no humano, como se define en la literatura, e incluye variantes (homólogos) del mismo. El término también incluye el receptor de GM-CSF de primate humano y no humano, y variantes (homólogos) del mismo. Las variantes especialmente preferentes (homólogos) del receptor de GM-CSF de primate no humano o GM-CSF de primate no humano incluyen las del mono gibón (*Nomascus concolor*, también conocido como el gibón de cresta negra) y de monos de la familia *Macaca*, por ejemplo, el macaco de la India (*Macaca mulatta*) y de macaco de Java (*Macaca fascicularis*).

El término "anticuerpo de unión a GM-CSF o a receptor de GM-CSF", o un fragmento funcional del mismo, como se usa en el presente documento a lo largo de todo el presente texto, incluye cualquier anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tenga la capacidad para unirse a GM-CSF o receptor de GM-CSF de un animal. En particular, incluye cualquier anticuerpo, o fragmento del mismo, que presente reactividad cruzada (con respecto a la unión a GM-CSF o receptor de GM-CSF) entre ser humano y al menos una de las especies de mono mencionadas anteriormente. Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento del mismo, se puede unir a (y neutralizar) tanto el GM-CSF humano como el GM-CSF del macaco de Java (*Macaca fascicularis*). Esto es especialmente ventajoso para una molécula de anticuerpo que está destinada a la administración terapéutica en sujetos humanos, puesto que dicho anticuerpo tendrá que proseguir normalmente a través de una multitud de pruebas antes de la autorización reguladora, de la que determinadas pruebas preliminares implican especies animales no humanas. En la realización de estas pruebas, en general, es deseable el uso como especie no humana de una especie que lleva un alto grado de similitud genética con los seres humanos (por ejemplo, primates no humanos tales como macaco de Java), puesto que los resultados obtenidos de este modo serán, en general, altamente predictivos de los resultados correspondientes que se pueden esperar cuando se administre la misma molécula a los seres humanos. Sin embargo, dicho poder predictivo basado en pruebas en animales depende al menos parcialmente de la comparabilidad de la molécula, y es muy alta si, debido a una reactividad de especie cruzada, la misma molécula terapéutica se puede administrar a seres humanos y animales no humanos. En consecuencia, si una molécula de anticuerpo es reactiva de forma cruzada para el mismo antígeno en seres humanos y en otra especie, se pueden realizar pruebas usando la misma molécula de anticuerpo en seres

humanos y en la otra especie, por ejemplo, en una de las especies de mono mencionadas anteriormente. Esto incrementa tanto la eficacia de las propias pruebas como el poder predictivo de dichas pruebas con respecto al comportamiento de dichos anticuerpos en seres humanos, la especie fundamental de interés desde un punto de vista terapéutico.

- 5 El término "anticuerpo de unión a GM-CSF o a receptor de GM-CSF", como se usa en el presente documento a lo largo de todo el presente texto, también incluye anticuerpos monoclonales para GM-CSF o receptor de GM-CSF, o un fragmento funcional de los mismos que tenga dicha capacidad de unión.

10 Un primer aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto neutralizante de GM-CSF (en resumen: compuesto inhibidor de GM-CSF) y un compuesto neutralizante de IL-17 (en resumen: compuesto inhibidor de IL-17), en la que el compuesto neutralizante de GM-CSF es un anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a GM-CSF, y en la que el compuesto neutralizante de IL-17 es un anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a IL-17 para su uso en un procedimiento para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria en un sujeto que padece la enfermedad inflamatoria. Los compuestos pueden ser parte de una composición, o pueden ser productos farmacéuticos separados, dependiendo de parámetros bien conocidos para el experto en la técnica.

15 Los modos de realización preferentes del procedimiento son los siguientes:

- (a) Un procedimiento, en el que el compuesto neutralizante de GM-CSF se administra al sujeto antes o después del compuesto neutralizante de IL-17 o un procedimiento en el que ambos compuestos se administran simultáneamente;
- 20 (b) Un procedimiento de acuerdo con el primer aspecto de la invención o de acuerdo con (a), en el que el sujeto tratado es un animal como se define anteriormente;
- (d) Un procedimiento, en el que el anticuerpo o un fragmento funcional del mismo de unión a GM-CSF es un anticuerpo monoclonal o un fragmento funcional del mismo.
- (e) Un procedimiento de acuerdo con (d), en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano o un fragmento funcional del mismo;
- 25 (f) Un procedimiento de acuerdo con (d) o (e), en el que el anticuerpo o el fragmento funcional del mismo se une a un epítipo de GM-CSF de primate humano **y** no humano. Preferentemente, el epítipo es un epítipo discontinuo de GM-CSF de primate humano **y** no humano, comprendiendo el epítipo preferentemente los aminoácidos 23-27 (RRLLN) y/o aminoácidos 65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL). La variabilidad en la posición 67 dentro del tramo de la secuencia de aminoácidos 65-77 refleja la heterogeneidad en esta posición de GM-CSF entre, por un lado, GM-CSF de humano y de gibón (en donde la posición 67 es R) y, por otro lado, de monos de la familia *Macaca*, por ejemplo, macaco de Java y macaco de la India (en donde la posición 67 es Q);
- 30 (g) Un procedimiento de acuerdo con (f), en el que dicho epítipo discontinuo comprende además los aminoácidos 28-31 (LSRD), aminoácidos 32-33 (TA), y/o aminoácidos 21-22 (AE);
- (h) Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de (e), (f) y (g), en el que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena pesada una CDR3 que comprende cualquiera de las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NO: 1-13 o 56;
- 35 (i) Un procedimiento de acuerdo con (h), en el que cualquiera de dichas secuencias de CDR3 de región variable de la cadena pesada existe conjuntamente en una región variable de la cadena pesada con la secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada establecida en SEQ ID NO: 14 y la secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada establecida en SEQ ID NO: 15;
- 40 (j) Un procedimiento de acuerdo con (h) o (i), en el que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena ligera una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 16, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 17, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 18;
- 45 (k) Un procedimiento de acuerdo con (j), en el que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende además en su región variable de la cadena ligera una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 19, 54 y 55;
- (l) Un procedimiento de acuerdo con (h) o (i), en el que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena pesada una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 20-33, 52 o 53;
- 50 (m) Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de (h) a (l), en el que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena ligera una CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 16, una CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 17 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se

establece en la SEQ ID NO: 18, y en su región variable de la cadena pesada una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 14, una región CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 15 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 1-13 o 56;

5 (n) Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de (h) a (m), en el que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera como se establece en las SEQ ID NO: 34 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 35-48;

10 (o) Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de (h) a (n), en el que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende una secuencia de aminoácidos que lleva una homología de al menos un 70 % con la secuencia de aminoácidos respectiva como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 1-48 y/o 52-56. La homología se determina por programas de alineación de secuencias estándar tales como Vector NTI (InforMax™, Mariland, EE. UU.). Dichos programas comparan secuencias alineadas sobre una base de aminoácido-por-aminoácido, y se pueden ajustar a diversos niveles de restricción para la comparación (por ejemplo aminoácido idéntico, sustitución de aminoácidos conservadora, etc.). Tal como se usa el término en el presente documento, se considera que dos aminoácidos son "sustituciones conservadoras" uno de otro, si cada uno pertenece a la misma clase química, es decir, ácido, apolar, polar no cargado y básico. A modo de ejemplo no limitante, dos aminoácidos diferentes que pertenecen a la clase de aminoácidos apolares se considerarían "sustituciones conservadoras" uno de otro, incluso si estos dos aminoácidos no fueran idénticos, mientras que un aminoácido apolar por un lado y un aminoácido básico por otro no se considerarían "sustituciones conservadoras" uno de otro. El panel 3.1 de "Molecular Biology of the Cell", 4ª edición (2002), por Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts y Walter, agrupa los aminoácidos en cuatro grupos principales: ácido, apolar, polar no cargado y básico. Dicha agrupación se puede usar con el propósito de determinar, para los propósitos de la presente invención, si un aminoácido particular es o no una sustitución conservadora de otro aminoácido en cuestión;

25 (q) Un procedimiento, en el que el anticuerpo o un fragmento funcional del mismo de unión a IL-17 es un anticuerpo monoclonal o un fragmento funcional del mismo.

(r) Un procedimiento de acuerdo con (q), en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano o un fragmento funcional del mismo; y

30 (s) Un procedimiento de acuerdo con el primer aspecto de la invención o de acuerdo con cualquiera de (a) a (r), en el que la enfermedad inflamatoria es artritis reumatoide (AR) incluyendo AR que es resistente al tratamiento con neutralizantes de TNF-alfa, asma, esclerosis múltiple (EM), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fibrosis pulmonar idiopática (FPI), enfermedad inflamatoria intestinal (EII), enfermedad de Crohn, uveítis, degeneración macular, colitis, psoriasis, degeneración walleriana, síndrome antifosfolipídico (SAF), síndrome coronario agudo, restinosis, aterosclerosis, policondritis recidivante (PR), hepatitis aguda o crónica, implantes ortopédicos fracasados, glomerulonefritis, lupus u otro trastorno autoinmunitario.

35 Un segundo aspecto descrito en el presente documento se refiere al compuesto neutralizante de GM-CSF y al compuesto neutralizante de IL-17 como se define en el presente documento para su uso en un procedimiento para el tratamiento de una enfermedad tumoral en un sujeto que padece la enfermedad tumoral. Los compuestos pueden ser parte de una composición, o pueden ser productos farmacéuticos separados, dependiendo de parámetros bien conocidos para el experto en la técnica.

40 Un tercer aspecto de la invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto neutralizante de GM-CSF (en resumen: compuesto inhibidor de GM-CSF) y un compuesto neutralizante de IL-17- (en resumen: compuesto inhibidor de IL-17), en la que el compuesto neutralizante de GM-CSF es un anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a GM-CSF, y en la que el compuesto neutralizante de IL-17 es un anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a IL-17 para su uso en medicina y/o veterinaria, en particular para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria o una enfermedad tumoral en un ser humano y/o en un animal como se define anteriormente. Los modos de realización preferentes de la composición de acuerdo con el tercer aspecto de la invención son como sigue.

45 (b) Una composición, en la que el anticuerpo o un fragmento funcional del mismo de unión a GM-CSF es un anticuerpo monoclonal o un fragmento funcional del mismo.

(c) Una composición de acuerdo con (b), en la que el anticuerpo o el fragmento funcional del mismo es un anticuerpo monoclonal humano o un fragmento funcional del mismo;

50 (d) Una composición de acuerdo con (b) o (c), en la que el anticuerpo o el fragmento funcional del mismo se une a un epítipo de GM-CSF de primate humano y no humano. Preferentemente, el epítipo es un epítipo discontinuo de GM-CSF de primate humano y no humano, comprendiendo el epítipo preferentemente los aminoácidos 23-27 (RRLLN) y/o aminoácidos 65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL);

- (e) Una composición de acuerdo con (d), en la que dicho epítipo discontinuo comprende además los aminoácidos 28-31 (LSRD), aminoácidos 32-33 (TA), y/o aminoácidos 21-22 (AE);
- 5 (f) Una composición de acuerdo con cualquiera de (c), (d) y (e), en la que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena pesada una CDR3 que comprende cualquiera de las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NO: 1-13 o 56;
- (g) Una composición de acuerdo con (f), en la que cualquiera de dichas secuencias de CDR3 de región variable de la cadena pesada existe conjuntamente en una región variable de la cadena pesada con la secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada establecida en SEQ ID NO: 14 y la secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada establecida en SEQ ID NO: 15;
- 10 (h) Una composición de acuerdo con (f) o (g), en la que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena ligera una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 16, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 17, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 18;
- 15 (i) Una composición de acuerdo con (h), en la que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende además en su región variable de la cadena ligera una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 19, 54 y 55;
- (j) Una composición de acuerdo con (f) o (g), en la que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena pesada una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 20-33, 52 o 53;
- 20 (k) Una composición de acuerdo con cualquiera de (f) a (j), en la que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena ligera una CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 16, una CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 17 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 18, y en su región variable de la cadena pesada una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 14, una región CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 15 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 1-13 o 56;
- 25 (l) Una composición de acuerdo con cualquiera de (f) a (k), en la que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera como se establece en las SEQ ID NO: 34 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 35-48;
- 30 (m) Una composición de acuerdo con cualquiera de (f) a (l), en la que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende una secuencia de aminoácidos que lleva una homología de al menos un 70 % con la secuencia de aminoácidos respectiva como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 1-48 y/o 52-56. La homología se define aquí como en el párrafo precedente con relación al primer aspecto de la presente invención, modo de realización (o);
- 35 (n) Una composición de acuerdo con cualquiera de (a) a (m), en la que el compuesto inhibidor de IL-17 es un polipéptido, un peptidomimético, un ácido nucleico o una molécula pequeña;
- (o) Una composición de acuerdo con (n), en la que el polipéptido es un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo de unión a IL-17 o al receptor de IL-17; preferentemente, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal o un fragmento funcional del mismo;
- 40 (p) Una composición de acuerdo con (o), en la que el anticuerpo o el fragmento funcional del mismo es un anticuerpo monoclonal humano o un fragmento funcional del mismo, respectivamente;
- (q) Una composición de acuerdo con cualquiera de (a) a (p), en la que dicha composición es para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria y/o una enfermedad tumoral, en particular, en la que la enfermedad inflamatoria es artritis reumatoide (AR) incluyendo AR que es resistente al tratamiento con neutralizantes de TNF-alfa, asma, esclerosis múltiple (EM), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fibrosis pulmonar idiopática (FPI), enfermedad inflamatoria intestinal (EII), enfermedad de Crohn, uveítis, degeneración macular, colitis, psoriasis, degeneración walleriana, síndrome antifosfolipídico (SAF), síndrome coronario agudo, restinosis, aterosclerosis, policondritis recidivante (PR), hepatitis aguda o crónica, implantes ortopédicos fracasados, glomerulonefritis, lupus o un trastorno autoinmunitario, y/o la enfermedad tumoral es un cáncer tal como leucemia, mieloma múltiple, carcinoma gástrico o carcinoma cutáneo.
- 45 Un cuarto aspecto de la invención puede ser el uso combinado de un compuesto inhibidor de GM-CSF y un compuesto inhibidor de IL-17 como se define en el presente documento en la fabricación de un producto farmacéutico para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y enfermedades tumorales, como se especifica además anteriormente. En
- 55

