(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 593 754**

(51) Int. CI.:

C07K 16/24 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.11.2011 PCT/US2011/058869**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2012 WO12061448**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.11.2011 E 11781949 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016 EP 2635601**

(54) Título: **Anticuerpos anti-IL-23**

(30) Prioridad:

03.03.2011 US 201161448785 P
11.11.2010 US 412594 P
10.11.2010 US 411953 P
04.11.2010 US 410158 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.12.2016

(73) Titular/es:

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH (100.0%)
Binger Strasse 173
55216 Ingelheim am Rhein, DE

(72) Inventor/es:

BARRETT, RACHEL REBECCA;
CANADA, KEITH;
CATRON, KATRINA MARY;
COPENHAVER, ROBERT;
FREGO, LEE EDWARD;
RAYMOND, ERNEST LEE;
SINGH, SANJAYA y
ZHU, XIANGYANG

(74) Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

Observaciones :

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

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-IL-23

Campo técnico de la invención

Esta invención se refiere de manera general a anticuerpos anti-IL-23p19 para su uso terapéutico y de diagnóstico. Más específicamente, se divulgan anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados y métodos de uso para el tratamiento de diversas enfermedades o trastornos. También se divulgan composiciones farmacéuticas y kits que comprenden tales compuestos.

Antecedentes de la invención

Los eucariotas superiores han hecho evolucionar una respuesta intricada frente a patógenos que se inicia mediante la respuesta inmunitaria innata y va seguida por la respuesta inmunitaria adaptativa. En conjunto, estos dos mecanismos no sólo erradican patógenos que infectan al organismo sino que también establecen una respuesta inmunológica a largo plazo frente a futuras exposiciones. Deficiencias en estas respuestas pueden dar como resultado un aumento de la propensión a infecciones y/o alteraciones de la respuesta inmunitaria adaptativa que conducen a autoinmunidad e inflamación crónica. Desde hace mucho tiempo se ha considerado que IL-12, una citocina heterodimérica que consiste en una subunidad de proteína p40 y una p35, como la citocina característica de la respuesta inmunitaria innata con influencia principal sobre la inmunidad adaptativa. Sin embargo, datos de la investigación del papel biológico de esta citocina condujeron a resultados confusos. Por ejemplo, aunque ratones deficientes en para p40 eran resistentes a artritis inducida por colágeno (CIA) y encefalomielitis autoinmunitaria experimental (EAE), ratones deficientes en p35 eran propensos a ambas e incluso presentaron enfermedad agravada. Tales misterios comenzaron a resolverse con el descubrimiento, a finales de la década de 1990, de un nuevo miembro en la familia de la citocina IL-12 con un papel diferenciado en la respuesta inmunitaria, IL-23.

IL-23 está compuesta por una subunidad común (p40) a IL-12 y una subunidad única p19. A pesar de esta subunidad p40 compartida, los papeles para IL-23 e IL-12 son bastante diferentes. IL-12 es importante para las respuestas de Th1 mediante el fomento de la diferenciación, proliferación y activación de células Th1. En cambio, IL-23 respalda el desarrollo y mantenimiento de un conjunto recientemente definido de células cooperadoras T $CD4^+$ denominadas células Th17 debido a su capacidad para producir IL-17 y citocinas relacionadas. Cada vez hay más evidencias de que IL-23 está implicada en la inflamación autoinmunitaria crónica y la modulación de la actividad de IL-23 podría proporcionar terapias prometedoras frente a enfermedades autoinmunitarias.

Por tanto, existe una necesidad de moléculas antagonistas frente a IL-23 con propiedades farmacológicas beneficiosas, que puedan usarse como agentes terapéuticos para tratar enfermedades, en particular enfermedades inmunológicas y autoinmunitarias en humanos.

Por consiguiente, un objetivo de la presente invención es proporcionar moléculas antagonistas anti-IL-23, en particular moléculas antagonistas anti-IL-23 que tengan una alta afinidad de unión a IL-23.

Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar moléculas antagonistas anti-IL-23, que tengan una alta especificidad por IL-23.

Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar antagonistas anti-IL-23, que tengan una alta actividad bloqueante para la asociación de IL-23 y su receptor.

Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar antagonistas anti-IL-23, que tengan una potente actividad celular.

Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar antagonistas anti-IL-23, que tengan una biodisponibilidad favorable.

Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar antagonistas anti-IL-23, que tengan propiedades biofísicas favorables.

Objetivos adicionales de la presente invención incluyen combinaciones de cualquiera de los objetivos expuestos anteriormente.

Se conocen anticuerpos frente a IL-23p19, por ejemplo, a partir del documento WO 2007/024846.

Sumario de la invención

La presente invención aborda las necesidades anteriores y proporciona anticuerpos que se unen a la subunidad p19 de la proteína IL-23. La invención es tal como se expone en las reivindicaciones. En un aspecto, un anticuerpo de la

presente divulgación se une a IL-23 humana con alta afinidad. En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación inhibe la producción estimulada por IL-23 de IL-17 a partir de esplenocitos de ratón. En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación no se une a ni antagoniza IL-12, que es un miembro de la familia estrechamente relacionado con IL-23.

En una realización, la presente divulgación proporciona anticuerpos anti-IL-23p19 que se derivan de hibridomas de ratón, por ejemplo anticuerpos monoclonales. En una realización, la presente divulgación proporciona anticuerpos anti-IL-23p19 de longitud completa. En otra realización, la presente divulgación proporciona anticuerpos humanizados anti-IL-23p19, por ejemplo anticuerpos anti-IL-23p19 monoclonales humanizados, por ejemplo anticuerpos anti-IL-23p19 monoclonales humanizados de longitud completa. En un aspecto, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación se une a IL-23 humana con alta afinidad. En otro aspecto, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación también se une a IL-23 de macaco cangrejero con alta afinidad. En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 en células DB. En otro aspecto, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación antagoniza la acción de IL-23 mediante unión a la subunidad p19 de IL-23, por ejemplo tal como se mide mediante la inhibición de citocinas tales como IL-17 e IL-22, cuya producción se estimula mediante IL-23. En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene un perfil farmacocinético (PK) favorable. En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene propiedades biofísicas favorables, tales como calidad, estabilidad o solubilidad, por ejemplo tal como se define mediante el porcentaje de anticuerpo en forma monomérica.