- consecuencia, en un modo de realización preferente del cuarto aspecto de la presente invención, el producto farmacéutico que comprende el compuesto inhibidor de GM-CSF e IL-17 se puede formular para la administración de (i) en primer lugar el compuesto inhibidor de GM-CSF y en segundo lugar el compuesto inhibidor de IL-17, (ii) en primer lugar el compuesto inhibidor de IL-17 y en segundo lugar el compuesto inhibidor de GM-CSF, y (iii) el compuesto inhibidor de GM-CSF y el compuesto inhibidor de IL-17 simultáneamente. En consecuencia, los dos compuestos pueden ser parte de una composición, o pueden ser productos farmacéuticos separados, dependiendo de parámetros bien conocidos para el experto en la técnica.
- Los modos de realización preferentes en el caso del uso del compuesto inhibidor de GM-CSF e IL-17 en la fabricación de un producto farmacéutico son los siguientes.
- 5 (a) El sujeto que se va a tratar se ha definido anteriormente;
- (c) el anticuerpo o un fragmento funcional del mismo de unión a GM-CSF es un anticuerpo monoclonal o un fragmento funcional del mismo.
- (d) el anticuerpo o fragmento funcional del mismo, como se define en (c), es un anticuerpo monoclonal humano o un fragmento funcional del mismo;
- 15 (e) el anticuerpo o el fragmento funcional del mismo se une a un epítipo de GM-CSF de primate humano **y** no humano. Preferentemente, el epítipo es un epítipo discontinuo de GM-CSF de primate humano **y** no humano, comprendiendo el epítipo preferentemente los aminoácidos 23-27 (RRLLN) y/o aminoácidos 65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL).
- (f) el epítipo discontinuo comprende además los aminoácidos 28-31 (LSRD), aminoácidos 32-33 (TA), y/o aminoácidos 21-22 (AE);
- 20 (g) el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo de acuerdo con cualquiera de (d), (e) y (f) comprende en su región variable de la cadena pesada una CDR3 que comprende cualquiera de las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID NO: 1-13 o 56;
- (h) El modo de realización (g), en el que cualquiera de dichas secuencias de CDR3 de región variable de la cadena pesada existe conjuntamente en una región variable de la cadena pesada con la secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada establecida en SEQ ID NO: 14 y la secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada establecida en SEQ ID NO: 15;
- 25 (i) El modo de realización (h) o (g), en la que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena ligera una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 16, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 17, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 18;
- 30 (j) El anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo de acuerdo con (i) comprende además en su región variable de la cadena ligera una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 19, 54 y 55;
- (k) El anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo de acuerdo con el modo de realización (h) o (g) comprende en su región variable de la cadena pesada una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 20-33, 52 o 53;
- 35 (l) Cualquiera de los modos de realización (g) a (k), en los que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena ligera una CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO. 16, una CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 17 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 18, y en su región variable de la cadena pesada una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 14, una región CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 15 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 1-13 o 56;
- 40 (m) cualquiera de los modos de realización (g) a (l), en los que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera como se establece en las SEQ ID NO: 34 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 35-48;
- 45 (n) cualquiera de los modos de realización (g) a (m), en los que el anticuerpo monoclonal humano o el fragmento funcional del mismo comprende una secuencia de aminoácidos que lleva una homología de al menos un 70 % con la secuencia de aminoácidos respectiva como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 1-48 y/o 52-56. La homología se determina por programas de alineación de secuencias estándar tales como Vector NTI (InforMax™, Mariland, EE. UU.). Dichos programas comparan secuencias alineadas sobre una base de aminoácido-por-aminoácido, y se pueden ajustar a diversos niveles de restricción para la comparación (por ejemplo
- 50

aminoácido idéntico, sustitución de aminoácidos conservadora, etc.). Tal como se usa el término en el presente documento, se considera que dos aminoácidos son "sustituciones conservadoras" uno de otro, si cada uno pertenece a la misma clase química, es decir, ácido, apolar, polar no cargado y básico. A modo de ejemplo no limitante, dos aminoácidos diferentes que pertenecen a la clase de aminoácidos apolares se considerarían "sustituciones conservadoras" uno de otro, incluso si estos dos aminoácidos no fueran idénticos, mientras que un aminoácido apolar por un lado y un aminoácido básico por otro no se considerarían "sustituciones conservadoras" uno de otro. El panel 3.1 de "Molecular Biology of the Cell", 4ª edición (2002), por Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts y Walter, agrupa los aminoácidos en cuatro grupos principales: ácido, apolar, polar no cargado y básico. Dicha agrupación se puede usar con el propósito de determinar, para los propósitos de la presente invención, si un aminoácido particular es o no una sustitución conservadora de otro aminoácido en cuestión;

(o) cualquiera de los modos de realización (a) a (n), en los que el compuesto inhibidor de IL-17 es un polipéptido, un peptidomimético, un ácido nucleico o una molécula pequeña;

(p) el polipéptido de (o) es un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo de unión a IL-17 o al receptor de IL-17; preferentemente, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal o un fragmento funcional del mismo;

(q) el anticuerpo o fragmento funcional del mismo de (p) es un anticuerpo monoclonal humano o un fragmento funcional del mismo; y

(r) la enfermedad inflamatoria es artritis reumatoide (AR) incluyendo AR que es resistente al tratamiento con neutralizantes de TNF-alfa, asma, esclerosis múltiple (EM), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fibrosis pulmonar idiopática (FPI), enfermedad inflamatoria intestinal (EII), enfermedad de Crohn, uveítis, degeneración macular, colitis, psoriasis, degeneración walleriana, síndrome antifosfolipídico (SAF), síndrome coronario agudo, restinosis, aterosclerosis, policondritis recidivante (PR), hepatitis aguda o crónica, implantes ortopédicos fracasados, glomerulonefritis, lupus o un trastorno autoinmunitario.

Como se menciona anteriormente, el término "IL-17", como se usa en la presente solicitud, se refiere a una familia de citocinas del sistema inmunitario adquirido, que consiste en seis miembros, de IL-17A a IL-17F. La definición del término también comprende herodímeros tales como IL-17A/IL-17F, que se ha informado que se expresan fisiológicamente, por ejemplo, por linfocitos T CD4<sup>+</sup>. Un grupo particularmente preferente de los miembros de la familia IL-17 que se neutraliza de acuerdo con la invención comprende IL-17A, IL-17F e IL-17D. Más preferentemente, los efectos de IL-17A e IL-17F se neutralizan acuerdo con la invención. Puesto que se prefiere el grupo que consiste en IL-17A, IL-17F e IL-17D, también se prefiere neutralizar/inhibir la señalización de un subgrupo de receptores de IL-17 (IL-17R), es decir, la señalización de IL-17RA, IL-17RB e IL-17RC, más preferentemente de IL-17RA e IL-17RC.

El término "se une específicamente" o expresiones relacionadas tales como "unión específica", "unión específicamente", "agente de unión específico", etc., como se usa en el presente documento se refiere a la capacidad del compuesto inhibidor de GM-CSF/IL-17 y preferentemente, el anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo (como se define previamente), para discriminar entre GM-CSF/IL-17 y cualquier número de otros antígenos potenciales diferentes de GM-CSF/IL-17 en un grado tal que, de un conjunto de una pluralidad de diferentes antígenos como compañeros de unión potenciales, sólo se une GM-CSF/IL-17, o se une de forma significativa. Dentro del significado de la invención, GM-CSF/IL-17 se une "significativamente" cuando, de entre un conjunto de una pluralidad de diferentes antígenos igualmente accesibles como compañeros de unión potenciales, GM-CSF/IL-17 se une al menos 10 veces, preferentemente 50 veces, lo más preferentemente 100 veces o más con mayor frecuencia (en sentido cinético) que cualquier otro antígeno diferente de GM-CSF/IL-17. Dichas medidas cinéticas se pueden realizar en un aparato Biacore.

Como se usa en el presente documento, "neutralización", "neutralizante", "neutralizar" y variantes gramaticalmente relacionadas de las mismas se refieren a la atenuación parcial o completa del/de los efecto(s) biológico(s) de GM-CSF/IL-17. Dicha atenuación parcial o completa del/de los efecto(s) biológico(s) de GM-CSF/IL-17 resulta de la modificación, interrupción y/o anulación de los procesos mediados por GM-CSF/IL-17 tales como transducción de señales, como se manifiesta, por ejemplo, en la señalización intracelular, proliferación celular o liberación de sustancias solubles, regulación por incremento o por disminución de la activación génica intracelular, por ejemplo que da como resultado la expresión de receptores de superficie por ligandos distintos de GM-CSF. Como un experto en la técnica entiende, existen múltiples modos de determinar si un agente, por ejemplo, un anticuerpo en cuestión o fragmento funcional del mismo se va a clasificar como neutralizante. Como ejemplo, esto se puede llevar a cabo por una prueba *in vitro* estándar realizada, en general, como sigue: En un primer experimento de proliferación, una línea celular, de la que se sabe que su grado de proliferación depende de la actividad de GM-CSF, se incuba en una serie de muestras con concentraciones variables de GM-CSF, después de esta incubación, se mide el grado de la proliferación de la línea celular. A partir de esta medida, se determina la concentración de GM-CSF que permite la proliferación semimáxima de las células. A continuación, se realiza un segundo experimento de proliferación empleando en cada una de una serie de muestras el mismo número de células que se usó en el primer experimento de proliferación, la concentración determinada anteriormente de GM-CSF y, esta vez, concentraciones variables de un anticuerpo o fragmento funcional del mismo que se sospecha que es un neutralizante de GM-CSF. De nuevo, se mide la proliferación celular para determinar la concentración de anticuerpo o fragmento funcional del mismo suficiente para efectuar una inhibición del crecimiento semimáxima. Si el gráfico resultante de la inhibición del crecimiento frente a la



concentración del anticuerpo (o fragmento funcional del mismo) tiene una forma sigmoidea, dando como resultado una disminución en la proliferación celular con el incremento de la concentración de anticuerpo (o fragmento funcional del mismo), entonces se ha efectuado algún grado de inhibición del crecimiento dependiente de anticuerpo, es decir, se ha neutralizado la actividad de GM-CSF en cierta medida. En un caso de este tipo, el anticuerpo o fragmento funcional del mismo se puede considerar un "neutralizante" en el sentido de la presente invención. Un ejemplo de una línea celular, de la que se sabe que el grado de proliferación depende de la actividad de GM-CSF, es la línea celular TF-1, como se describe en Kitamura, T. *et al.* (1989). *J Cell Physiol* 140, 323-34.

Como un experto en la técnica entiende, el grado de proliferación celular no es el único parámetro por el que se puede establecer la capacidad neutralizante de GM-CSF. Por ejemplo, se puede usar la medida del nivel de moléculas de señalización (por ejemplo, citocinas), de las que su nivel de secreción depende de GM-CSF, para identificar un neutralizante de GM-CSF sospechoso (compuesto inhibidor de GM-CSF). Los correspondientes ajustes experimentales celulares son conocidos por el experto en la técnica para la verificación de los efectos neutralizantes de un compuesto inhibidor de IL-17.

Otros ejemplos de líneas celulares que se pueden usar para determinar si un anticuerpo en cuestión o fragmento funcional del mismo, es un neutralizante de la actividad de GM-CSF, incluyen AML-193 (Lange, B. *et al.* (1987). *Blood* 70, 192-9); GF-D8 (Rambaldi, A. *et al.* (1993). *Blood* 81, 1376-83); GM/SO (Oez, S. *et al.* (1990). *Experimental Hematology* 18, 1108-11); MO7E (Avanzi, G. C. *et al.* (1990). *Journal of Cellular Physiology* 145, 458-64); TALL-103 (Valtieri, M. *et al.* (1987). *Journal of Immunology* 138, 4042-50); UT-7 (Komatsu, N. *et al.* (1991). *Cancer Research* 51, 341-8). Los ejemplos para ensayos basados en líneas celulares/células que se pueden usar para determinar si el compuesto en cuestión, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento funcional del mismo, es un neutralizante de la actividad de IL-17 incluyen un ensayo *in vitro* BEAS-2B de proteínas IL-17 (BEAS-2B, células epiteliales bronquiales humanas (ATCC, CRL-9609) o un ensayo de liberación de IL-6 estándar a partir de fibroblastos (Yao *et al.*, 1995, *Journal of Immunology*, 155, 5483-5486).

Se entiende que una inhibición/neutralización de GM-CSF e IL-17, respectivamente, en línea con la presente invención se puede efectuar fuera de las células que llevan los receptores para estas citocinas o bien en dichas células. Por tanto, la inhibición/neutralización de GM-CSF e IL-17 mediante un compuesto puede ser una inhibición o prevención de la unión de GM-CSF o IL-17 a su receptor específico o bien una inhibición de la señal intracelular inducida por una unión de las citocinas a sus receptores. Los ejemplos para inhibidores/neutralizantes de acción intracelular de la señal de IL-17 comprenden compuestos que bloquean las rutas de señales intracelulares, incluyen inhibidores de JAK/STAT, MAPK p38, NF-kappaB o JNK.

Como se define en el presente documento, los inhibidores de GM-CSF o IL-17 son anticuerpos. El término "polipéptido" como se usa en el presente documento describe un grupo de moléculas, que consisten en más de 30 aminoácidos. De acuerdo con la invención, el grupo de polipéptidos comprende "proteínas" que consisten en un único polipéptido o más de un polipéptido. El término "polipéptido" también describe fragmentos de proteínas siempre que estos fragmentos consistan en más de 30 aminoácidos. Es bien conocido en la técnica que los polipéptidos pueden formar multímeros tales como dímeros, trímeros y oligómeros superiores, es decir, que consisten en más de una molécula polipeptídica. Dichos multímeros también se incluyen en la definición del término "polipéptido". Las moléculas polipeptídicas que forman dichos dímeros, trímeros etc., pueden ser idénticas o no idénticas. Las correspondientes estructuras de orden superior de dichos multímeros se denominan, en consecuencia, homo- o heterodímeros, homo- o heterotrímeros, etc. Un ejemplo para un heteromultímero es una molécula de anticuerpo que, en su forma natural, consiste en dos cadenas polipeptídicas ligeras idénticas y dos cadenas polipeptídicas pesadas idénticas. Los términos "polipéptido" y "proteína" también se refieren a polipéptidos/proteínas con modificación natural o no natural en los que la modificación se efectúa, por ejemplo, por modificaciones postraduccionales como glucosilación, acetilación, fosforilación. Dichas modificaciones son bien conocidas en la técnica.

El término "receptor de GM-CSF" se refiere al receptor de superficie celular fisiológico de GM-CSF, que se describe en la técnica como un heterómero de CD116 y una subunidad beta común ( $\beta c$ ). El término "receptor de IL-17" se refiere a la familia de receptores de superficie celular fisiológicos de las diferentes isoformas de IL-17. Esta familia comprende en la actualidad, entre otras, las isoformas IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD e IL-17RE.

Las técnicas para la producción de anticuerpos son bien conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en Harlow y Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988, y Harlow y Lane "Using Antibodies: A Laboratory Manual" Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999. El término "anticuerpo" comprende inmunoglobulinas (Ig) de diferentes clases (es decir, IgA, IgG, IgM, IgD e IgE) y subclases (tales como IgG1, IgG2, etc.). Los derivados de anticuerpos, que también entran dentro de la definición del término anticuerpo en el significado de la invención, incluyen modificaciones de dichas moléculas como, por ejemplo, glucosilación, acetilación, fosforilación, farnesilación, hidroxilación, metilación o esterificación.

Los anticuerpos no humanos y humanos, o fragmentos funcionales de los mismos, (con especificidad para ambos GM-CSF e IL-17) son preferentemente monoclonales. Es particularmente difícil preparar anticuerpos humanos que son monoclonales. En contraste con las fusiones de linfocitos B murinos con líneas celulares inmortalizadas, las fusiones de linfocitos B humanos con líneas celulares inmortalizadas no son viables. Por tanto, los anticuerpos monoclonales humanos son el resultado de la superación de obstáculos técnicos significativos reconocidos

generalmente que existen en el campo de la tecnología de anticuerpos. La naturaleza monoclonal de los anticuerpos los hace muy particularmente adecuados para su uso como agentes terapéuticos, ya que dichos anticuerpos existirán como una especie molecular homogénea única que puede estar bien caracterizada y preparada de forma reproducible y purificada. Estos factores dan como resultado productos cuyas actividades biológicas se pueden predecir con un alto nivel de precisión, muy importante si dichas moléculas van a obtener la autorización reguladora para su administración terapéutica en seres humanos.

Es especialmente preferente que los anticuerpos monoclonales (o fragmentos funcionales correspondientes) sean anticuerpos humanos (o fragmentos funcionales correspondientes). Al considerar agentes de anticuerpos destinados para su administración terapéutica a seres humanos, es altamente ventajoso que los anticuerpos sean de origen humano. Después de la administración a un paciente humano, un anticuerpo humano o fragmento funcional del mismo muy probablemente no provocará una respuesta inmunogénica fuerte por el sistema inmunitario del paciente, es decir, no se reconocerá como exógeno, esto es, como una proteína no humana. Esto quiere decir que no se generará ningún anticuerpo del huésped, es decir, paciente, frente al anticuerpo terapéutico que pueda bloquear de otro modo la actividad del anticuerpo terapéutico y/o acelerar la eliminación del anticuerpo terapéutico del cuerpo del paciente, evitando así que ejerza su efecto terapéutico deseado.

El término anticuerpo "humano", como se usa en el presente documento se debe entender que quiere decir que el anticuerpo con cualquier especificidad, o su fragmento funcional, comprende (una) secuencia(s) de aminoácidos contenida(s) en el repertorio de anticuerpos de la línea germinal humana. Para los propósitos de definición en el presente documento, un anticuerpo, o su fragmento, por lo tanto, se puede considerar humano si consiste en dicha (una) secuencia(s) de aminoácidos de la línea germinal humana, es decir, si la(s) secuencia(s) de aminoácidos del anticuerpo en cuestión o fragmento funcional del mismo es(son) idéntica(s) a (una) secuencia(s) de aminoácidos de la línea germinal humana expresada(s). Un anticuerpo o fragmento funcional del mismo también se puede considerar humano si consiste en (una) secuencia(s) que se desvía(n) de su(s) secuencia(s) de línea germinal humana más próxima(s) no más de lo que se podría esperar debido al sello de hipermutación somática. Adicionalmente, los anticuerpos de muchos mamíferos no humanos, por ejemplo, roedores tales como ratones y ratas, comprenden secuencias de aminoácidos de CDR3 de VH que se puede esperar que existan en el repertorio de anticuerpos humanos expresados, además. Cualquiera de dicha(s) secuencia(s) de origen humano o no humano que se puede esperar que exista en el repertorio humano expresado también se podría considerar "humana" para los propósitos de la presente invención.