Realizaciones adicionales abarcan moléculas de ADN que codifican para anticuerpos de la presente divulgación, vectores de expresión y células huésped que comprenden tales moléculas de ADN, y métodos de preparación de anticuerpos de la presente invención. La presente invención proporciona además usos terapéuticos para los anticuerpos de la presente invención, en particular frente a enfermedades inmunológicas y autoinmunitarias.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una secuencia de CDR1 de cadena ligera (L-CDR1) de SEQ ID NO: 1, 4, 6, 7, 8, 11, 15, 18, 19, 22, 27 o 30; una secuencia de CDR2 de cadena ligera (L-CDR2) de SEQ ID NO: 2, 5, 9, 12, 16, 20, 23, 25, 28 o 31; una secuencia de CDR3 de cadena ligera (LCDR3) de SEQ ID NO: 3, 10, 13, 14, 17, 21, 24, 26, 29 o 32; una secuencia de CDR1 de cadena pesada (H-CDR1) de SEQ ID NO: 33, 36, 38, 40, 43, 45, 48, 51, 54, 57, 60, 63, 66, 67, 68, 69, 77 u 80; una secuencia de CDR2 de cadena pesada (H-CDR2) de SEQ ID NO: 34, 39, 41, 46, 49, 52, 55, 58, 61, 64, 70, 72, 73, 75, 78 u 81; y una secuencia de CDR3 de cadena pesada (HCDR3) de SEQ ID NO: 35, 37, 42, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65, 71, 74, 76, 79 u 82. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una L-CDR1 indicada anteriormente, una L-CDR2 indicada anteriormente y una L-CDR3 indicada anteriormente, y una región variable de cadena pesada que comprende una H-CDR1 indicada anteriormente, una H-CDR2 indicada anteriormente y una H-CDR3 indicada anteriormente.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 33, 34, y 35, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de LCDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 4, 5, 3, 36, 34 y 37, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 38, 39 y 35, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 6, 2, 3, 40, 41 y 42, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 7, 2, 3, 43, 41 y 44, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 45, 46 y 47, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 48, 49 y 50, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 11, 12, 13, 51, 52 y 53, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 7, 2, 14, 54, 55 y 56, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 15, 16, 17, 57, 58 y 59, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 18, 16, 17, 60, 61 y 62, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 19, 20, 21, 63, 66, 67 o 68, 64 y 65, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 22, 23, 24, 69, 70 y 71, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 22, 25, 26, 55, 72 y 71, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 45, 73 y 74, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 27, 28, 29, 45, 75 y 76, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 77, 78 y

79, respectivamente; o una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 30, 31, 32, 80, 81 y 82, respectivamente. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una combinación de L-CDR1, L-CDR2 y L-CDR3 indicada anteriormente, y una región variable de cadena pesada que comprende una combinación de H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 indicada anteriormente.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 109 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 111 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 113 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154; o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 158, 160,162 y 164 y una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 166, 168, 170 y 172.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una K_D para IL-23 de menos de 40 pM, o una K_D para IL-23 de menos de 20 pM, o K_D para IL-23 de menos de 10 pM o K_D para IL-23 de menos de 1 pM.

En una realización adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-23p19 humana en un epítopo que consiste en los residuos de aminoácido de 108 a 126 y los residuos de aminoácido de 137 a 151 de SEQ ID NO: 181.

En una realización adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-23p19 humana mediante competencia con un anticuerpo de la presente divulgación. En una realización, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-23p19 humana mediante competencia con un anticuerpo anti-IL-23p19

monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176. En una realización la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-23p19 humana mediante competencia con un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 178. En una realización, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-23p19 humana mediante competencia con un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 180 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176. En una realización, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-23p19 humana mediante competencia con un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 180 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 178.

En la invención, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo humanizado. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo de longitud completa. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa. En una realización el fragmento de unión a antígeno es un fragmento Fab, $F(ab')_2$, o Fv de cadena sencilla. En una realización, el fragmento de unión a antígeno comprende una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (CDR3-L): la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63, 66, 67 o 68 (CDR1-H); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); y la secuencia de aminoácidos de SEQ I D NO: 65 (CDR3-H).

En una realización, la presente invención proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (CDR3-L): la secuencia de aminoácidos de SEQ ID. NO: 66 (CDR1-H); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63, 66, 67 o 68 (CDR1-H); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo anticuerpo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66 (CDR1-H); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 158, 160, 162 o 164; y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 166, 168, 170 o 172.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y una región variable de

cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 168.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 168.

En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo humanizado. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo de longitud completa. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado, por ejemplo un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa. En una realización, el fragmento de unión a antígeno es un fragmento Fab, $F(ab')_2$, o Fv de cadena sencilla. En una realización, el fragmento de unión a antígeno comprende una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 166 o 168 unida a una región constante de cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA o IgE humana. Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166 o 168 unida a una región constante de cadena pesada de IgG1 humana. Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 o 160 unida a una región constante de cadena ligera kappa o lambda humana. Un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 o 160 unida a una región constante de cadena ligera kappa humana.

En una realización, la presente invención proporciona además un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166 o 168 unida a una región constante de cadena pesada de IgG1 humana; y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 o 160 unida a una región constante de cadena ligera kappa humana.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en una cualquiera de SEQ ID NO: 158, 160, 162 y 164 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en una cualquiera de SEQ ID NO: 166, 168, 170 y 172.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 168.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 168.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 o 180 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176 o 178.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal

humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 178.

En una realización, la presente divulgaión proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 180 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 180 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 178.

En una realización adicional, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 160 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO: 160 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 166 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO: 166. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

En una realización adicional, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 160 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO: 160 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 168 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO: 168. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

En una realización adicional, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 158 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO: 158 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 166 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO: 166. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

En una realización adicional, la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 158 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO: 158 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 168 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO: 168. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente por una K_D para IL-23 humana igual o inferior a 1 pM. En un aspecto, no hay ningún desplazamiento en la constante de disociación en suero humano al 50%.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente porque bloquea la unión de IL-23 a IL-23R/Fc humano *in vitro*.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente porque no se une a IL-12 humana.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente porque inhibe la producción de IL-17 inducida por IL-23 humana en esplenocitos de ratón con CI_{50} iguales o inferiores a 20 pM.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse

adicionalmente porque inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 humana en células DB humanas con CI_{50} iguales o inferiores a 40 pM.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente porque no tiene ninguna actividad predicha en ADCC/CDC.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente porque tiene una K_D igual o inferior a 1 pM para IL-23 de macaco cangrejero.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente porque no tiene ninguna reactividad cruzada frente a IL-23 de ratón o rata.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente porque inhibe la producción de IL-17 e IL-22 inducida por IL-23 humana en una oreja de ratón al 80% o inhibición mayor de ambas citocinas a 1 mg/kg.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente por una temperatura de fusión de 83ºC tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación puede caracterizarse adicionalmente por una solubilidad igual o superior a 100 mg/ml, tal como se mide mediante espectroscopía de UV y se monitoriza mediante turbidez.