De acuerdo con un modo de realización preferente de la invención, el anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo que se va a utilizar con propósitos farmacéuticos presenta reactividad cruzada entre especies tanto humana como al menos una especie de mono. También se prefiere la misma reactividad de especie cruzada para todos los demás compuestos neutralizantes/inhibidores (distintos de anticuerpo o no derivados de anticuerpo) de GM-CSF y/o IL-17. Puesto que los productos farmacéuticos tendrán que proseguir normalmente a través de una multitud de pruebas antes de la autorización reguladora, de las que determinadas pruebas preliminares implican especies animales no humanas, dichos anticuerpos reactivos de forma cruzada son muy útiles. En la realización de estas pruebas, en general, es deseable el uso como especie no humana de una especie que lleva un alto grado de similitud genética con los seres humanos, puesto que los resultados obtenidos de este modo serán, en general, altamente predictivos de los resultados correspondientes que se pueden esperar cuando se administre la misma molécula a los seres humanos. Sin embargo, dicho poder predictivo basado en pruebas en animales depende al menos parcialmente de la comparabilidad de la molécula, y es muy alta cuando, debido a una reactividad de especie cruzada, la misma molécula terapéutica se puede administrar a seres humanos y modelos animales. Como en el modo de realización, cuando una molécula de anticuerpo es reactiva de forma cruzada para el mismo antígeno en seres humanos como en otra especie estrechamente relacionada, se pueden realizar pruebas usando la misma molécula de anticuerpo en seres humanos como en esta especie estrechamente relacionada, por ejemplo, en una especie de mono mencionada anteriormente. Esto incrementa tanto la eficacia de las propias pruebas como el poder predictivo permitido por dichas pruebas con respecto al comportamiento de dichos anticuerpos en seres humanos, la especie fundamental de interés desde un punto de vista terapéutico. Lo mismo es cierto para modos de realización alternativos con compuestos neutralizantes/inhibidores, que no sean anticuerpos (o no sean derivados de anticuerpos).

De acuerdo con otro modo de realización de la invención, el anticuerpo monoclonal humano puede ser un anticuerpo IgG. Una IgG comprende no sólo las regiones de anticuerpo variables responsables del reconocimiento de y la unión a antígeno altamente discriminatorios, sino también las regiones constantes de las cadenas polipeptídicas de anticuerpo pesada y ligera normalmente presentes en anticuerpos producidos de forma endógena y, en algunos casos, incluso la decoración en uno o más sitios con carbohidratos. Dicha glucosilación, en general, es una señal distintiva del formato de IgG, y las porciones de estas regiones constantes componen la denominada región Fc de un anticuerpo completo que se sabe que provoca diversas funciones efectoras *in vivo*. Además, la región Fc media en la unión de IgG al receptor Fc, prolongando por tanto la semivida *in vivo* así como facilitando la migración dirigida de la IgG a posiciones con un incremento en la presencia del receptor Fc (tejido inflamado, por ejemplo). De forma ventajosa, el anticuerpo IgG es un anticuerpo IgG1 o un anticuerpo IgG4, formatos que se prefieren puesto que su mecanismo de acción *in vivo* está particularmente bien entendido y caracterizado. Este es especialmente el caso para los anticuerpos IgG1.

De acuerdo con otro modo de realización de la invención, el fragmento funcional del anticuerpo monoclonal humano puede ser un scFv, un anticuerpo de dominio único, un Fv, un anticuerpo VHH, un diacuerpo, un diacuerpo en tándem,

un Fab, un Fab' o un F(ab)<sub>2</sub>. En general, estos formatos se pueden dividir en dos subclases, a saber, las que consisten en una única cadena polipeptídica, y las que comprenden al menos dos cadenas polipeptídicas. Los miembros de la primera subclase incluyen un scFv (que comprende una región VH y una región VL unidas en una única cadena polipeptídica por medio de un enlazador polipeptídico); un anticuerpo de dominio único (que comprende una única región variable de anticuerpo) tal como un anticuerpo VHH (que comprende una única región VH). Los miembros de la segunda subclase incluyen un Fv (que comprende una región VH y una región VL como cadenas polipeptídicas separadas que están asociadas de forma no covalente entre sí); un diacuerpo (que comprende dos cadenas polipeptídicas asociadas de forma no covalente, de las que cada una comprende dos regiones variables de anticuerpo (normalmente una VH y una VL por cadena polipeptídica) estando dispuestas las dos cadenas polipeptídicas en una conformación de cabeza a cola de modo que resulta una molécula de anticuerpo bivalente); un diacuerpo en tándem (anticuerpos Fv monocatenarios biespecíficos que comprenden cuatro regiones (VH y VL) variables de inmunoglobulina unidas de forma covalente de dos especificidades diferentes, formando un homodímero que es dos veces más grande que el diacuerpo descrito anteriormente); un Fab (que comprende como una cadena polipeptídica una cadena ligera de anticuerpo completa, comprendiendo en sí misma una región VL y la región constante de cadena ligera completa y, como otra cadena polipeptídica, una parte de una cadena pesada de anticuerpo que comprende una región VH completa y parte de la región constante de la cadena pesada, estando conectadas intermolecularmente dichas dos cadenas polipeptídicas por medio de un enlace disulfuro intercatenario); un Fab' (como un Fab, anterior, excepto con enlaces disulfuro reducidos adicionales comprendidos en la cadena pesada de anticuerpo); y un F(ab)<sub>2</sub> (que comprende dos moléculas Fab', estando enlazada cada molécula Fab' a la molécula Fab' respectiva por medio de enlaces disulfuro intercatenarios). En general, los fragmentos de anticuerpo funcionales del tipo descrito anteriormente en el presente documento permiten gran flexibilidad en su adaptación, por ejemplo, las propiedades farmacocinéticas de un anticuerpo deseado para su administración terapéutica a las exigencias particulares en cuestión. Por ejemplo, puede ser deseable reducir el tamaño del anticuerpo administrado para incrementar el grado de penetración en el tejido cuando se tratan tejidos que se sabe que son poco vascularizados (por ejemplo, articulaciones). Bajo algunas circunstancias, también puede ser deseable incrementar la tasa a la que se elimina el anticuerpo terapéutico del organismo, siendo acelerable dicha velocidad, en general, disminuyendo el tamaño del anticuerpo administrado. Un fragmento de anticuerpo se define como un fragmento de anticuerpo funcional en el contexto de la invención siempre que el fragmento mantenga las características de unión específicas para el epítipo/diana del anticuerpo original, es decir, siempre que se una específicamente a GM-CSF o IL-17, respectivamente.

De acuerdo con otro modo de realización de la invención, dicho anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo puede estar presente en formas mono-específica monovalente; mono-específica multivalente, en particular mono-específica bivalente; o multiespecífica multivalente, en particular biespecífica bivalente. En general, un anticuerpo mono-específico multivalente, en particular mono-específico bivalente tal como una IgG humana completa como se describe anteriormente en el presente documento puede llevar consigo la ventaja terapéutica de que la neutralización efectuada por un anticuerpo de este tipo se potencia por efectos de avidéz, es decir, la unión por el mismo anticuerpo a múltiples moléculas del mismo antígeno, aquí GM-CSF/IL-17. Varias formas mono-específicas monovalentes de fragmentos de anticuerpos se han descrito anteriormente (por ejemplo, un scFv, un Fv, un VHH o un anticuerpo de dominio único). Las formas multiespecíficas multivalente, en particular biespecíficas bivalentes del anticuerpo anti-GM-CSF/IL-17 monoclonal humano pueden incluir una IgG completa en la que un brazo de unión se une a GM-CSF/IL-17 de primate no humano mientras que su otro brazo de unión se une a otro antígeno diferente de GM-CSF/IL-17. Otra forma multiespecífica multivalente, en particular biespecífica bivalente puede ser ventajosamente un anticuerpo biespecífico monocatenario humano, es decir, una construcción de anticuerpo humano recombinante que comprende dos entidades de scFv como se describe anteriormente, conectadas en una cadena polipeptídica contigua por un espaciador polipeptídico interpuesto corto como se conoce en general en la técnica (véase, por ejemplo, el documento WO 99/54440 para un anticuerpo monocatenario biespecífico anti-CD 19 x anti-CD3). Aquí, una porción scFv de anticuerpo monocatenario biespecífico comprendida dentro del anticuerpo monocatenario biespecífico se unirá específicamente a GM-CSF/IL-17 como se expone anteriormente, mientras que la otra porción scFv respectiva de este anticuerpo monocatenario biespecífico se unirá a otro antígeno que se determina que tiene beneficio terapéutico. Una alternativa preferente es en la que el anticuerpo monocatenario biespecífico se unirá específicamente a GM-CSF como se expone anteriormente, mientras que la otra porción scFv respectiva de este anticuerpo monocatenario biespecífico se unirá a IL-17.

De acuerdo con otro modo de realización, los anticuerpos monoclonales humanos inhibidores o fragmentos funcionales de los mismos se pueden derivatizar, por ejemplo con un polímero orgánico, por ejemplo con una o más moléculas de polietilenglicol ("PEG") y/o polivinilpirrolidona ("PVP"). Como es conocido en la técnica, dicha derivatización puede ser ventajosa en la modulación de las propiedades farmacodinámicas de los anticuerpos o fragmentos funcionales de los mismos. Especialmente preferentes son las moléculas de PEG derivatizadas como PEG-maleimida, que permiten la conjugación con el anticuerpo o fragmento funcional del mismo de manera específica de sitio por medio del grupo sulfhidrilo de un aminoácido cisteína. De estas, especialmente preferentes son la PEG-maleimida de 20 kD y/o 40 kD, en forma de cadena lineal o bien ramificada. Puede ser especialmente ventajoso incrementar el peso molecular eficaz de fragmentos de anticuerpo anti-GM-CSF/IL-17 humano más pequeños tales como fragmentos scFv acoplando el último a una o más moléculas de PEG, en especial PEG-maleimida.

Como se usa en el presente documento, la numeración de GM-CSF humano y de primate no humano se refiere a la de GM-CSF maduro, es decir, GM-CSF sin su secuencia señal de 17 aminoácidos (la longitud total de GM-CSF maduro

en especies tanto humana como de primate no humano descrita anteriormente es de 127 aminoácidos). La secuencia de GM-CSF humano (SEQ ID NO. 57) y GM-CSF de gibón (SEQ ID NO. 58) es como sigue:

APARSPSPST QPWEHVNAIQ EARRLLNLSR DTAAEMNETV EVISEMFDLQ  
 EPTCLQTRLE LYKQGLRGSL **TKLKGPLTMM** ASHYKQHCPP TPETSCATQI  
 ITFESFKENL KDFLLVIPFD CWEPVQE

5 La secuencia de GM-CSF en determinados miembros de la familia *Macaca* tales como, por ejemplo, macaco de la India (SEQ ID NO. 59) y macaco de Java (SEQ ID NO. 60) es como sigue:

APARSPSPGT QPWEHVNAIQ EARRLLNLSR DTAAEMNKTV EVVSEMFDLQ  
 EPSCLQTRLE LYKQGLQGS **TKLKGPLTMM** ASHYKQHCPP TPETSCATQI  
 ITFQSFKENL KDFLLVIPFD CWEPVQE

10 El epítipo mínimo, ventajosamente un epítipo discontinuo, unido por el anticuerpo monoclonal humano (o fragmento funcional del mismo) como se describe anteriormente se indica en la secuencia de GM-CSF anterior en negrita. Como se usa en el presente documento, el término "epítipo discontinuo" se debe entender como al menos dos tramos de secuencia de aminoácidos no adyacentes dentro de una cadena polipeptídica dada, aquí GM-CSF humano y de primate no humano maduro, que se unen simultánea y específicamente por un anticuerpo. De acuerdo con esta definición, dicha unión específica simultánea puede ser del polipéptido de GM-CSF en forma lineal. Aquí, se puede imaginar el polipéptido de GM-CSF maduro formando un bucle prolongado, del que, en una región, las dos secuencias indicadas en negrita anteriormente se alinean, por ejemplo, más o menos en paralelo y en proximidad entre sí. En este estado, se unen específica y simultáneamente por el fragmento de anticuerpo. De acuerdo con esta definición, la unión específica simultánea de los dos tramos de la secuencia de GM-CSF maduro indicada anteriormente, también pueden tomar la forma de unión de anticuerpo a un epítipo conformacional. Aquí, el GM-CSF maduro ya ha formado su conformación terciaria como existe normalmente *in vivo*. En esta conformación terciaria, la cadena polipeptídica de GM-CSF maduro está plegada de tal modo que lleva los dos tramos de secuencia indicados anteriormente, en proximidad espacial, por ejemplo en la superficie exterior de una región particular del GM-CSF plegado maduro, donde a continuación se reconocen en virtud de su conformación tridimensional en el contexto de las secuencias polipeptídicas circundantes.

25 Los anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales humanos preferentes o fragmentos funcionales de los mismos son los que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 1; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 2; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 3; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 4; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 5; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 6; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 7; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 8; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 9; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 14, una secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 15 y una secuencia de CDR3 de región variable de la cadena pesada como se establece en SEQ ID NO: 10; o que comprenden una secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada







Los modos de realización preferentes anteriores proporcionan moléculas de anticuerpo monoclonal humano y/o fragmentos funcionales de los mismos que son especialmente ventajosas como neutralizantes de la actividad de GM-CSF de primate no humano y humano. Los anticuerpos monoclonales humanos o fragmentos funcionales de los mismos de acuerdo con estos modos de realización especialmente preferentes son altamente ventajosos por varios motivos.

En primer lugar, reconocen el GM-CSF de primate no humano y humano de forma altamente específica. Es decir que, a partir de una mezcla de GM-CSF de primate no humano con otros factores estimuladores de colonias de primate no humano (por ejemplo, G-CSF y M-CSF de primate no humano), las moléculas de unión de acuerdo con estos modos de realización especialmente preferentes son altamente discriminatorias para GM-CSF de primate no humano, mientras que los otros factores estimuladores de colonias en el mismo medio no se reconocen. Lo mismo se aplica *mutatis mutandis* a GM-CSF humano. Esto quiere decir que un anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo de acuerdo con estos modos de realización, cuando se administra a un ser humano, se espera que se una específicamente a y que neutralice sólo la diana deseada, mientras que otras dianas no deseadas ni se unen ni se neutralizan. Finalmente, esto da lugar a un alto grado de previsibilidad sobre el modo de acción terapéutica *in vivo*.

En segundo lugar, los agentes de unión de acuerdo con estos modos de realización especialmente preferentes se unen a GM-CSF de primate no humano y humano con afinidad extremadamente alta. Se han observado valores de  $K_D$  de desde aproximadamente  $4 \times 10^{-9}$  M hasta tan solo aproximadamente  $0,04 \times 10^{-9}$  M, correspondiendo el último a aproximadamente 40 pM, para moléculas de esta clase. Puesto que la asociación cinética de dichas moléculas en medio acuoso está mayormente controlada por difusión y, por tanto, no se puede mejorar más allá de lo que permiten las condiciones de difusión locales bajo condiciones fisiológicas, la  $K_D$  baja surge principalmente como resultado de la disociación cinética,  $k_d$ , que, para el agente de unión de anticuerpo de mayor afinidad es de aproximadamente  $10^{-5} \text{ s}^{-1}$ . Esto quiere decir que una vez que se forma el complejo entre un anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo de acuerdo con cualquiera de estos modos de realización, por un lado, y GM-CSF por el otro, no se separa fácilmente, o al menos no lo hace rápidamente. Para moléculas de unión destinadas a servir como neutralizantes de la actividad biológica, estas características son altamente ventajosas puesto que normalmente el efecto neutralizante deseable solo durará mientras que la molécula, a la que se le va a neutralizar la actividad biológica (aquí GM-CSF de primate no humano y humano), permanezca unida por la molécula de unión neutralizante. Por tanto, una molécula neutralizante que permanezca unida a su diana destinada durante un periodo de tiempo largo continuará la neutralización durante un periodo de tiempo largo correspondiente.

La alta afinidad de unión de los anticuerpos monoclonales humanos o fragmentos funcionales de los mismos a GM-CSF de primate no humano y humano tiene una ventaja adicional. Normalmente, los anticuerpos o fragmentos funcionales de los mismos se eliminarán del torrente circulatorio de un paciente de forma dependiente del tamaño, siendo excretadas y eliminadas las moléculas más pequeñas antes que las más grandes. Puesto que el complejo de los dos polipéptidos (anticuerpo o fragmento de anticuerpo y GM-CSF unido) es obviamente más grande que el anticuerpo solo, la  $k_d$  baja mencionada anteriormente tiene el efecto de que el neutralizante terapéutico se excreta y se elimina del cuerpo del paciente más lentamente de lo que sería el caso en el que no se une a GM-CSF. Por tanto, no sólo se incrementa la magnitud de la actividad neutralizante sino también su duración *in vivo*.

La actividad neutralizante determinada para los agentes de unión de acuerdo con los modos de realización anteriores es sorprendentemente alta. Como se describirá con más detalle en el presente documento a continuación, se midió la actividad neutralizante de GM-CSF *in vitro* usando un ensayo de inhibición del crecimiento de TF-1 (Kitamura, T. *et al.* (1989). *J Cell Physiol* 140, 323-34). Como indicación del potencial de neutralización, se midieron valores de  $CI_{50}$ , representando  $CI_{50}$  la concentración del anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo de acuerdo con cualquiera de estos modos de realización requerida para provocar una inhibición semimáxima de la proliferación celular de TF-1. Para los anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales humanos o fragmentos funcionales de los mismos especificados anteriormente, se determinó un valor de  $CI_{50}$  de aproximadamente  $3 \times 10^{-10}$  M, o de aproximadamente 0,3 nM. Las moléculas de unión son, por lo tanto, neutralizantes altamente potentes de la actividad de GM-CSF de primate no humano y humano.

En resumen, entonces, los anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales humanos o fragmentos funcionales de los mismos presentan un alto grado de discriminación para el antígeno deseado, se unen a este antígeno de forma extremadamente fuerte y durante un periodo de tiempo largo y presentan una actividad neutralizante altamente potente durante el periodo de tiempo largo que permanecen unidos. Al mismo tiempo, la larga persistencia del complejo agente de unión-antígeno ralentiza la eliminación de este agente de unión del cuerpo, prolongando así la duración del efecto terapéutico deseado *in vivo*.

También se aplican consideraciones similares para un anticuerpo anti-IL-17 monoclonal neutralizante/inhibidor.

De acuerdo con la invención, el término "composición farmacéutica" se refiere a una composición para su administración a un paciente, preferentemente un paciente humano. Preferentemente, la composición farmacéutica comprende formulaciones adecuadas de vehículos, estabilizantes y/o excipientes. En un modo de realización preferente, la composición farmacéutica comprende una composición para su administración parenteral, transdérmica, intraluminal, intraarterial, intratecal y/o intranasal o por inyección directa en el tejido. Se prevé en particular que dicha composición se administre a un paciente por medio de infusión o inyección. La administración de las composiciones



adecuadas se puede efectuar por diferentes maneras, por ejemplo, por administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, tópica o intradérmica. La composición de la presente invención puede comprender además un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados son bien conocidos en la técnica e incluyen soluciones salinas tamponadas con fosfato, agua, emulsiones, tales como emulsiones de aceite en agua, varios tipos de agentes humectantes, soluciones estériles, liposomas, etc. Las composiciones que comprenden dichos vehículos se pueden formular por procedimientos convencionales bien conocidos. Estas composiciones farmacéuticas se pueden administrar al sujeto en una dosis adecuada. El régimen de dosificación se determinará por el médico especialista y por factores clínicos. Como es bien conocido en la técnica médica, las dosificaciones para un paciente cualquiera dependen de muchos factores, incluyendo la talla del paciente, el área de superficie corporal, la edad, el compuesto particular que se va a administrar, el sexo, el tiempo y la vía de administración, la salud general y otros fármacos que se estén administrando simultáneamente. Las preparaciones para la administración parenteral incluyen emulsiones, suspensiones y soluciones acuosas o no acuosas estériles. Los ejemplos de disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Los vehículos acuosos incluyen agua, soluciones, emulsiones o suspensiones alcohólicas/acuosas, incluyendo medios tamponados y solución salina. Los vehículos parenterales incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, Ringer con lactato o aceites fijos. Los vehículos intravenosos incluyen reponedores de fluidos y nutrientes, reponedores de electrolitos (tales como los basados en la dextrosa de Ringer). También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos tales como, por ejemplo, antibióticos, antioxidantes, agentes quelantes, gases inertes. Además, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede comprender vehículos proteínicos, como, por ejemplo, seroalbúmina o inmunoglobulina, preferentemente de origen humano. Se prevé que la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender, además de los compuestos descritos anteriormente otros agentes biológicamente activos, dependiendo del uso destinado de la composición farmacéutica. Dichos agentes pueden ser fármacos que actúan sobre el aparato digestivo, fármacos que actúan como agentes citostáticos, fármacos que previenen la hiperuricemia, fármacos que inhiben inmunorreacciones (por ejemplo, corticoesteroides), fármacos que modulan la respuesta inflamatoria, fármacos que actúan sobre el aparato circulatorio y/o agentes tales como citocinas, conocidos en la técnica.

La actividad biológica de la composición farmacéutica definida en el presente documento se puede determinar, por ejemplo, por ensayos de citotoxicidad, como se describe en los siguientes ejemplos, en el documento WO 99/54440 o por Schlereth *et al.* (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12). "Eficacia" o "eficacia *in vivo*" como se usa en el presente documento se refiere a la respuesta al tratamiento por la composición farmacéutica de la invención, usando, por ejemplo, criterios de respuesta estandarizados de NCI. El éxito o la eficacia *in vivo* del tratamiento usando una composición farmacéutica de acuerdo con la invención se refiere a la eficacia de la composición para su propósito destinado, es decir, la capacidad de la composición provocar su efecto deseado, es decir, la disminución de células patológicas, por ejemplo, células tumorales. La eficacia *in vivo* se puede monitorizar por procedimientos estándar establecidos para las entidades de enfermedad respectivas incluyendo, pero sin limitarse a, recuentos de leucocitos, fórmulas leucocitarias, separación celular activada por fluorescencia, aspirado medular. Además, se pueden usar diversos parámetros de bioquímica clínica específicos de enfermedad y otros procedimientos estándar establecidos. Además, se pueden usar tomografía computarizada, rayos X, tomografía de resonancia magnética nuclear (por ejemplo, para la evaluación de las respuestas basadas en los criterios del National Cancer Institute), tomografía por emisión de positrones, recuentos de leucocitos, fórmulas leucocitarias, separación celular activada por fluorescencia, aspirado medular, biopsias/histologías de ganglios linfáticos, y varios parámetros de bioquímica clínica específicos de linfoma (por ejemplo, lactato deshidrogenasa) y otros procedimientos estándar establecidos.

Otro reto principal en el desarrollo de fármacos tales como la composición farmacéutica de acuerdo con la invención es la modulación previsible de las propiedades farmacocinéticas. Para este fin, se establece un perfil farmacocinético del candidato a fármaco, es decir, un perfil de los parámetros farmacocinéticos que afectan a la capacidad de un fármaco particular para tratar una afección dada.

Los parámetros farmacocinéticos del fármaco que influyen en la capacidad de un fármaco para tratar una determinada entidad de enfermedad incluyen, pero no se limitan a: semivida, volumen de distribución, metabolismo de primer paso hepático y el grado de unión al suero sanguíneo. La eficacia de un agente de fármaco dado se puede influenciar por cada uno de los parámetros mencionados anteriormente.

"Semivida" quiere decir el tiempo en el que un 50 % de un fármaco administrado se elimina a través de procesos biológicos, por ejemplo, metabolismo, excreción, etc.

Por "metabolismo de primer paso hepático" se quiere decir la propensión de un fármaco para metabolizarse después de un primer contacto con el hígado, es decir, durante su primer paso a través del hígado.

"Volumen de distribución" quiere decir el grado de retención de un fármaco a lo largo de los diversos compartimentos del cuerpo, como por ejemplo espacios intracelulares y extracelulares, tejidos y órganos, etc., y la distribución del fármaco dentro de estos compartimentos.

"Grado de unión a suero sanguíneo" quiere decir la propensión de un fármaco para interactuar con y unirse a proteínas del suero sanguíneo, tales como albúmina, dando lugar a una reducción o pérdida de la actividad biológica del fármaco.

5 Los parámetros farmacocinéticos también incluyen biodisponibilidad, tiempo de latencia (Tlag), T<sub>máx</sub>, tasas de absorción, más inicio y/o C<sub>máx</sub> para una cantidad dada de fármaco administrado.

"Biodisponibilidad" quiere decir la cantidad de un fármaco en el compartimento sanguíneo.

"Tiempo de latencia" quiere decir el lapso de tiempo entre la administración del fármaco y su detección y mensurabilidad en la sangre o plasma.

10 "T<sub>máx</sub>" es el tiempo después del que se alcanza la concentración sanguínea máxima del fármaco, y "C<sub>máx</sub>" es la concentración sanguínea máximamente obtenida con un fármaco dado. El tiempo que se requiere para alcanzar una concentración sanguínea o tisular del fármaco para su efecto biológico está influenciado por todos los parámetros.

15 El término "toxicidad" como se usa en el presente documento se refiere a los efectos tóxicos de un fármaco manifestados en acontecimientos adversos o acontecimientos adversos graves. Estos efectos secundarios pueden referirse a la ausencia de tolerabilidad del fármaco en general y/o una falta de tolerancia local después de la administración. La toxicidad también podría incluir efectos teratógenos o carcinógenos provocados por el fármaco.

20 Los términos "seguridad", "seguridad *in vivo*" o "tolerabilidad" como se usa en el presente documento definen la administración de un fármaco sin inducción de acontecimientos adversos graves directamente después de la administración (tolerancia local) y durante un periodo de aplicación más largo del fármaco. La "seguridad", "seguridad *in vivo*" o "tolerabilidad" se puede evaluar, por ejemplo, a intervalos regulares durante el tratamiento y el periodo de seguimiento. Las medidas incluyen evaluación clínica, por ejemplo, manifestaciones orgánicas, y la detección de anomalías de laboratorio. La evaluación clínica se puede llevar a cabo y desviarse de los hallazgos normales registrados/codificados de acuerdo con las normas de NCI-CTC y/o MedDRA. Las manifestaciones orgánicas pueden incluir criterios tales como alergia/inmunología, sangre/médula ósea, arritmia cardíaca, coagulación, como se expone, por ejemplo, en Common Terminology Criteria for adverse events v3.0 (CTCAE). Los parámetros de laboratorio que se pueden someter a prueba incluyen, por ejemplo, hematología, bioquímica clínica, perfil de coagulación y análisis de orina y el examen de otros fluidos corporales tales como suero, plasma, líquido cefalorraquídeo o linfático. Por tanto, la seguridad se puede evaluar, por ejemplo, por exploración física, técnicas de imagenología (es decir, ultrasonidos, rayos X, TAC, resonancia magnética nuclear (RMN), otras medidas con dispositivos técnicos (es decir, electrocardiograma), constantes vitales, midiendo parámetros de laboratorio y registrando acontecimientos adversos.

30 El término "dosis eficaz y no tóxica" como se usa en el presente documento se refiere a una dosis tolerable del anticuerpo monocatenario biespecífico como se define en el presente documento que es lo suficientemente alta para provocar la disminución de células patológicas, eliminación tumoral, reducción tumoral o estabilización de enfermedad sin o esencialmente sin efectos tóxicos serios. Dichas dosis eficaces y no tóxicas se pueden determinar, por ejemplo, por estudios de aumento escalado de la dosis descritos en la técnica y deben estar por debajo de la dosis que induce acontecimientos adversos graves (toxicidad limitante de la dosis, TLD).

35

La presente solicitud incluye algunas figuras, que representan lo siguiente.

40 **Figura 1:** El efecto de los tratamientos con mAb neutralizante de GM-CSF 22E9 (A), mAb neutralizante de IL-1 $\beta$  1400.24.17 (B), y antagonista de TNF $\alpha$  etanercept (C) sobre la hinchazón articular en inflamación de SCW crónica. Se indujo la artritis como se describe en los Procedimientos. Se administraron los tratamientos i.p. como dosis de 300  $\mu$ g los días 14, 17, 21 y 24. Se midió la inflamación por la captación de <sup>99m</sup>Tc en las rodillas y se expresó como la proporción derecha (rodilla artrítica)/izquierda (rodilla de control con PBS). Una proporción de >1,10 se considera como hinchazón articular. Los grupos se comparan por la prueba de la U de Mann-Whitney (\* 0,05>p>0,01; \*\* 0,01>p>0,001); n = 7 por grupo.

45 **Figura 2:** El efecto de los tratamientos con mAb neutralizante de GM-CSF (mAb 22E9), mAb neutralizante de IL-1 $\beta$  (1400.24.17) y antagonista de TNF $\alpha$  etanercept sobre la entrada de células inflamatorias en la cápsula sinovial (A), y sobre el daño en el cartílago (B). Inducción de enfermedad y tratamientos como se describe en los Procedimientos. Los ratones se sometieron a eutanasia el día 28 y se prepararon secciones histológicas y se puntuaron visualmente. Los grupos se compararon con el tratamiento de control por la prueba de la U de Mann-Whitney, n=7.

50 **Figura 3:** Las microfotografías de rodillas representativas de ratones con artritis de SCW crónica tratados con mAb neutralizante de GM-CSF (22E9) (A), mAb  $\alpha$ -IL-1 $\beta$  (1400.24.17) (B), antagonista de TNF $\alpha$  etanercept (C) y mAb de control (D). Las secciones se realizaron el día 28 después de la inducción de artritis de SCW inicial y se tiñeron con Safranina O/verde rápido. P = rótula; F = fémur; C = cartílago. Cabe destacar el cartílago bien conservado en (A) y (B), y la pérdida de proteoglicano y las erosiones en el cartílago en (C) y (D). El aumento original fue de 200x.

55 **Figura 4:** Los niveles de IL-1 $\beta$  local (A) y KC (equivalente de Gro $\alpha$ ) (B) medidos por perlas Luminex en sobrenadantes de cultivos de 1 hora de rótulas establecidos el día 21 después de la primera inducción de artritis de SCW. Los tratamientos se realizaron como se describe en la leyenda para la figura 1.

**Figura 5:** Artritis inducida por SCW crónica en ratones de referencia y carentes de IL-17R tratados con anticuerpos de control o anti-GM-CSF. (A) Hinchazón articular en ratones de referencia (WT) e IL-17R<sup>-/-</sup>. Como se muestra previamente, se encontraron diferencias significativas en la hinchazón articular entre los ratones tratados con control y tratados con anti-GM-CSF los días 22, 23 y 28 en ratones WT. (B) Inflamación articular y destrucción de proteoglicano del cartílago (GP) el día 28. (C) Daño del cartílago (erosiones y destrucción de condrocitos) en capas de cartílago de la rótula y fémur de un ratón WT, tratado con anticuerpo de control. (D) Daño del cartílago reducido en un ratón IL-17R<sup>-/-</sup> tratado con anticuerpos anti-GM-CSF. (E) Pérdida de GP del cartílago en capas de cartílago de la rótula y fémur de un ratón WT, tratado con anticuerpo de control. (F) Pérdida de GP del cartílago en un ratón IL-17R<sup>-/-</sup> tratado con anti-GM-CSF. Para detalles, véase la figura 3. Los datos se expresan como media ±DE de al menos 6 ratones por grupo. Los experimentos se repitieron una vez con resultados similares. \*P<0,01 en comparación con ratones de control WT tratados con anticuerpos de control, \*\*P<0,01 en comparación con ratones IL-17R<sup>-/-</sup> tratados con anticuerpos anti-GM-CSF, prueba de la U de Mann-Whitney.

**Figura 6:** Puntuaciones macroscópicas de ratones con artritis inducida por colágeno, seguidos durante diez días después del inicio del tratamiento. Tras la aparición de los primeros síntomas de artritis (correspondiente al día 1 en la figura 6), se trataron los ratones i.v. (también el día 1 en la fig. 6) con (i) una única administración de anticuerpo monoclonal anti-IL17: mAb421 1,5 mg/kg solo, (ii) anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF 22E9 3 mg/kg solo, o (iii) con mAb421 1,5 mg/kg y 22E9 3 mg/kg en combinación. El bloqueo de IL-17 con mAb421 en combinación con neutralización de GM-CSF usando 22E9 redujo significativamente las puntuaciones clínicas de la artritis inducida por colágeno, mientras que el tratamiento con mAb421 o 22E9 solo no disminuyó significativamente la gravedad de la enfermedad. Los síntomas artríticos en los ratones desaparecieron de 2 a 3 días después de la administración i.p. de dexametasona (2 mg/kg, control positivo). Se usó un anticuerpo IgG2A (control de isotipo) como control negativo. Los resultados son la media + EEM de n=9-10 ratones/grupo. \*P < 0,05, \*\*P < 0,01 frente a ratones tratados con control negativo de isotipo IgG2A, determinado por ANOVA unidireccional y la prueba de comparación múltiple de Dunnett.