En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente invención puede caracterizarse adicionalmente porque está presente en al menos el 90% en forma monomérica, o en al menos el 92% en forma monomérica, o en al menos el 95% en forma monomérica en un tampón.

En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente invención puede caracterizarse adicionalmente porque permanece en al menos el 90% en forma monomérica, o en al menos el 92% en forma monomérica, o en al menos el 95% en forma monomérica en un tampón durante un mes o durante cuatro meses.

En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

Realizaciones adicionales abarcan una molécula de ADN que codifica para una región variable de cadena ligera anterior, una molécula de ADN que codifica para una región variable de cadena pesada anterior, una molécula de ADN que codifica para una región de cadena ligera anterior, o una molécula de ADN que codifica para una región de cadena pesada anterior.

Realizaciones adicionales abarcan un vector de expresión que contiene una molécula de ADN anterior. En una realización, un vector de expresión comprende una molécula de ADN que codifica para la cadena pesada constante y/o la cadena ligera constante, respectivamente, unida a la molécula de ADN que codifica para la cadena pesada variable y/o la cadena ligera variable, respectivamente. Realizaciones adicionales abarcan una célula huésped que porta uno o más vectores de expresión anteriores. En una realización, un huésped es una célula de mamífero.
Realizaciones adicionales abarcan un método para producir un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo anterior, que comprende transfectar una célula huésped de mamífero con uno o más de los vectores anteriores, cultivar la célula huésped y recuperar y purificar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

Realizaciones adicionales abarcan un método para producir un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo anterior, que comprende obtener una célula huésped de mamífero que comprende uno o más de los vectores anteriores, y cultivar la célula huésped. En una realización, el método comprende además recuperar y purificar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo anterior para su uso en medicina. En una realización, el uso es el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, de una enfermedad autoinmunitaria, de una enfermedad respiratoria, de un trastorno metabólico o de cáncer. En una realización, el uso es para el tratamiento de psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide o espondilitis anquilosante. En una realización, el uso es para el tratamiento de psoriasis. En una realización, el uso es para el tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino.

En una realización, la presente divulgación proporciona además una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo molécula o fragmento de unión a antígeno anterior y un portador farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un método para tratar una enfermedad inflamatoria, una enfermedad autoinmunitaria, una enfermedad respiratoria, un trastorno metabólico o cáncer que comprende administrar a un sujeto que lo necesita, por ejemplo un paciente, una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo anterior, o una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra mediante una vía de administración parenteral; o se administra por vía intravenosa o subcutánea. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra por vía subcutánea. En una realización, la enfermedad es psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide o espondilitis anquilosante. En una realización, la enfermedad es psoriasis. En una realización, la enfermedad es enfermedad inflamatoria del intestino.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un método para inhibir la unión de IL-23 al receptor de IL-23 en una célula de mamífero, que comprende administrar a la célula una molécula de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior, mediante lo cual se inhibe la señalización mediada por el receptor de IL-23.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un método para tratar a un sujeto que tiene un trastorno asociado con IL-23, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior, anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a IL-23 humana.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un método para detectar y/o cuantificar niveles de IL-23 en una muestra biológica poniendo la muestra en contacto con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior y detectando la unión del anticuerpo o fragmento del mismo con IL-23p19. Esta información puede usarse para diagnosticar un trastorno asociado con IL-23. Por tanto, se proporcionan métodos para diagnosticar un trastorno asociado con IL-23 o para determinar si un sujeto tiene un riesgo aumentado de desarrollar un trastorno asociado con IL-23, en los que el método comprende poner en contacto una muestra biológica de un sujeto con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior y detectar la unión del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno a IL-23p19 para determinar la expresión o concentración de IL-23.

En una realización, la presente divulgación proporciona además un método para inhibir la unión de IL-23 al receptor de IL-23 en una célula, que comprende administrar a la célula o al entorno celular un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno anterior, mediante lo cual se inhibe la señalización mediada por el receptor de IL-23.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: alineación de regiones variables de ratón y humanizadas. Figura 1a: Regiones Vk modificadas por ingeniería de 6B8 anti-IL-23p19. Figura 1b: Regiones VH modificadas por ingeniería de 6B8 anti-IL-23p19.

La numeración de los aminoácidos es mediante el esquema de numeración de Kabat convencional. Fuente regular = humano; fuente en cursiva/subrayada = murino; fuente sombreada = sintético; negrita/cursiva/subrayado = CDR.

Figura 2: Ensayo de unión de competencia de la unión de IL-23 humana a IL-23R/Fc.

Descripción detallada

La subunidad p19 de IL-23 (también denominada en el presente documento “IL-23p19” y “subunidad p19”) es un polipéptido de 189 aminoácidos que contiene una secuencia líder de 21 aa (Oppmann *et al*. Immunity 13: 715 (2000), SEQ ID NO: 181). La actividad biológica de la molécula sólo se detecta cuando se empareja con la subunidad IL-12p40 para formar IL-23. IL-23 se expresa de manera predominante por células dendríticas activadas (DC) y células fagocíticas. Se encontró que el receptor de IL-23 estaba compuesto por la subunidad IL-12Rβ1 del receptor de IL-12 emparejada con una subunidad única denominada IL-23R (Parham *et al*. J. Immunol. 168: 5699 (2002)). La expresión del receptor se detecta principalmente en células T de memoria y células NK. Por tanto, la expresión de este par citocina:receptor parece estar limitada a poblaciones específicas de células inmunitarias. Aunque en primer lugar se pensó que IL-12 e IL-23 compartirían muchas funciones, los datos han mostrado que la situación es diferente. Mientras que IL-12 tiene un papel predominante en la producción de células Th1, se encontró que IL-23 estaba implicada de manera crítica en la producción y el mantenimiento de un subconjunto de células Th recientemente reconocido, denominado Th17 (Kikly *et al*. Curr. Opin. Immunol. 18: 670 (2006), Kastelein *et al*. Ann. Rev. Immunol. 25: 221 (2007)). Estas células producen IL-17A, IL-17F, IL-22 y otras citocinas proinflamatorias tales como IL-6 y TNF-α. Tal como se describe a continuación, estudios con modelos animales sobre el papel de estas células Th17 muestran su importancia como fuerza impulsora en la autoinmunidad e inflamación crónica.

La presente divulgación proporciona anticuerpos que se unen a la subunidad p19 de IL-23, en particular IL-23p19 humana. La presente divulgación también se refiere a anticuerpos humanizados que reconocen la subunidad p19 de IL-23. En realizaciones específicas, la secuencia de estos anticuerpos humanizados se ha identificado basándose en las secuencias de determinados anticuerpos de ratón líderes.
Los anticuerpos de ratón líderes de la presente divulgación se derivaron de hibridomas de ratón. La inmunización de los ratones se lleva a cabo usando diferentes técnicas. Por ejemplo, pueden producirse anticuerpos que son

específicos para proteínas IL-23p19 humanas o fragmentos de las mismas frente a un antígeno inmunogénico tal como una proteína IL-23p19 aislada, una proteína IL-23 aislada, una proteína IL-23 híbrida aislada, y/o una parte de las mismas de cualquiera de las anteriores (incluyendo péptidos sintéticos). Por ejemplo, se usa una proteína IL-23 híbrida que comprende una subunidad IL-23p40 de ratón y una subunidad IL-23p19 humana para inmunizar ratones. La preparación de antígenos inmunogénicos y la producción de anticuerpos monoclonales pueden realizarse usando cualquier técnica adecuada conocida en la técnica.

Los anticuerpos de ratón líderes se seleccionaron basándose en su alta afinidad por IL-23 humana. Por consiguiente, en un aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo que se une a IL-23 humana con alta afinidad. Se humanizaron anticuerpos de ratón seleccionados para dar como resultado anticuerpos humanizados. Los anticuerpos humanizados de la presente invención se unen a IL-23 humana con alta afinidad. Por consiguiente, en otro aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo humanizado que se une a IL-23 humana con alta afinidad. Por consiguiente, en una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 que tiene una K_D de menos de 40 pM. En una realización adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 que tiene una K_D de menos de 20 pM. En una realización adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 que tiene una K_D de menos de 10 pM. En una realización adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 que tiene una K_D de menos de 1 pM.

En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación se une a IL-23p19 con alta afinidad en ausencia de suero humano o en presencia de suero humano al 50%. En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación también se une a IL-23 de macaco cangrejero con alta afinidad.

En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación se une a IL-23, pero no se une a IL-12. En un aspecto adicional, un anticuerpo de la presente invención no interfiere con la actividad biológica de IL-12, que es un miembro de la familia estrechamente relacionado con IL-23.

En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación inhibe la producción estimulada por IL-23 de IL-17 a partir de esplenocitos de ratón.

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 en células DB.

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación antagoniza la acción de IL-23 mediante unión a la subunidad p19 de IL-23, tal como se mide mediante la inhibición de citocinas tales como IL-17 e IL-22, cuya producción se estimula mediante IL-23, y se detecta mediante la reducción en los niveles de estas citocinas.

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene un perfil farmacocinético (PK) favorable, tal como se muestra a modo de ejemplo mediante la semivida *in vivo* en macacos cangrejeros.

En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado de la presente divulgación tiene propiedades biofísicas favorables, por ejemplo calidad, estabilidad o solubilidad.

En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo humanizado. En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal. En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo de longitud completa. En un aspecto, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado, por ejemplo un anticuerpo monoclonal humanizado de longitud completa.

Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente divulgación reconoce un “epítopo antigénico de IL-23p19” o “epítopo de IL-23p19” específico. Tal como se usan en el presente documento estos términos se refieren a una molécula (por ejemplo, un péptido) o un fragmento de una molécula capaz de presentar inmunorreactividad con un anticuerpo anti-IL-23p19 y, por ejemplo, incluyen un determinante antigénico de IL-23p19 reconocido por cualquiera de los anticuerpos que tienen una combinación de secuencias de cadena ligera/cadena pesada de SEQ ID NO: 84/121, 86/123, 88/125, 90/127, 91/128, 93/130, 95/132, 97/134, 99/136, 101/138, 103/140, 105/142, 107/144, 109/146, 111/148, 113/150, 115/152, 117/154, 119/156, 160/166, 160/168, 158/166 o 158/168. Pueden incluirse epítopos antigénicos de IL-23p19 en proteínas, fragmentos de proteínas, péptidos o similares. Los epítopos son lo más comúnmente proteínas, oligopéptidos cortos, compuestos miméticos de oligopéptidos (es decir, compuestos orgánicos que imitan las propiedades de unión a anticuerpo del antígeno de IL-23p19) o combinaciones de los mismos. Se piensa que el tamaño mínimo de un epítopo peptídico o polipeptídico para un anticuerpo es de aproximadamente cuatro a cinco aminoácidos. Los epítopos peptídicos o polipeptídicos contienen por ejemplo al menos siete aminoácidos o por ejemplo al menos nueve aminoácidos o por ejemplo entre aproximadamente 15 y aproximadamente 20 aminoácidos. Dado que un anticuerpo puede reconocer un péptido o polipéptido antigénico en su forma terciaria, no se necesita que los aminoácidos que comprenden un epítopo sean contiguos, y en algunos casos, pueden no estar ni siquiera en la misma cadena peptídica. Pueden determinarse epítopos mediante diversas técnicas conocidas en la técnica, tales como cristalografía de rayos X, espectrometría de masas con intercambio de hidrógeno/deuterio (HXMS), mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis por barrido de alanina, y métodos de examen

de péptidos.