**Figura 7:** Secciones articulares representativas 10 días después de una única administración de 22E9 3 mg/kg (A), mAb421 1,5 mg/kg (B), combinación de 22E9 3 mg/kg y mAb 421 1,5 mg/kg (C), o el control de isotipo, (D). Se fijaron las articulaciones en formalina al 4 %, se descalcificaron, se seccionaron y se tiñeron con hematoxilina/eosina. Los ratones que recibieron IgG2a de rata de control de isotipo (figura 7D) muestran una inflamación articular marcada con infiltración celular masiva en la membrana sinovial (\*), y destrucción articular con erosiones en cartílago y hueso (†). Aunque ligeramente menos grave, los ratones que recibieron la dosis de 22E9, 3 mg/kg (figura 7A) o mAb 421, 1,5 mg/kg (figura 7B), también muestran inflamación grave y destrucción articular, mientras que los ratones que recibieron una única administración del tratamiento combinado de 22E9 3 mg/kg junto con mAb421 1,5 mg/kg, demuestran una reducción muy significativamente en la inflamación (\*) (figura 7C) y una buena conservación la integridad articular con una superficie de cartílago próxima a normal mostrada por (†) en la figura 7C.

## Animales

Los ratones C57B1/6 macho se obtuvieron de Charles River (Sulzfeld, Alemania). Los ratones carentes de IL-17R se proporcionaron amablemente por J. Peschon, Amgen, Seattle, WA, EE. UU. Los ratones se alojaron en jaulas con filtro superior, y se les proporcionó agua y alimento *ad libitum*. Los ratones se usaron a una edad de 10-12 semanas. Todos los procedimientos con animales se aprobaron por el comité ético institucional.

## Preparación de SCW e inducción de artritis de SCW

Se cultivaron durante la noche organismos T12 de *Streptococcus pyogenes* en caldo Todd-Hewitt. Se prepararon las paredes celulares como se describe por van den Broek *et al.*, Am J Pathol 133(1), 139-149 (1988). Se usó el sobrenadante de 10.000 x g resultante en todos los experimentos. La preparación contenía ácido murámico al 11 %. Se indujo artritis unilateral por inyección intraarticular (ia) de 25 µg de SCW (contenido en ramnosa) en 6 µl de solución salina tamponada con fosfato (PBS) en la articulación de la rodilla derecha de ratones no sometidos previamente a experimentación, como se describe por Joosten *et al.*, Ann Rheum Dis 59(3), 196-205 (2000). Para crear una artritis inducida por pared celular estreptocócica (SCW) crónica, se realizaron inyecciones i.a. en la articulación de la rodilla derecha los días 0, 7, 14 y 21. Estas inyecciones repetidas dan como resultado una artritis crónica. Como control, se inyectó PBS en la articulación de la rodilla izquierda.

## Reactivos y protocolo de tratamiento

Se neutralizó el GM-CSF usando mAb 22E9 de rata (MM500CS, Perbio Science, Bonn, Alemania). Se usó etanercept (Enbrel®; Wyeth Pharma, Munster, Alemania) para el bloqueo de TNFα. Varios estudios han informado de la eficacia de esta proteína de fusión Fc de receptor de TNF soluble humano en diferentes modelos de ratón, incluyendo CIA. Se usaron el control de isotipo IgG2a de rata (BLD-400516-bulk, Biozol Diagnostica, Eching, Alemania) y Humira® (Abbott, Wiesbaden-Delkenheim, Alemania) como controles de isotipo. Se neutralizó la IL-1β con el mAb de rata anti-IL-1β de ratón 1400.24.17 (MM425, Perbio Science, Bonn, Alemania). Todos los tratamientos administrados i.p. como dosis de 300 µg se administraron 4 veces: i) 2 horas antes de la 3ª reactivación (día 14), ii) el día 17, iii) 2 horas antes de la 4ª reactivación (día 21), y iv) el día 24 después de la inducción de enfermedad inicial.

## Medida de la hinchazón articular

Se cuantificó la hinchazón articular durante la artritis de SCW por el procedimiento de captación de  $^{99m}\text{Tc}$  descrito por Kruijsen *et al.*, Agents Actions 11(6-7), 640-2 (1981). Este procedimiento validado mide por recuento de radiación gamma externa la acumulación de radioisótopo en el sitio de inflamación debido al incremento local en el flujo sanguíneo y la hinchazón tisular. La gravedad de la hinchazón se expresa como la proporción de la captación de  $^{99m}\text{Tc}$  en la articulación de la rodilla derecha (inflamada) con respecto a la izquierda (control). Todos los valores que exceden 1,10 se consideraron como hinchazón articular.

#### Medidas de citocinas y quimiocinas

Se determinaron los niveles de varias citocinas y quimiocinas, incluyendo IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , RANTES, KC y MIP-1 $\alpha$ , en lavados rotulianos. Se aislaron rótulas con tejido sinovial circundante de articulaciones de rodillas inflamadas, y se cultivaron en medio RPMI 1640 que contenía BSA al 0,1 % (200  $\mu\text{l}$ /rótula) durante 1 hora a temperatura ambiente, como se describe previamente por Joosten *et al.*, J Immunol 165(11), 6553-8 (2000). A continuación, se recogieron los sobrenadantes y se centrifugó durante 5 minutos a 1000 x g. Se determinaron los niveles de citocinas y quimiocinas usando la tecnología multi-análisis Luminex. Se usó el sistema BioPlex de BioRad (Munich, Alemania) en combinación con kits de citocinas y quimiocinas múltiples.

#### 15 Análisis histológico

Se sacrificaron los ratones por dislocación cervical el día 28. Se retiraron las articulaciones de todas las rodillas y se fijaron en formaldehído al 4 % durante 7 días antes de la descalcificación en ácido fórmico al 5 % y el procesamiento para inclusión en parafina. Se tiñeron las secciones de tejido (7  $\mu\text{m}$ ) con hematoxilina/eosina (H/E) o safranina O/verde rápido (SO). Se puntuaron los cambios histopatológicos en las articulaciones de las rodillas en la región de rótula/fémur en 5 secciones semisucesivas espaciadas 140  $\mu\text{m}$  de distancia. Se realizó la puntuación en portaobjetos codificados por dos observadores separados, usando los siguientes parámetros. En los portaobjetos teñidos con H/E, se puntuó la cantidad de células que se infiltran en la mucosa sinovial de 0-3. Se puntuó el daño del cartílago en los portaobjetos teñidos SO en una escala de 0-3.

#### Análisis estadístico

25 Se sometieron a prueba las diferencias entre grupos experimentales usando la prueba de la U de Mann-Whitney y usando el programa informático GraphPad Prism 4. Se agruparon las lecturas de significación como sigue: \* = 0,05 > p > 0,01; \*\* = 0,01 > p > 0,001; y \*\*\* = p < 0,001.

Ejemplo 1:

#### La neutralización de GM-CSF sistémica disminuye la hinchazón articular en el modelo de SCW crónico

30 Durante la fase crónica de artritis de SCW en ratones C57B1/6, se investigó el efecto sobre la hinchazón articular después del tratamiento con productos biológicos neutralizantes de GM-CSF (mAb 22E9), TNF $\alpha$  (etanercept) o IL-1 $\beta$  (mAb 1400.24.17) los días 15, 16, 22, 23 y 28 por captación diferencial de  $^{99m}\text{Tc}$  en las articulaciones de las rodillas. Los resultados se expresan como la proporción de captación de  $^{99m}\text{Tc}$  entre la rodilla inyectada con SCW artrítica y la rodilla de control inyectada con PBS.

35 La administración sistémica del anticuerpo neutralizante de GM-CSF disminuyó potente y significativamente la hinchazón articular los días 16, 22, 23 y 28 con valores p de 0,018, 0,004, 0,004 y 0,002, respectivamente (fig. 1A). La neutralización de IL-1 $\beta$  también disminuyó la hinchazón articular, aunque sólo se observó una reducción significativa en la captación de  $^{99m}\text{Tc}$  de las rodillas frente a las rodillas de control los días 22 (p=0,011) y 23 (p=0,001) (fig. 1B). Como se esperaba, el bloqueo de TNF $\alpha$  con etanercept, que puede neutralizar el TNF $\alpha$  humano y también murino no tuvo ningún efecto sobre la hinchazón articular en el modelo de SCW crónico (fig. 1C). Por el contrario, se demostró previamente que etanercept era activo en la fase aguda de este modelo de enfermedad. La neutralización de GM-CSF durante la artritis de SCW crónica, por tanto, parecía que era más potente que la neutralización de IL-1  $\beta$  y su efecto se mantuvo hasta el día 28, es decir, 4 días después de la última administración del anticuerpo. Un segundo estudio independiente confirmó la eficacia de la neutralización de GM-CSF en la disminución de la hinchazón articular en el modelo de SCW crónico.

Ejemplo 2:

#### La neutralización de GM-CSF reduce la entrada de células inflamatorias a la cápsula sinovial, y el daño del cartílago

50 Se prepararon secciones histopatológicas de articulaciones de los diferentes grupos de ratones después de la finalización del experimento el día 28. El grado de entrada de células inflamatorias en la cápsula sinovial y la evaluación del daño del cartílago se puntuaron independientemente por dos investigadores en secciones tisulares teñidas con H/E y SO con enmascaramiento.

Los tres tratamientos, neutralización de GM-CSF con mAb 22E9, neutralización de IL-1 $\beta$  con mAb 1400.24.17 y bloqueo de TNF $\alpha$  con etanercept fueron eficaces en la reducción significativa de la entrada de células inflamatorias en

la cápsula sinovial (fig. 2A). El bloqueo de TNF $\alpha$ , aunque significativamente eficaz, parecía menos potente que la neutralización de GM-CSF o IL-1 $\beta$  con valores de p frente a los controles de 0,042, 0,004 y 0,001, respectivamente. Además, a pesar de una reducción en la entrada de células inflamatorias en las articulaciones de las rodillas de ratones tratados con etanercept, no se preservó la integridad del cartílago (fig. 2B). Por el contrario, la neutralización de GM-CSF protegió significativamente contra el daño del cartílago ( $p=0,02$ ; mAb 22E9 frente a mAb de control de isotipo) (fig. 2B). Como se ha informado previamente, la neutralización de IL-1 $\beta$  fue muy potente en la protección del cartílago contra daños ( $p=0,004$ , anti-IL-1 $\beta$  frente a control; fig. 2B).

El impacto de los diversos tratamientos sobre la integridad del cartílago se ilustra en la figura 3 que muestra microfotografías de tinción con Safranina O/verde rápido de articulaciones de las rodillas de un ratón representativo para cada uno de los tres grupos de tratamiento. La fuerte tinción del cartílago y la buena conservación tisular observadas en el ratón tratado con mAb 22E9 (fig. 3A) destaca el efecto de la neutralización de GM-CSF sobre la protección de la integridad del cartílago. Por el contrario, el cartílago del ratón que recibió el anticuerpo de control de isotipo (fig. 3D) muestra erosiones destructivas y una reducción en la intensidad de la tinción, lo que demuestra pérdida de proteoglicano, uno de los principales componentes de cartílago articular. De forma similar, se observa pérdida de proteoglicano e incremento en el daño del cartílago en el ratón tratado con etanercept (fig. 3C). Esto es consecuente con estudios previos en el modelo de SCW crónico de artritis que muestra independencia de TNF $\alpha$ . Se sabe que la IL-1 $\beta$  tiene un efecto destructivo prominente sobre el cartílago en modelos experimentales de artritis. En consecuencia, la neutralización de IL-1 $\beta$  por un anticuerpo tiene un efecto protector pronunciado sobre el cartílago en nuestro presente estudio (fig. 3B).

Ejemplo 3:

#### **La neutralización de GM-CSF reduce la producción de IL-1 $\beta$ y KC en las articulaciones de las rodillas**

Para entender mejor el efecto protector de GM-CSF y su relación con IL-1 $\beta$ , se investigaron concentraciones de varias citocinas y quimiocinas en lavados de rótulas. Sólo se analizaron las rodillas artríticas (derechas) ya que se descubrió repetidamente que los niveles en las rodillas de control no afectadas (izquierdas) estaban por debajo del límite de detección en experimentos previos.

La neutralización de GM-CSF con mAb 22E9 dio como resultado una reducción significativa de IL-1 $\beta$  local en comparación con los niveles detectados en las articulaciones de ratones que recibieron el tratamiento con anticuerpo de control de isotipo ( $p=0,042$ ; tratados con 22E9 frente a control) (fig. 4). El bloqueo de TNF $\alpha$  con etanercept no tuvo ningún efecto sobre los niveles de IL-1 $\beta$  en las articulaciones (fig. 4) mientras que, y como se esperaba, en ratones que habían recibido mAb neutralizante de IL-1 $\beta$ , los niveles de IL-1 $\beta$  estaban próximos al valor de referencia. Los niveles de la quimiocina KC (GRO- $\alpha$  de ratón) se redujeron significativamente en las articulaciones de las rodillas artríticas por los tres tratamientos ( $p=0,0047$  para 22E9 frente a control;  $p=0,0007$  para etanercept frente a control;  $p=0,007$  para anti-IL-1 $\beta$  frente a control). Los niveles locales de IL-6 y RANTES no se vieron influenciados por ninguno de los tratamientos investigados (datos no mostrados). Los niveles de IL-2, TNF $\alpha$  y GM-CSF estaban por debajo de los límites de detección de los ensayos, por ejemplo,  $< 10$  pg/ml.

Ejemplo 4:

#### **La neutralización de GM-CSF en ausencia de señalización de IL-17 potencia los efectos protectores sobre la destrucción del cartílago**

La neutralización de GM-CSF disminuyó la hinchazón articular y protegió el cartílago de daño con una eficacia similar a la observada con la neutralización de IL-1 $\beta$ . Posteriormente, se realizaron estudios similares con mAb anti-GM-CSF en artritis de SCW crónica en ratones carentes de IL-17R. La carencia de IL-17R da como resultado la supresión de la hinchazón articular y la destrucción del cartílago durante la artritis de SCW crónica (fig. 5A). La acción selectiva combinada de la señalización de ambos GM-CSF e IL-17 en este modelo de artritis dio como resultado una supresión potenciada y fuerte de la hinchazón articular (fig. 5A). Aunque tanto el tratamiento anti-GM-CSF como la carencia de IL-17R dio como resultado una reducción de la entrada celular, la acción selectiva combinada no dio como resultado una inflamación articular significativamente menor (fig. 5B). De forma interesante, sin embargo, la disminución de proteoglicano y el daño del cartílago (destrucción de condrocitos y erosión) se redujeron notablemente en ratones carentes de IL-17R tratados con anti-GM-CSF. (Fig.5B-E). Estos resultados demuestran que el efecto protector sobre el cartílago de anti-GM-CSF puede estar potenciado adicionalmente por la acción selectiva adicional de la citocina del linfocito T IL-17.

Ejemplo 5:

El modelo de ratón de SCW recidivante crónico de artritis se caracteriza por una destrucción grave de articulaciones como es típica en fases tardías de AR crónica en seres humanos. En contraste con lo que se observa en el modelo de ratón CIA y el modelo de SCW agudo de artritis, la neutralización de TNF $\alpha$  ya no es eficaz en el control de la artritis de SCW crónica en la que la IL-1 $\beta$  parece que desempeña el principal papel patógeno (72). En este estudio se ha confirmado la independencia de TNF $\alpha$  y un papel clave para la destrucción del cartílago de IL-1 $\beta$  en la artritis de SCW crónica.