Los expertos en la técnica conocen bien la estructura generalizada de anticuerpos o inmunoglobulina. Estas moléculas son glicoproteínas heterotetraméricas, normalmente de aproximadamente 150.000 dalton, compuestas por dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas y se denominan normalmente anticuerpos de longitud completa. Cada cadena ligera está unida covalentemente a una cadena pesada mediante un enlace disulfuro para formar un heterodímero, y la molécula heterotetramérica se forma mediante un enlace disulfuro covalente entre las dos cadenas pesadas idénticas de los heterodímeros. Aunque las cadenas ligeras y pesadas se unen entre sí mediante un enlace disulfuro, el número de enlaces disulfuro entre las dos cadenas pesadas varía por isotipo de inmunoglobulina. Cada cadena pesada y ligera también tiene puentes disulfuro intracatenarios espaciados regularmente. Cada cadena pesada tiene en el extremo amino-terminal un dominio variable (V_H), seguido por tres o cuatro dominios constantes (C_{H1}, C_{H2}, C_{H3} y C_{H4}), así como una región bisagra entre C_{H1} y C_{H2}. Cada cadena ligera tiene dos dominios, un dominio variable amino-terminal (V_L) y un dominio constante carboxilo-terminal (C_L). El dominio V_L se asocia de manera no covalente con el dominio V_H, mientras que el dominio C_L se une comúnmente de manera covalente al dominio C_{H1} mediante un enlace disulfuro. Se cree que residuos de aminoácido particulares forman una superficie de contacto entre los dominios variables de cadenas ligera y pesada (Chothia *et al.*, 1985, J. Mol. Biol. 186: 651-663). Los dominios variables también se denominan en el presente documento regiones variables.

Determinados dominios dentro de los dominios variables difieren ampliamente entre diferentes anticuerpos, es decir, son “hipervariables”. Estos dominios hipervariables contienen residuos que están directamente implicados en la unión y especificidad de cada anticuerpo particular por su determinante antigénico específico. La hipervariabilidad, en los dominios variables tanto de la cadena ligera como de la cadena pesada, se concentra en tres segmentos conocidos como regiones determinantes de la complementariedad (CDR) o bucles hipervariables (HVL). Las CDR se definen mediante comparación de secuencias en Kabat *et al.*, 1991, en: Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., mientras que los HVL (también denominados en el presente documento CDR) se definen estructuralmente según la estructura tridimensional del dominio variable, tal como se describe por Chothia y Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-917. Estos dos métodos dan como resultado identificaciones ligeramente diferentes de una CDR. Tal como se define por Kabat, CDR-L1 está colocada aproximadamente en los residuos 24-34, CDR-L2, aproximadamente en los residuos 50-56, y CDR-L3, aproximadamente en los residuos 89-97 en el dominio variable de cadena ligera; CDR-H1 está colocada aproximadamente en los residuos 31-35, CDR-H2 aproximadamente en los residuos 50-65, y CDR-H3 aproximadamente en los residuos 95-102 en el dominio variable de cadena pesada. Los números de residuo exactos que abarcan una CDR particular variarán dependiendo de la secuencia y el tamaño de la CDR. Los expertos en la técnica pueden determinar de manera rutinaria qué residuos comprenden una CDR particular dada la secuencia de aminoácidos de región variable del anticuerpo. Las CDR1, CDR2, CDR3 de las cadenas pesada y ligera definen por tanto las propiedades únicas y funcionales para un anticuerpo dado.

Las tres CDR dentro de cada una de las cadenas pesada y ligera están separadas por regiones de entramado (FR), que contienen secuencias que tienden a ser menos variables. Desde el extremo amino-terminal hasta el extremo carboxilo-terminal de los dominios variables de cadenas pesada y ligera, las FR y CDR están dispuestas en el orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La configuración en gran medida en láminas β de las FR pone las CDR dentro de cada una de las cadenas en estrecha proximidad entre sí así como con las CDR de la otra cadena. La conformación resultante contribuye al sitio de unión a antígeno (véase Kabat *et al.*, 1991, pub. de NIH nº 91-3242, vol. I, páginas 647-669), aunque no todos los residuos de CDR están necesariamente implicados de manera directa en la unión a antígeno.

Los residuos de FR y los dominios constantes de Ig no están directamente implicados en la unión a antígeno, pero contribuyen a la unión a antígeno y/o median en la función efectora de anticuerpos. Se piensa que algunos residuos de FR tienen un efecto significativo sobre la unión a antígeno al menos de tres maneras: mediante unión no covalente directamente a un epítopo, mediante interacción con uno o más residuos de CDR, y afectando a la superficie de contacto entre las cadenas pesada y ligera. Los dominios constantes no están directamente implicados en la unión a antígeno pero median en diversas funciones efectoras de Ig, tales como participación del anticuerpo en citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC); citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) y fagocitosis celular dependiente de anticuerpo (ADCP).

Las cadenas ligeras de inmunoglobulina de vertebrados se asignan a una de dos clases claramente diferenciadas, kappa (κ) y lambda (λ), basándose en la secuencia de aminoácidos del dominio constante. Mediante comparación, las cadenas pesadas de inmunoglobulinas de mamíferos se asignan a una de cinco clases principales, según la secuencia de los dominios constantes: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. IgG e IgA se dividen adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, IgA_1 e IgA_2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α, δ, ε, γ y μ, respectivamente. Se conocen bien las estructuras de subunidades y las configuraciones tridimensionales de las clases de inmunoglobulinas nativas.

Los términos “anticuerpo”, “anticuerpo anti-IL-23p19”, “anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado”, “anticuerpo anti-

epítopo de IL-23p19 humanizado" y "anticuerpo anti-epítopo de IL-23p19 humanizado variante" abarcan específicamente anticuerpos monoclonales (incluyendo anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), y fragmentos de anticuerpo tales como dominios variables y otras partes de anticuerpos que muestran una actividad biológica deseada, por ejemplo, unión a IL-23p19. El término "anticuerpo monoclonal" (AcM) se refiere a un anticuerpo que es altamente específico, que se dirige frente a un único determinante antigénico, un "epítopo". Por tanto, el modificador "monoclonal" es indicativo de anticuerpos dirigidos al epítopo idéntico y no debe interpretarse como que requiera la producción del anticuerpo mediante ningún método particular. Debe entenderse que pueden producirse anticuerpos monoclonales mediante cualquier técnica o metodología conocida en la técnica; incluyendo, por ejemplo, el método del hibridoma (Kohler *et al*., 1975, Nature 256: 495), o métodos de ADN recombinante conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, la patente estadounidense nº 4.816.567), o métodos de aislamiento de compuestos monoclonales producidos de manera recombinante usando bibliotecas de anticuerpos de fagos, usando técnicas descritas en Clackson *et al*., 1991, Nature 352: 624-628, y Marks *et al*., 1991, J. Mol. Biol. 222: 581-597.