Se estudió el bloqueo de GM-CSF por primera vez en este modelo particular y se descubrió que tenía un profundo efecto inhibitorio sobre la hinchazón articular y la destrucción del cartílago en rodillas inyectadas con SCW cuando se administraron i.p. dosis de 300 µg de anticuerpo en la fase crónica de la enfermedad. Esto demuestra que un anticuerpo anti-GM-CSF en ratones a una dosis, que es equivalente a una dosis de anticuerpo de aproximadamente 1 mg/kg en seres humanos (después de la corrección alométrica), es suficiente para corregir los niveles de GM-CSF en articulaciones de rodillas artríticas. La eficacia terapéutica de la neutralización de GM-CSF en el modelo de artritis crónica era profunda. La hinchazón articular se controló mejor por tratamiento anti-GM-CSF que por tratamiento anti-IL-1β mientras que el bloqueo de TNFα fue ineficaz. La producción de TNFα aberrante todavía puede desempeñar algún papel en la artritis de SCW crónica debido a que su neutralización tuvo un efecto sobre la entrada de células inflamatorias y niveles de quimiocinas KC. Sin embargo, el papel de TNFα en el impulso de esta enfermedad crónica disminuye en comparación con la fase aguda de la enfermedad, y en contraste con otros modelos de ratón de artritis. Con respecto a la protección del cartílago, ambos tratamientos anti-GM-CSF y anti-IL-1β fueron muy eficaces. Se ha informado previamente de la interdependencia entre las acciones de GM-CSF e IL-1 en otro modelo de artritis. En este modelo de artritis inducida por IL-1 después de la inyección de mBSA inyección, el GM-CSF desempeña un papel patógeno preponderante. La ausencia de GM-CSF como en ratones GM-CSF-KO, o por neutralización de GM-CSF en animales WT, redujo notablemente la artritis. Durante la artritis de SCW crónica, sin embargo, el GM-CSF parece que actúa corriente arriba de IL-1β, ya que su neutralización redujo los niveles de IL-1β en las articulaciones artríticas. Esta reducción en la producción de IL-1 por macrófagos activados y otras células inmunitarias estimuladas por GM-CSF también podría explicar por qué el tratamiento anti-GM-CSF tuvo un efecto protector sobre el cartílago en este modelo. En el modelo de SCW agudo, también se descubrió que el anticuerpo anti-GM-CSF pudo reducir los niveles de IL-1β, mientras que el bloqueante de TNFα etanercept no pudo. En el modelo de ratón CIA de AR, el bloqueo de GM-CSF redujo ambos niveles de IL-1β y TNFα de forma muy significativa.

Aunque la expresión de GM-CSF se indujo sumamente en varias células inmunitarias por citocinas proinflamatorias tales como TNFα e IL-1β a través de la activación del factor de transcripción NF-kappaB y otros, la jerarquía de las citocinas parece que da la vuelta en las fases tardías de la inflamación, tomando el GM-CSF el control de la producción de TNFα e IL-1β, y quizás de otras citocinas y quimiocinas. Simultáneamente a la inhibición de TNFα e IL-1β en tejido artrítico, el bloqueo de GM-CSF también tiene el potencial de reducir la actividad y la supervivencia de células inmunitarias dependientes de GM-CSF, tales como granulocitos, neutrófilos, macrófagos. También es concebible que GM-CSF no sólo induce directamente la expresión de IL-1β y TNFα, sino que también provoca una acción antiapoptótica coordinada y una activación continua de múltiples células del sistema inmunitario innato, potenciando indirectamente de este modo la producción de IL-1β y TNFα. Dicho efecto sobre el ciclo celular y la supervivencia se ha demostrado en el modelo de artritis de mBSA en el que la neutralización de GM-CSF *in vivo* dio como resultado una reducción notable de la celularidad global así como el número de células en ciclo en las articulaciones artríticas.

#### Ejemplo 6:

Además del bloqueo de GM-CSF durante la artritis de SCW crónica en animales WT, también se realizaron experimentos en ratones carentes de IL-17R. La IL-17 se produce por los linfocitos Th17, que pueden producir simultáneamente TNFα y GM-CSF. En presencia de TNFα, la IL-17 desencadena sinoviocitos para producir GM-CSF, lo que sugiere un papel para IL-17 corriente arriba de GM-CSF. Por otra parte, las células de médula ósea tratadas con GM-CSF estimuladas con LPS producen IL-23, que es un factor de supervivencia importante para los linfocitos Th17 que producen IL-17. Antes de la presente invención, el bloqueo combinado de IL-17 y GM-CSF no se había estudiado *in vitro* o *in vivo*. El presente estudio de los inventores muestra, en primer lugar, que el bloqueo simultáneo de ambas rutas GM-CSF e IL-17 dio como resultado una supresión superior de la hinchazón articular y el incremento en la protección frente a la destrucción del cartílago en relación con el bloqueo de las rutas individuales. Este fuerte efecto sobre el cartílago se podría explicar por una sinergia entre IL-17 e IL-1β (inducida por GM-CSF), ya que estas dos citocinas han mostrado previamente sinergia sobre la producción de citocinas por la cápsula sinovial de pacientes con AR y sobre la producción de PGE<sub>2</sub> y NO en el cartílago con artrosis. Los estudios presente y previos plantean una observación firme de que la neutralización de GM-CSF puede tener un potencial terapéutico en pacientes con AR humanos y también en pacientes que ya no son, o que inicialmente no han sido sensibles al bloqueo de TNFα. Además, este estudio demuestra que el tratamiento anti-GM-CSF en combinación con el tratamiento anti-IL-17 tiene un profundo efecto terapéutico en AR así como en otras situaciones de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias.

#### Ejemplo 7:

La artritis inducida por colágeno (CIA) es un modelo de ratón de artritis ampliamente aceptado basado la reactividad autoinmunitaria mediada por anticuerpos y linfocitos T frente al colágeno del cartílago de tipo II (CII). Este modelo comparte varios rasgos clínicos, histopatológicos e inmunológicos con la AR humana, y se caracteriza principalmente por inflamación sinovial seguido de erosiones de cartílago y hueso graves. El objetivo del presente estudio descrito aquí era la evaluación de la eficacia terapéutica de la administración combinada de un compuesto neutralizante de GM-CSF y un compuesto neutralizante de IL-17 en el sistema del modelo de ratón de CIA. En particular, se estudió el efecto del tratamiento de ratones con (i) un anticuerpo monoclonal anti-IL-17 (mAb 421) solo, (ii) un anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF (mAb 22E9) solo, y (iii) una combinación de ambos anticuerpos después de la aparición de CIA, en comparación con controles negativos (IgG2A) y positivos (dexametasona). Se obtuvo el anticuerpo anti-IL-17 mAb421 de R&D Systems, mientras que mAb 22E9 fue de Perbio Science. Los anticuerpos de control de isotipo de

IgG2a de rata se derivaron de Biologend. Todos los anticuerpos se almacenaron a -80 °C. La dexametasona se derivó de Centrafarm y se almacenó a temperatura ambiente. Todos los compuestos se diluyeron en PBS estéril para su administración.

5 Se estudió el efecto del tratamiento con los compuestos indicados anteriormente sobre ratones con CIA en un diseño de estudio de 7 semanas. El día 0, se inmunizaron los ratones DBA/1J macho en la base de la cola con 100 µg de CII bovino bajo anestesia de isoflurano. El día 21, los ratones recibieron una inyección de refuerzo intraperitoneal de 100 µg de CII disueltos en solución salina tamponada con fosfato (PBS), y se produjo la aparición de la artritis unos pocos días después de esta inyección de refuerzo. Se emulsionó el colágeno de tipo II (CII) bovino a una  
10 concentración de 2 mg/ml en ácido acético 0,05 M en volúmenes iguales de coadyuvante completo de Freund (2 mg/ml de cepa *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra). A los primeros síntomas de artritis (puntuación de 0,25 o más), los ratones se asignaron secuencialmente a los diferentes grupos experimentales enumerados a continuación y se observaron durante otros 10 días de estudio.

15 Se consideró que los ratones tienen artritis cuando se notan cambios significativos de enrojecimiento y/o hinchazón en los dedos o en otras partes de las patas. La inflamación articular en cada pata se puntuó visualmente, usando una escala de 0-2 por pata con una puntuación máxima de 8 por animal (cuatro patas con síntomas artríticos y una escala de hasta 2 cada una), como se describe por R. Smeets *et al*, *Arthritis Rheum* 2003: 0 = sin inflamación, 1 = inflamación leve, 1,5 = inflamación notable, y 2 = inflamación grave. La puntuación se realizó tres veces a la semana desde el día 21 hasta el día 45 por observadores independientes sin el conocimiento de los grupos experimentales.

20 Los anticuerpos se administraron como una única dosis en la aparición de síntomas de artritis. La dexametasona se administró a una dosis de 2 mg/kg, i.p. de tres veces a la semana (lunes, miércoles y viernes). Se consideró que los ratones que no habían presentado ningún síntoma de artritis el día 35 del estudio no respondían al tratamiento y se retiraron del análisis de estudio adicional.

25 Basándose en los resultados de los experimentos previos, la dosis para el estudio se fijó a 1,5 mg/kg de mAb421. Para el anticuerpo anti-GM-CSF 22E9, la dosis se fijó a 3 mg/kg. Con estas dosificaciones, se realizó el estudio para evaluar el efecto del bloqueo combinado de IL-17 y GM-CSF durante la artritis inducida por colágeno. Se usó dexametasona como control positivo y un anticuerpo IgG2a de rata como control negativo. Además, el estudio incluyó grupos experimentales para el tratamiento con anti-IL-17 (mAb421), anti-GM-CSF (22E9), y su combinación, todos con las dosis indicadas.

Grupos experimentales:

30 mAb421 1,5 mg/kg+ IgG2a de rata 3 mg/kg (total 4,5 mg/kg)

22E9 3 mg/kg+ IgG2a de rata 1,5 mg/kg

mAb421 1,5 mg/kg+ 22E9 3 mg/kg

IgG2a de rata 15 mg/kg

Dexametasona 2 mg/kg

35 Como se muestra en la figura 6, la neutralización de IL-17 con mAb421 en combinación con neutralización de GM-CSF usando 22E9 redujo significativamente las puntuaciones clínicas de artritis inducida por colágeno. Por el contrario, el tratamiento con mAb421 o 22E9 solo no disminuyó significativamente la gravedad de la enfermedad.

40 Los síntomas artríticos desaparecieron de 2 a 3 días después de la administración i.p. de dexametasona (2 mg/kg, control positivo). Los ratones tratados con anticuerpo IgG2A (control negativo) mostraron una clara progresión de la gravedad de la artritis.

45 Para el análisis histopatológico, se suministraron patas delanteras y traseras (izquierda y derecha; 4 muestras/ratón). Se fijaron las patas en solución de formaldehído al 4 %. Después de la descalcificación en EDTA o solución de descalcificación estándar durante 3 días, se incluyeron las patas en parafina (Paraplast®), se tiñeron con H&E, y se evaluaron por microscopio óptico. Se restringió la evaluación histológica a las articulaciones distales (tarso/carpo y dedos) de las patas.

50 La evaluación histológica reveló una artritis subaguda a crónica de las articulaciones inferiores de las extremidades (carpiano/tarsal, dedos). La artritis se caracterizó por engrosamiento de la cápsula sinovial (hiperplasia sinovial), exudado intraarticular y una infiltración de células mezcladas prominente de forma predominante en la cápsula de la articulación. En los casos notables, también se observó la reacción celular inflamatoria en el tejido conjuntivo y tendones. Adicionalmente, en casos más crónicos, se observó un tejido de granulación típico que consistía en tejido fibroso y principalmente células mononucleares. También se observaron cambios erosivos del cartílago de las articulaciones distales. En la mayoría de los casos se vio afectada más de una articulación (poliartritis). La figura 7 muestra secciones articulares representativas 10 días después de una única administración de 22E9 3 mg/kg (A), mAb421 1,5 mg/kg (B), combinación de 22E9 3 mg/kg y mAb 421 1,5 mg/kg (C), o el control de isotipo 15 mg/kg (D).

Se fijaron las articulaciones en formalina al 4 %, se descalcificaron, se seccionaron y se tiñeron con hematoxilina/eosina. Los ratones que recibieron el control de isotipo (figura 7D) mostraron una inflamación articular marcada con infiltración celular masiva en la membrana sinovial y destrucción articular con erosiones en cartílago y hueso. Aunque ligeramente menos grave, los ratones que recibieron 22E9, 3 mg/kg (figura 7A) o mAb 421, 1,5 mg/kg (figura 7B), también mostraron inflamación grave y destrucción articular, mientras que los ratones que recibieron una única administración del tratamiento combinado de 22E9 3 mg/kg junto con mAb421 1,5 mg/kg, demostraron una reducción muy significativamente en la inflamación y una buena conservación la integridad articular con una superficie de cartílago próxima a normal (figura 7C). Como resultado, la mayoría de los casos con artritis se observaron en el grupo de control negativo (IgG2A de rata). No se pudo detectar artritis después de 2 a 3 días después de la administración de dexametasona (control positivo). Comparando los ratones con CIA tratados con mAb421 o mAb 22E9 solo, o en combinación, con los controles negativos, los mejores resultados con relación a la aparición y la gravedad de la artritis se observaron en el grupo tratado por mAb421 en combinación con mAb22E9.

#### Conclusión:

Los presentes inventores exploraron la eficacia terapéutica de la neutralización de GM-CSF en dos sistemas de modelo de artritis diferentes, es decir, (i) el modelo de artritis de SCW crónico independiente de TNF $\alpha$  y (ii) el modelo de CIA dependiente de TNF $\alpha$ . Además, se ha estudiado el efecto del bloqueo de la inmunidad tanto innata como adaptiva inhibiendo las rutas de GM-CSF e IL-17. Esto se realizó neutralizando el GM-CSF en ratones carentes genéticamente del receptor de IL-17 (ratones IL-17R-KO) o por tratamiento de combinación con anticuerpos monoclonales neutralizantes de GM-CSF e IL-17. Los inventores observaron inesperadamente que ambos tipos de enfermedades inflamatorias se pueden tratar de modo altamente eficaz, por el bloqueo combinado de las rutas de GM-CSF y IL-17. En el modelo de CIA, la administración combinada de un compuesto inhibidor de GM-CSF y un compuesto inhibidor de IL-17 redujo significativamente las puntuaciones clínicas de artritis inducida por colágeno, mientras que el tratamiento con el compuesto inhibidor de GM-CSF o el compuesto inhibidor de IL-17 sólo no disminuyó significativamente la gravedad de la artritis. Además, un análisis histológico detallado demostró el efecto beneficioso del tratamiento de combinación sobre la inflamación articular y la destrucción de cartílago y hueso. Por tanto, el bloqueo combinado de ambas rutas dio como resultado una protección altamente eficaz contra la inflamación y la destrucción articular. Estos resultados fueron particularmente sorprendentes ya que, hasta muy recientemente, se planteó la hipótesis de que el GM-CSF se encuentra corriente abajo de IL-17 (véase, por ejemplo, Kawaguchi M. *et al.*, J. Allergy Clin. Immunol. 114 (2004), 444-450; Starnes T. *et al.*, The Journal of Immunology 169 (2002), 642-646; Laan M. *et al.*, Eur. Respir. J. 21 (2003), 387-393). Por lo tanto, no se podría haber esperado ningún efecto aditivo o sinérgico de los tratamientos que combinan el bloqueo de estas dos rutas. La presente solicitud es la primera en demostrar los efectos ventajosos del bloqueo combinado de IL-17 y GM-CSF *in vivo*. El bloqueo simultáneo de ambas rutas IL-17 y GM-CSF dio como resultado una supresión superior de la hinchazón articular y el incremento en la protección frente a la destrucción del cartílago en relación con el bloqueo de las rutas individuales. Los datos presentados aquí plantean una observación firme de que el tratamiento anti-GM-CSF en combinación con el tratamiento anti-IL-17 no sólo tiene un profundo efecto terapéutico en la AR sino también en otras situaciones de enfermedades inflamatorias e inflamatorias, como se define anteriormente en el presente documento.



**Listado de secuencias**

- <110> Micromet AG  
 <120> Inhibidores de GM-CSF e IL-17 para tratamiento  
 <130> MIC-033 PCT  
 5 <160> 60  
 <170> PatentIn versión 3.3  
 <210> 1  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 10 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR-H3 7A-701  
 <400> 1  
 Ser Gly Leu Ile Ala Asn His Met Thr Pro  
 1 5 10  
 15 <210> 2  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 20 <223> CDR-H3 7B1-502  
 <400> 2  
 Thr Thr Leu Ile Ser Val Tyr Phe Asp Tyr  
 1 5 10  
 <210> 3  
 <211> 10  
 25 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR-H3 L38-A1  
 <400> 3  
 Ser Gly Leu Ile Phe Asp Tyr Trp Leu Asp  
 1 5 10  
 30 <210> 4  
 <211> 10

<212> PRT

<213> secuencia artificial

5 <220>

<223> CDR-H3 L38-A12

<400> 4

Ser Gly Leu Ile Ile Asp Ala Leu Ser Pro  
1 5 10

<210> 5

10 <211> 10

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR-H3 L38-G7

15 <400> 5

Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr  
1 5 10

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

20 <213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR-H3 L39-D11

<400> 6

Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr  
1 5 10

25 <210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

30 <223> CDR-H3 E1-37-E7

<400> 7

Ser Gly Leu Ile Asn Leu Gly Met His Pro  
1 5 10

<210> 8  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> CDR-H3 MI\_3-82  
 <400> 8  
  
 Ser Gly Leu Ile Phe Asp Ala Leu Arg Asp  
 1                    5                    10  
  
 <210> 9  
 10 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR-H3 Ln4p-23  
 15 <400> 9  
  
 Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser  
 1                    5                    10  
  
 <210> 10  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 20 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR-H3 Ln4p-28  
 <400> 10  
  
 Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr  
 1                    5                    10  
  
 25 <210> 11  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 30 <223> CDR-H3 Ln4p-50  
 <400> 11  
  
 Ser Thr His Phe Ser Ala Tyr Phe Asp Tyr  
 1                    5                    10

<210> 12  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> secuencia artificial  
5 <220>  
<223> CDR-H3 Ln4p-65  
<400> 12  
Ser Gly Leu Ile Met Asp Lys Leu Asp Asn  
1 5 10  
<210> 13  
10 <211> 10  
<212> PRT  
<213> secuencia artificial  
<220>  
<223> CDR-H3 Ln4p-90  
15 <400> 13  
Ser Gly Leu Ile Ile Asp Asn Leu Asn Pro  
1 5 10  
<210> 14  
<211> 5  
<212> PRT  
20 <213> secuencia artificial  
<220>  
<223> CDR-H1 7B1-502  
<400> 14  
Asp Tyr Leu Leu His  
1 5  
25 <210> 15  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> secuencia artificial  
<220>  
30 <223> CDR-H2 7B1-502  
<400> 15

ES 2 557 494 T3

Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln  
1                   5                   10                   15

Gly

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR-L1 5-306

<400> 16

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Ile Leu Asn  
1                   5                   10

10 <210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

15 <223> CDR-L2 5-306

<400> 17

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser  
1                   5

<210> 18

<211> 9

20 <212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR-L3 5-306

<400> 18

Gln Gln Ser Tyr Ser Met Pro Arg Thr  
1                   5

25 <210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> secuencia artificial

30 <220>

ES 2 557 494 T3

<223> VL 5-306\* L-versión

<400> 19

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

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

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

Tyr Ala Ala Ser Asn 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 Asn Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

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

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

<210> 20

5 <211> 119

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = 7A-701

10 <400> 20

ES 2 557 494 T3

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Asn His Met Thr Pro Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 21

<211> 119

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = 7B1-502\*

<400> 21

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

ES 2 557 494 T3

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Thr Arg Thr Thr Leu Ile Ser Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 22

<211> 119

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = 3077\*

<400> 22

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110



ES 2 557 494 T3

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 23

<211> 119

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = L38-A1

<400> 23

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Tyr Trp Leu Asp Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

10 <210> 24

<211> 119

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

15 <223> VH con CDR-H3 = L38-A12

<400> 24

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

ES 2 557 494 T3

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Ile Asp Ala Leu Ser Pro Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 25

<211> 119

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = L38-G7

<400> 25

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

ES 2 557 494 T3

Thr Arg Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 26

<211> 119

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = L39-D11

<400> 26

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Thr Arg Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
 115

10 <210> 27

<211> 119

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

15 <223> VH con CDR-H3 = E1-37-E7

<400> 27

ES 2 557 494 T3

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu Gly Met His Pro Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 28

<211> 119

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = MI\_3-82

<400> 28

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

ES 2 557 494 T3

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Ala Leu Arg Asp Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 29

<211> 119

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = Ln4p-23

<400> 29

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

10 <210> 30

<211> 119

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

ES 2 557 494 T3

<223> VH con CDR-H3 = Ln4p-28

<400> 30

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 31

5 <211> 119

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = Ln4p-50

10 <400> 31

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

ES 2 557 494 T3

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

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

Thr Arg Ser Thr His Phe Ser Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 32

<211> 119

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = Ln4p-65

<400> 32

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Met Asp Lys Leu Asp Asn Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

10 <210> 33

<211> 119

<212> PRT

ES 2 557 494 T3

<213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 = Ln4p-90

<400> 33

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Ile Asp Asn Leu Asn Pro Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

5

<210> 34

<211> 214

<212> PRT

<213> secuencia artificial

10

<220>

<223> Light Chain 5-306\* L-version

<400> 34

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

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

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



ES 2 557 494 T3

Tyr Ala Ala Ser Asn 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 Asn Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

<210> 35

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = 7B1-502\*

<400> 35

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr

ES 2 557 494 T3

		20						25					30				
Leu	Leu	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
		35					40					45					
Gly	Trp	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ser	Gly	Asp	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe		
	50					55					60						
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr		
65					70					75					80		
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
				85					90					95			
Thr	Arg	Thr	Thr	Leu	Ile	Ser	Val	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly		
			100					105					110				
Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
		115					120					125					
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu		
	130					135					140						
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp		
145					150					155					160		
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu		
				165					170					175			
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser		
			180					185					190				
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro		
		195					200					205					
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys		
	210					215					220						
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro		
225					230					235					240		
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser		
			245						250					255			
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp		
			260					265					270				

ES 2 557 494 T3

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

<210> 36

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 =7A-701\*

<400> 36

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

ES 2 557 494 T3

1				5						10					15
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Phe	Gly	Tyr	Pro	Phe	Thr	Asp	Tyr
			20					25					30		
Leu	Leu	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Gly	Trp	Leu	Asn	Pro	Tyr	Ser	Gly	Asp	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Thr	Arg	Ser	Gly	Leu	Ile	Ala	Asn	His	Met	Thr	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly
			100					105					110		
Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
		115					120					125			
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
	130					135					140				
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145					150					155					160
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165					170					175	
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
			180					185					190		
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
		195					200					205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
	210					215					220				
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
225					230					235					240
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
				245					250					255	

ES 2 557 494 T3

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
435 440 445

Lys

<210> 37

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = L38-A1\*

ES 2 557 494 T3

<400> 37

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Tyr Trp Leu Asp Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

ES 2 557 494 T3

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

<210> 38

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

ES 2 557 494 T3

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = L38-A12\*

<400> 38

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Ile Asp Ala Leu Ser Pro Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220



ES 2 557 494 T3

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
435 440 445

Lys

<210> 39

<211> 449

ES 2 557 494 T3

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = L38-G7\*

5 <400> 39

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Thr Arg Thr Ser Leu Met Ser Ile Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

ES 2 557 494 T3

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

ES 2 557 494 T3

<210> 40

<211> 449

<212> PRT

<213> secuencia artificial

5 <220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = L39-D11\*

<400> 40

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Thr Arg Ser Gly Leu Leu Phe Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

ES 2 557 494 T3

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 275 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

ES 2 557 494 T3

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

<210> 41

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = E1-37-E7\*

<400> 41

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu Gly Met His Pro Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175

ES 2 557 494 T3

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
405 410 415

ES 2 557 494 T3

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

<210> 42

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = M1\_3-82\*

<400> 42

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Ala Leu Arg Asp Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160



ES 2 557 494 T3

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
385 390 395 400

ES 2 557 494 T3

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

<210> 43

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = Ln4p-23\*

<400> 43

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Phe Asp Lys Leu Thr Ser Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125

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

ES 2 557 494 T3

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
370 375 380

ES 2 557 494 T3

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
435 440 445

Lys

<210> 44

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = Ln4p-28\*

<400> 44

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Asn Leu His Phe Asp Thr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

ES 2 557 494 T3

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
 210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

ES 2 557 494 T3

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

<210> 45

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = Ln4p-50\*

<400> 45

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Thr Arg Ser Thr His Phe Ser Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

ES 2 557 494 T3

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
340 345 350

ES 2 557 494 T3

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

<210> 46

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = Ln4p-65\*

<400> 46

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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



ES 2 557 494 T3

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Met Asp Lys Leu Asp Asn Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

ES 2 557 494 T3

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

<210> 47

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = Ln4p-90\*

<400> 47

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

ES 2 557 494 T3

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

Ala Arg Ser Gly Leu Ile Ile Asp Asn Leu Asn Pro Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

ES 2 557 494 T3

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445

Lys

<210> 48

<211> 449

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> Cadena pesada con CDR-H3 = 3077\*

<400> 48

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 Ala Phe Gly Tyr Pro Phe Thr Asp Tyr  
 20 25 30

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

ES 2 557 494 T3

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

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

Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
115 120 125

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

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys  
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
290 295 300

ES 2 557 494 T3

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu  
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr  
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
435 440 445

Lys

<210> 49

<211> 127

<212> PRT

5 <213> GM-CSF humano

<400> 49

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Trp Glu His Val  
1 5 10 15

Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr  
20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Glu Thr Val Glu Val Ile Ser Glu Met Phe Asp  
35 40 45

Leu Gln Glu Pro Thr Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln

ES 2 557 494 T3

50

55

60

Gly Leu Arg Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met  
65 70 75 80

Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys  
85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Glu Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp  
100 105 110

Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu  
115 120 125

<210> 50

<211> 127

<212> PRT

5 <213> GM-CSF de macaco

<400> 50

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gln Pro Trp Glu His Val  
1 5 10 15

Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr  
20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Lys Thr Val Glu Val Val Ser Glu Met Phe Asp  
35 40 45

Leu Gln Glu Pro Ser Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln  
50 55 60

Gly Leu Gln Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met  
65 70 75 80

Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys  
85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Gln Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp  
100 105 110

Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu  
115 120 125

<210> 51

<211> 127

10 <212> PRT

ES 2 557 494 T3

<213> GM-CSF de gibón

<400> 51

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

<210> 52

5 <211> 119

<212> PRT

<213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 7B1-502

10 <400> 52

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



ES 2 557 494 T3

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

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

Thr Arg Thr Thr Leu Ile Ser Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 53

<211> 119

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> VH con CDR-H3 3077

<400> 53

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

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

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

Gly Trp Leu Asn Pro Tyr Ser Gly Asp Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

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

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

Thr Arg Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
115

10 <210> 54

<211> 107

<212> PRT

ES 2 557 494 T3

<213> secuencia artificial

<220>

<223> VL 5-306

<400> 54

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

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

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

Tyr Ala Ala Ser Asn 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 Asn Ser Leu Gln Pro  
65 70 75 80

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

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

5

<210> 55

<211> 107

<212> PRT

<213> secuencia artificial

10 <220>

<223> VL 5-306\* V-versión

<400> 55

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

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

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

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

ES 2 557 494 T3

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

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

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

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> CDR-H3 3077

<400> 56

Ser Gly Leu Ile Ala Val Tyr Phe Asp Tyr  
1 5 10

10 <210> 57

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Trp Glu His Val  
1 5 10 15

Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr  
20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Glu Thr Val Glu Val Ile Ser Glu Met Phe Asp  
35 40 45

Leu Gln Glu Pro Thr Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln  
50 55 60

Gly Leu Arg Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met  
65 70 75 80

Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys  
85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Glu Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp  
100 105 110

15

ES 2 557 494 T3

Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu  
 115 120 125

<210> 58

<211> 127

<212> PRT

5 <213> Hylobates sp.

<400> 58

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Trp Glu His Val  
 1 5 10 15

Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr  
 20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Glu Thr Val Glu Val Ile Ser Glu Met Phe Asp  
 35 40 45

Leu Gln Glu Pro Thr Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln  
 50 55 60

Gly Leu Arg Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met  
 65 70 75 80

Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys  
 85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Glu Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp  
 100 105 110

Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu  
 115 120 125

<210> 59

<211> 127

10 <212> PRT

<213> Macaca mulatta

<400> 59

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gln Pro Trp Glu His Val  
 1 5 10 15

Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr  
 20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Lys Thr Val Glu Val Val Ser Glu Met Phe Asp  
 35 40 45

ES 2 557 494 T3

Leu Gln Glu Pro Ser Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln  
50 55 60

Gly Leu Gln Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met  
65 70 75 80

Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys  
85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Gln Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp  
100 105 110

Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu  
115 120 125

<210> 60

<211> 127

<212> PRT

5 <213> *Macaca fascicularis*

<400> 60

Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Gly Thr Gln Pro Trp Glu His Val  
1 5 10 15

Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp Thr  
20 25 30

Ala Ala Glu Met Asn Lys Thr Val Glu Val Val Ser Glu Met Phe Asp  
35 40 45

Leu Gln Glu Pro Ser Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys Gln  
50 55 60

Gly Leu Gln Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met Met  
65 70 75 80

Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser Cys  
85 90 95

Ala Thr Gln Ile Ile Thr Phe Gln Ser Phe Lys Glu Asn Leu Lys Asp  
100 105 110

Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu  
115 120 125

## REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica, comprendiendo la composición:
  - (a) un compuesto neutralizante de GM-CSF; y
  - (b) un compuesto neutralizante de IL-17,
- 5 en la que el compuesto neutralizante de GM-CSF es un anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a GM-CSF, y en la que el compuesto neutralizante de IL-17 es un anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a IL-17.
2. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a GM-CSF y/o el anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a IL-17 es un anticuerpo monoclonal humano o un fragmento funcional del mismo.
- 10 3. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que el anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a GM-CSF se une a un epítipo, preferentemente un epítipo discontinuo, de GM-CSF, epítipo que comprende los aminoácidos 23-27 (RRLLN) y/o aminoácidos 65-77 (GLR/QGSLTKLKGPL).
- 15 4. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, en la que dicho epítipo discontinuo comprende además:
  - (a) aminoácidos 28-31 (LSRD);
  - (b) aminoácidos 32-33 (TA) y/o
  - (c) aminoácidos 21-22 (EA).
- 20 5. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en la que dicho anticuerpo o fragmento funcional del mismo de unión a GM-CSF comprende en su región variable de la cadena pesada una CDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos elegida del grupo que consiste en las que se establecen en cualquiera de las SEQ ID NO: 1-13 y 56.
- 25 6. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5, en la que cualquiera de dichas secuencias de CDR3 de región variable de la cadena pesada existe conjuntamente en una región variable de la cadena pesada con la secuencia de CDR1 de región variable de la cadena pesada establecida en SEQ ID NO: 14 y la secuencia de CDR2 de región variable de la cadena pesada establecida en SEQ ID NO: 15.
- 30 7. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, en la que dicho anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena ligera una CDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 16, una CDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 17, y una CDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 18.
- 35 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en la que dicho anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo comprende además en su región variable de la cadena ligera una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 19, 54 y 55.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 5 o 6, en la que dicho anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena pesada una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 20-33, 52 y 53.
- 40 10. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en la que dicho anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena ligera una CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 16, una CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 17 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 18; y comprende en su región variable de la cadena pesada una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 14, una región CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 15 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 1-13 y 56.
- 45 11. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, en la que dicho anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo comprende en su región variable de la cadena ligera una CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 16, una CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 17 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 18; y comprende en su región variable de la cadena pesada una región CDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 14, una
- 50

región CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 15 y una CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO: 2.

- 5 12. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, en la que dicho anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera como se establece en la SEQ ID NO: 34 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 35-48.
- 10 13. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, en la que dicho anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo comprende una secuencia de aminoácidos de la cadena ligera como se establece en la SEQ ID NO: 34 y una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada como se establece en la SEQ ID NO: 35.
- 15 14. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 13, en la que dicho anticuerpo monoclonal humano o fragmento funcional del mismo comprende una secuencia de aminoácidos que lleva una homología de al menos un 70 % con la secuencia de aminoácidos respectiva como se establece en cualquiera de las SEQ ID NO: 1-48 y 52-56.
- 20 15. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la que la composición es para su uso en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria.
- 25 16. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en la que dicha enfermedad inflamatoria se elige del grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide que es resistente al tratamiento con neutralizantes de TNF-alfa, asma, esclerosis múltiple, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda, fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, uveítis, degeneración macular, colitis, psoriasis, degeneración walleriana, síndrome antifosfolípido, síndrome coronario agudo, restinosis, aterosclerosis, policondritis recidivante, hepatitis aguda o crónica, implantes ortopédicos fracasados, glomerulonefritis, lupus y trastornos autoinmunitarios.
- 30 17. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 15, 16, en la que
  - (a) el compuesto neutralizante de GM-CSF se administra antes del compuesto neutralizante de IL-17;
  - (b) el compuesto neutralizante de GM-CSF se administra posterior al compuesto neutralizante de IL-17; o
  - (c) el compuesto neutralizante de GM-CSF y compuesto neutralizante de IL-17 se administran simultáneamente.
18. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en la que dicha composición se administra a un sujeto humano o un primate no humano.