El término "monómero" se refiere a una forma homogénea de un anticuerpo. Por ejemplo, para un anticuerpo de longitud completa, monómero significa un anticuerpo monomérico que tiene dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas.

Los anticuerpos quiméricos consisten en las regiones variables de cadena pesada y ligera de un anticuerpo a partir de un anticuerpo de una especie (por ejemplo, un mamífero no humano tal como un ratón) y las regiones constantes de cadena pesada y ligera de uno de otra especie (por ejemplo, humana) y pueden obtenerse uniendo las secuencias de ADN que codifican para las regiones variables del anticuerpo de la primera especie (por ejemplo, ratón) con las secuencias de ADN para las regiones constantes del anticuerpo de la segunda (por ejemplo humano) especie y transformando un huésped con un vector de expresión que contiene las secuencias unidas para permitir que produzca un anticuerpo quimérico. Alternativamente, el anticuerpo quimérico también puede ser uno en el que una o más regiones o dominios de la cadena pesada y/o ligera son idénticas a, homólogas a, o una variante de la secuencia correspondiente en un anticuerpo monoclonal de otra clase o isotipo de inmunoglobulina, o de una secuencia consenso o de línea germinal. Los anticuerpos quiméricos pueden incluir fragmentos de tales anticuerpos, siempre que el fragmento de anticuerpo muestre la actividad biológica deseada de su anticuerpo original, por ejemplo unión al mismo epítopo (véanse, por ejemplo, la patente estadounidense nº 4.816.567; y Morrison *et al*., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855).

Los términos "fragmento de anticuerpo", "fragmento de anticuerpo anti-IL-23p19", "fragmento de anticuerpo anti-epítopo de IL-23p19", "fragmento de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado", "fragmento de anticuerpo anti-epítopo de IL-23p19 humanizado", "fragmento de anticuerpo anti-epítopo de IL-23p19 humanizado variante" se refieren a una parte de un anticuerpo anti-IL-23p19 de longitud completa, en la que se conserva una región variable o una capacidad funcional, por ejemplo, unión a epítopo de IL-23p19 específico. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a estos, un fragmento Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fd, Fv, scFv y scFv-Fc, un diacuerpo, un anticuerpo lineal, un anticuerpo de cadena sencilla, un minicuerpo, un diacuerpo formado a partir de fragmentos de anticuerpo, y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

Pueden tratarse anticuerpos de longitud completa con enzimas tales como papaína o pepsina para generar fragmentos de anticuerpo útiles. La digestión con papaína se usa para producir dos fragmentos de anticuerpo de unión a antígeno idénticos denominados fragmentos "Fab", cada uno con un único sitio de unión a antígeno, y un fragmento "Fc" residual. El fragmento Fab también contiene el dominio constante de la cadena ligera y el dominio C_{H1} de la cadena pesada. El tratamiento con pepsina produce un fragmento $F(ab')_2$ que tiene dos sitios de unión a antígeno y todavía es capaz de unirse de manera cruzada al antígeno.

Los fragmentos Fab' se diferencian de los fragmentos Fab por la presencia de residuos adicionales incluyendo una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo en el extremo C-terminal del dominio C_{H1}. Los fragmentos de anticuerpo $F(ab')_2$ son pares de fragmentos Fab' unidos mediante residuos de cisteína en la región bisagra. También se conocen otros acoplamientos químicos de fragmentos de anticuerpo.

El fragmento "Fv" contiene un sitio de unión y reconocimiento de antígeno completo que consiste en un dímero de un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en asociación estrecha, no covalente. En esta configuración, las tres CDR de cada dominio variable interaccionan para definir un sitio de unión a antígeno sobre la superficie del dímero V_H-V_L. De manera colectiva, las seis CDR confieren especificidad de unión a antígeno al anticuerpo.

Un fragmento de anticuerpo "Fv de cadena sencilla" o "scFv" es una variante de Fv de cadena sencilla que comprende los dominios V_H y V_L de un anticuerpo en la que los dominios están presentes en una única cadena polipeptídica. El Fv de cadena sencilla es capaz de reconocer y unirse a antígeno. El polipéptido de scFv también puede contener opcionalmente un grupo de unión polipeptídico colocado entre los dominios V_H y V_L con el fin de facilitar la formación de una estructura tridimensional deseada para la unión a antígeno por parte del scFv (véase, por ejemplo, Pluckthun, 1994, en The Pharmacology of monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, págs. 269-315).

Un “diacuerpo” se refiere a fragmentos de anticuerpo pequeños con dos sitios de unión a antígeno, fragmentos que comprenden un dominio variable de cadena pesada (V_H) conectado a un dominio variable de cadena ligera (V_L) en la misma cadena polipeptídica (V_H-V_L o V_L-V_H). Los diacuerpos se describen más completamente, por ejemplo, en Holliger *et al*. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448.

Otros fragmentos de anticuerpo reconocidos incluyen aquellos que comprenden un par de segmentos Fd en tándem (V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1}) para formar un par de regiones de unión a antígeno. Estos “anticuerpos lineales” pueden ser biespecíficos o monoespecíficos tal como se describe, por ejemplo, en Zapata *et al*. 1995, Protein Eng. 8(10): 1057-1062.

Un “anticuerpo humanizado” o un “fragmento de anticuerpo humanizado” es un tipo específico de anticuerpo quimérico que incluye una variante de secuencia de aminoácidos de inmunoglobulina, o fragmento de la misma, que es capaz de unirse a un antígeno predeterminado y que comprende una o más FR que tienen sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana y una o más CDR que tienen sustancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina no humana. Esta secuencia de aminoácidos no humana denominada con frecuencia secuencia “de importación” se toma normalmente de un dominio de anticuerpo “de importación”, particularmente un dominio variable. En general, un anticuerpo humanizado incluye al menos las CDR o HVL de un anticuerpo no humano, insertadas entre las FR de un dominio variable de cadena pesada o ligera humano. La presente invención describe anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados específicos que contienen CDR derivadas de los anticuerpos monoclonales de ratón o CDR humanizadas mostrados en las tablas 3 y 4 insertadas entre las FR de dominios variables de cadena pesada y ligera de secuencia de línea germinal humana. Se entenderá que determinados residuos de FR de ratón pueden ser importantes para la función de los anticuerpos humanizados y por tanto algunos de los residuos de dominios variables de cadena pesada y ligera de secuencia de línea germinal humana se modifican para ser iguales a los de la secuencia de ratón correspondiente.

En otro aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado comprende sustancialmente la totalidad de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables (tal como se contienen, por ejemplo, en fragmentos Fab, Fab’, $F(ab')_2$, Fabc, y Fv) en los que todas, o sustancialmente todas, las CDR corresponden a las de una inmunoglobulina no humana, y específicamente en el presente documento, todas las CDR son secuencias de ratón o humanizadas tal como se detalla en las tablas 1 a 4 a continuación en el presente documento y todas, o sustancialmente todas, las FR son las de una secuencia de línea germinal o consenso de inmunoglobulina humana. En otro aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado también incluye al menos una parte de una región Fc de inmunoglobulina, normalmente la de una inmunoglobulina humana. Habitualmente, el anticuerpo contendrá tanto la cadena ligera así como también al menos el dominio variable de una cadena pesada. El anticuerpo también puede incluir una o más de las regiones C_{H1}, bisagra, C_{H2}, C_{H3} y/o C_{H4} de la cadena pesada, según sea apropiado.

Puede seleccionarse un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de cualquier clase de inmunoglobulinas, incluyendo IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, y cualquier isotipo, incluyendo IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, IgA_1 e IgA_2. Por ejemplo, el dominio constante puede ser un dominio constante de fijación a complemento cuando se desea que el anticuerpo humanizado muestre actividad citotóxica, y el isotipo es normalmente IgG_1. Cuando tal actividad citotóxica no es deseable, el dominio constante puede ser de otro isotipo, por ejemplo, IgG_2. Un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado alternativo puede comprender secuencias de más de una clase o isotipo de inmunoglobulina, y seleccionar dominios constantes particulares para optimizar las funciones efectoras deseadas está dentro de la habilidad habitual en la técnica. En realizaciones específicas, la presente invención proporciona anticuerpos que son anticuerpos de IgG_1 y más particularmente, son anticuerpos de IgG_1 en los que hay una desactivación de funciones efectoras.

No se necesita que las FR y CDR, o HVL, de un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado correspondan precisamente con las secuencias originales. Por ejemplo, uno o más residuos en la CDR de importación, o HVL, o la secuencia de FR de línea germinal o consenso pueden alterarse (por ejemplo, mutagenizarse) mediante sustitución, inserción o deleción de tal manera que el residuo de aminoácido resultante ya no es idéntico al residuo original en la posición correspondiente en ninguna de las secuencias originales, pero el anticuerpo conserva no obstante la función de unión a IL-23p19. Normalmente tal alteración no será extensa y serán alteraciones conservativas. Habitualmente, al menos el 75% de los residuos del anticuerpo humanizado corresponderán a los de las secuencias CDR de importación y FR de línea germinal o consenso originales, más frecuentemente al menos el 90%, y lo más frecuentemente más del 95%, o más del 98% o más del 99%.

Los residuos de inmunoglobulina que afectan a la superficie de contacto entre regiones variables de cadena pesada y ligera (“la superficie de contacto V_L-V_H”) son aquellos que afectan a la proximidad u orientación de las dos cadenas una con respecto a la otra. Determinados residuos que pueden estar implicados en interacciones entre cadenas incluyen los residuos de V_L 34, 36, 38, 44, 46, 87, 89, 91, 96 y 98 y los residuos de V_H 35, 37, 39, 45, 47, 91, 93, 95, 100 y 103 (usando el sistema de numeración expuesto en Kabat *et al*., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987)). La patente estadounidense nº 6.407.213 también divulga que residuos tales como los residuos de V_L 43 y 85, y los residuos de V_H 43 y 60 también pueden estar implicados en esta interacción. Aunque estos residuos se indican únicamente para IgG humana, son aplicables en

varias especies. Residuos de anticuerpo importantes que se espera razonablemente que estén implicados en interacciones entre cadenas se seleccionan para su sustitución en la secuencia consenso.

Los términos “secuencia consenso” y “anticuerpo consenso” se refieren a una secuencia de aminoácidos que comprende el residuo de aminoácido que se produce con mayor frecuencia en cada ubicación en todas las inmunoglobulinas de cualquier clase, isotipo o estructura de subunidad particular, por ejemplo, un dominio variable de inmunoglobulina humana. La secuencia consenso puede basarse en inmunoglobulinas de una especie particular o de muchas especies. Se entiende que una secuencia, estructura o anticuerpo “consenso” abarca una secuencia humana consenso tal como se describe en determinadas realizaciones, y que se refiere a una secuencia de aminoácidos que comprende los residuos de aminoácido que se producen con mayor frecuencia en cada ubicación en todas las inmunoglobulinas humanas de cualquier clase, isotipo o estructura de subunidad particular. Por tanto, la secuencia consenso contiene una secuencia de aminoácidos que tiene en cada posición un aminoácido que está presente en una o más inmunoglobulinas conocidas, pero que puede no duplicar exactamente la secuencia de aminoácidos completa de cualquier inmunoglobulina individual. La secuencia consenso de región variable no se obtiene de ningún anticuerpo o inmunoglobulina producido de manera natural. Kabat *et al.*, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., y variantes de los mismos. Las FR de secuencias consenso de cadena pesada y ligera, y variantes de las mismas, proporcionan secuencias útiles para la preparación de anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados. Véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses 6.037.454 y 6.054.297.

Las secuencias de línea germinal humanas se encuentran de manera natural en la población humana. Una combinación de esos genes de línea germinal genera diversidad de anticuerpos. Las secuencias de anticuerpo de línea germinal para la cadena ligera del anticuerpo proceden de genes v y genes j de kappa o lambda de línea germinal. De manera similar las secuencias de cadena pesada proceden de genes v, d y j de línea germinal (LeFranc, M-P, y LeFranc, G, “The Immunoglobulin Facts Book” Academic Press, 2001).

Tal como se usa en el presente documento, “variante”, “variante anti-IL-23p19”, “variante anti-IL-23p19 humanizada”, o “anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado variante” se refieren cada uno a un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado que tiene al menos una CDR murina variable de cadena ligera de cualquiera de las secuencias tal como se muestra en la tabla 1 o una secuencia de CDR murina de cadena pesada derivada del anticuerpo monoclonal murino tal como se muestra en la tabla 2. Las variantes incluyen aquellas que tienen uno o más cambios de aminoácido en uno o ambos de los dominios variables de cadena ligera o cadena pesada, siempre que el cambio de aminoácido no altere sustancialmente la unión del anticuerpo a IL-23p19. Los anticuerpos humanizados a modo de ejemplo producidos en el presente documento incluyen los denominados anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C y anticuerpo D, y las diversas cadenas ligeras y cadenas pesadas de los mimos se muestran en SEQ ID NO: 174 y 180, y SEQ ID NO: 176 y 178, respectivamente.