Figura 1

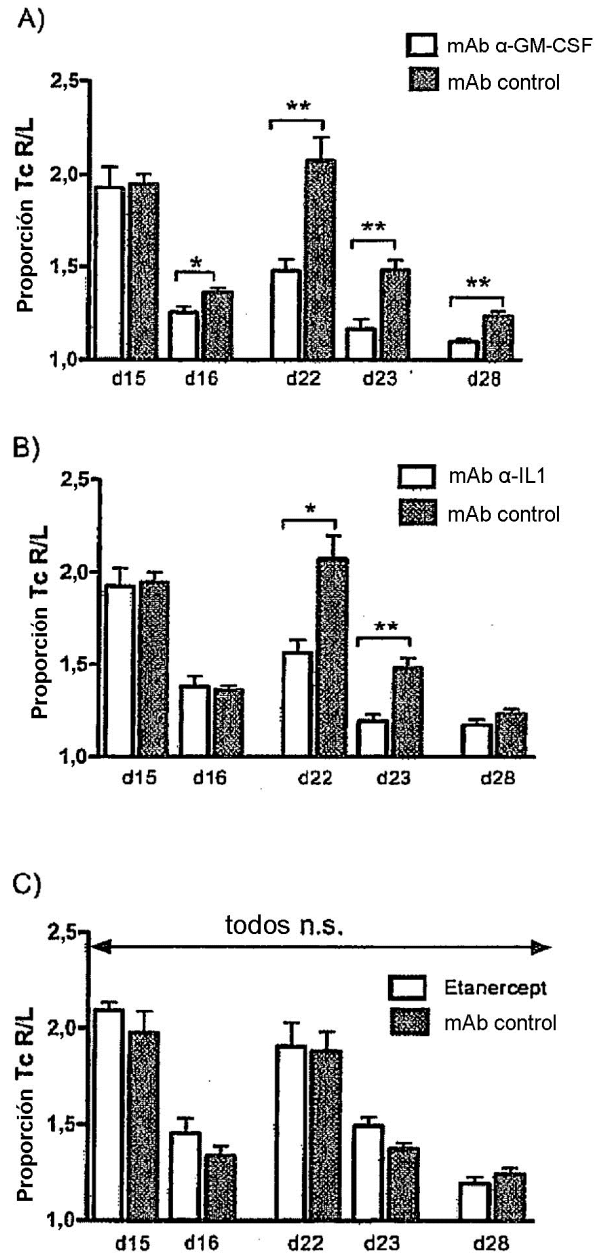




Figura 2

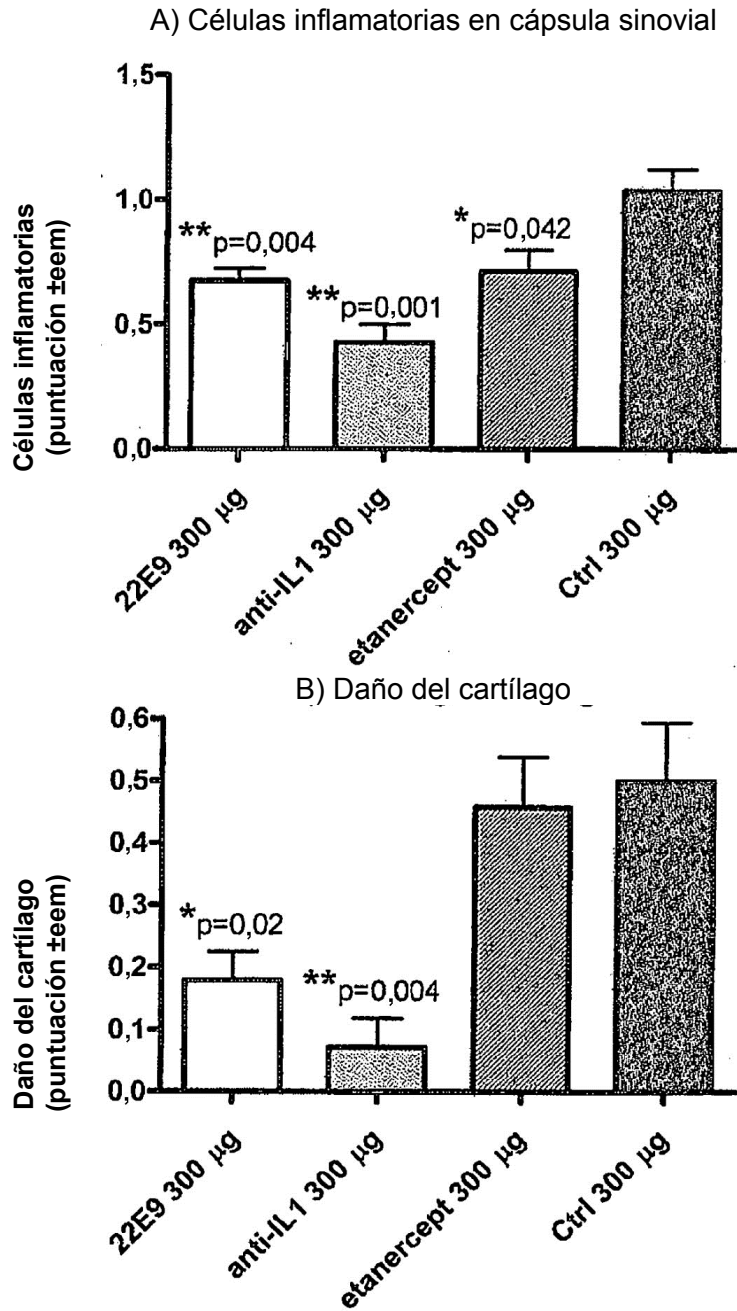


Figura 3

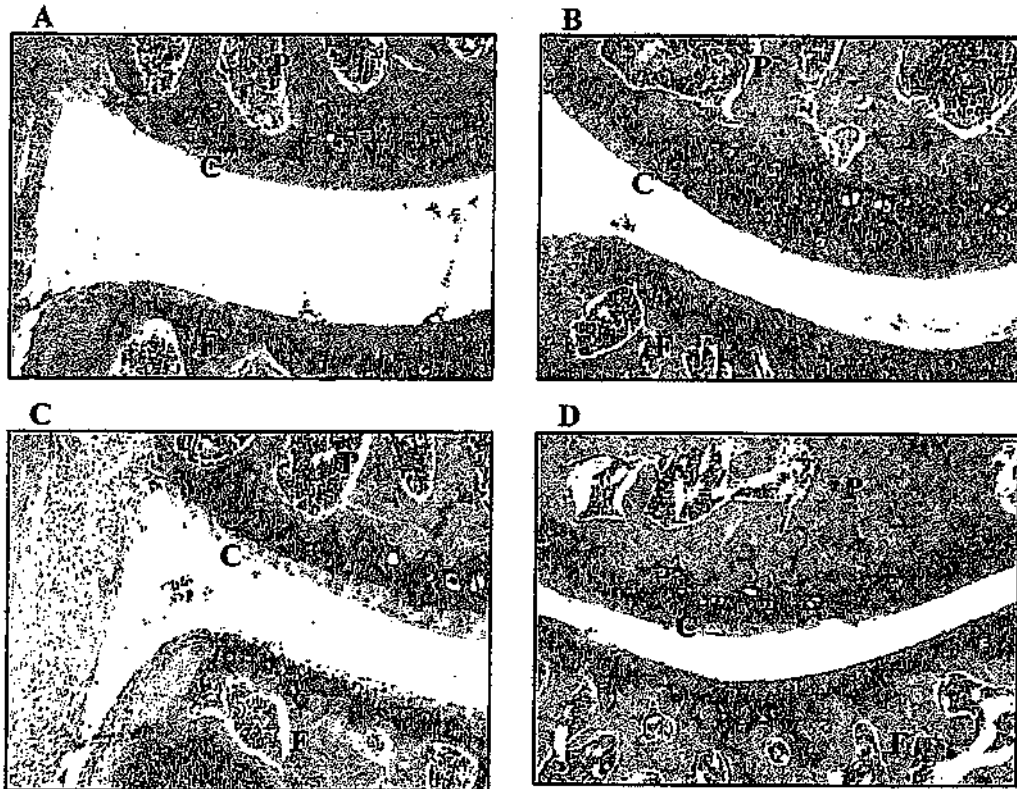


Figura 4

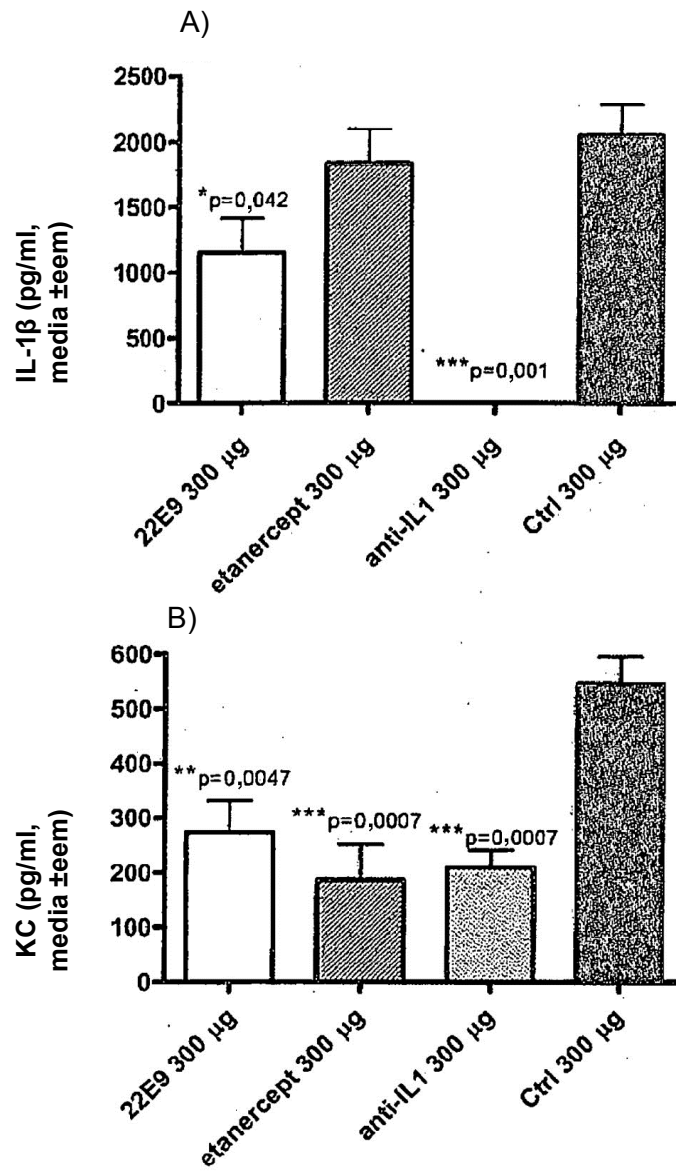


Figura 5

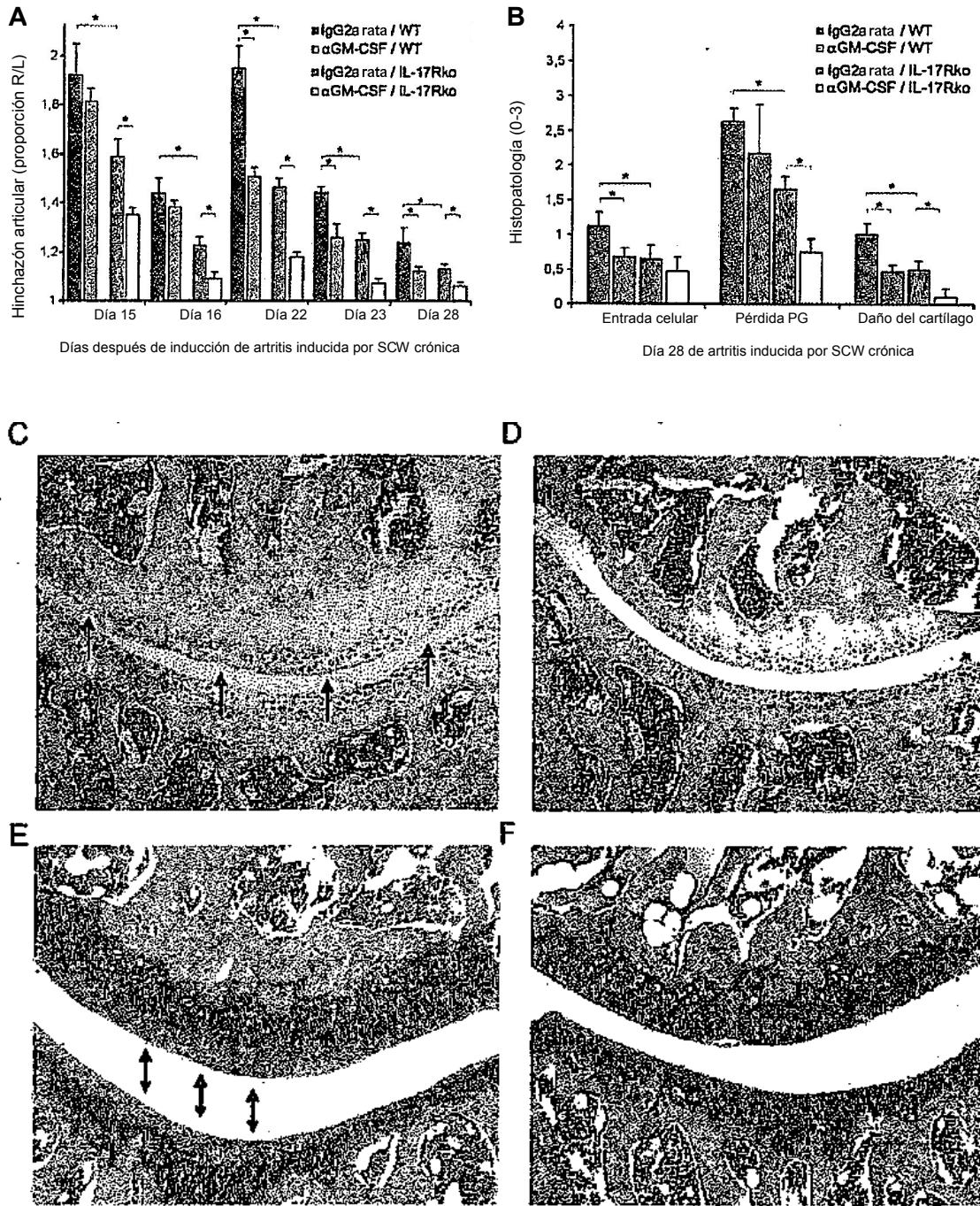


Figura 6

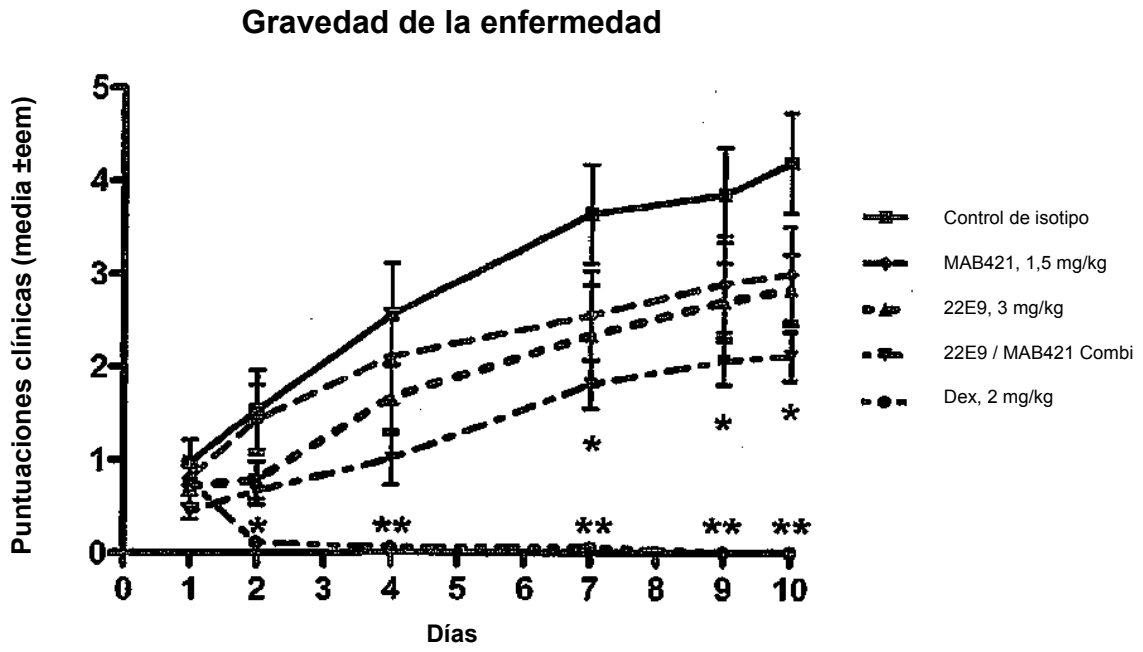


Figura 7