Un anticuerpo “aislado” es uno que se ha identificado y separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Componentes contaminantes del entorno natural del anticuerpo son aquellos materiales que pueden interferir con usos de diagnóstico o terapéuticos del anticuerpo, y pueden ser enzimas, hormonas u otros solutos proteicos o no proteicos. En un aspecto, el anticuerpo se purificará hasta al menos más del 95% de aislamiento en peso de anticuerpo.

Un anticuerpo aislado incluye un anticuerpo *in situ* dentro de células recombinantes en las que se produce, ya que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Sin embargo, habitualmente un anticuerpo aislado se preparará mediante al menos una etapa de purificación en la que se retira el material de célula recombinante.

El término “rendimiento de anticuerpo” se refiere a factores que contribuyen al reconocimiento por parte del anticuerpo de antígeno o a la eficacia de un anticuerpo *in vivo*. Cambios en la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo pueden afectar a propiedades de anticuerpo tales como plegamiento, y pueden influir en factores físicos tales como velocidad inicial de unión del anticuerpo a antígeno (k_a), constante de disociación del anticuerpo a partir del antígeno (k_d), constante de afinidad del anticuerpo por el antígeno (K_d), conformación del anticuerpo, estabilidad de proteínas, y semivida del anticuerpo.

El término “marcado con etiqueta de epítopo” cuando se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 fusionado con una “etiqueta de epítopo”. Una “etiqueta de epítopo” es un polipéptido que tiene un número suficiente de aminoácidos para proporcionar un epítopo para la producción de anticuerpos, pero está diseñada de tal manera que no interfiere con la actividad deseada del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado. Habitualmente la etiqueta de epítopo es lo suficientemente única como para que un anticuerpo producido frente a la etiqueta de epítopo no presente reacción cruzada sustancial con otros epítopos. Los polipéptidos de etiqueta adecuados contienen generalmente al menos 6 residuos de aminoácido y habitualmente contienen aproximadamente de 8 a 50 residuos de aminoácido, o aproximadamente de 9 a 30 residuos. Los ejemplos de etiquetas de epítopo y el anticuerpo que se une al epítopo incluyen el polipéptido de etiqueta de HA de la gripe y su anticuerpo 12CA5 (Field *et al.*, 1988 Mol. Cell. Biol. 8: 2159-2165); etiqueta c-myc y anticuerpos 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 y 9E10 frente a la misma (Evan *et al.*, 1985, Mol. Cell. Biol. 5(12): 3610-3616; y etiqueta de glicoproteína D (gD)

del virus del herpes simple y su anticuerpo (Paborsky *et al*. 1990, Protein Engineering 3(6): 547-553). En determinadas realizaciones, la etiqueta de epítopo es un “epítopo de unión a receptor de rescate”. Tal como se usa en la presente, el término “epítopos de unión a receptor de rescate” se refiere a un epítopo de la región Fc de una molécula de IgG (tales como, IgG_1, IgG_2, IgG_3 o IgG_4) que es responsable del aumento de la semivida en suero *in vivo* de la molécula de IgG.

En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente invención pueden conjugarse con un agente citotóxico. Esto es cualquier sustancia que inhibe o impide la función de células y/o provoca la destrucción de células. Se pretende que el término incluya isótopos radiactivos (tales como I^{131}, I^{125}, Y^{90} y Re^{186}), agentes quimioterápicos y toxinas tales como toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, y fragmentos de los mismos. Tales agentes citotóxicos pueden acoplarse a los anticuerpos humanizados de la presente invención usando procedimientos convencionales, y usarse, por ejemplo, para tratar a un paciente indicado para terapia con el anticuerpo.

Un “agente quimioterápico” es un compuesto químico útil en el tratamiento de cáncer. Hay numerosos ejemplos de agentes quimioterápicos que pueden conjugarse con los anticuerpos terapéuticos de la presente invención. Ejemplos de tales agentes quimioterápicos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclofosfamida; alquilsulfonatos tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas tales como benzodopa, carbocuona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida, y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina, auristatinas (incluyendo análogos monometil-auristatina E y monometil-auristatina F); duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CBI-TMI); eleuterobina; pancratistatina; sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clomafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina; trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enodiinos (por ejemplo, calicheamicina, especialmente calichemicina gamma1I y calicheamicina phil1, véase por ejemplo, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186; dinemicina, incluyendo dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos antibióticos de enodiina de cromoproteínas relacionadas), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carcinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (Adriamycin™) (incluyendo morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y desoxidoxorubicina), epirubucina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitiostanol, mepitiostano, testolactona; anti-adrenérgicos tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reponedor de ácido fólico tal como ácido frolínico; aceglatona; glicósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; democolcina; diaziquona; elfomitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinano; lonidamina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona, mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazina; PSK®; razoxano; rizoxina; sizofurano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2’,2”-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitabronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido (“Ara-C”); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) y doxetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; gemcitabina (Gemzar™); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina (Navelbine™); novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores. También se incluyen en esta definición agentes antihormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal sobre tumores tales como antiestrógenos y moduladores selectivos de receptores estrogénicos (SERM), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo Nolvadex™), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno; keoxifeno, LY117018, onapristona, y toremifeno (Fareston™); inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol (Megace™), exemestano, formestano, fadrozol, vorozol (Rivisor™), letrozol (Femara™) y anastrozol (Arimidex™); y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. Uno cualquiera o más de estos agentes pueden conjugarse con los anticuerpos humanizados de la presente invención para proporcionar un agente terapéutico útil para el tratamiento de diversos trastornos.

Los anticuerpos también pueden conjugarse con profármacos. Un “profármaco” es una forma de precursor o derivado de una sustancia farmacéuticamente activa que es menos citotóxica frente a células tumorales en comparación con el fármaco original y es capaz de activarse o convertirse enzimáticamente en la forma más activa. Véase, por ejemplo, Wilman, 1986, “Prodrugs in Cancer Chemotherapy”, en Biochemical Society Transactions, 14, págs. 375-382, 615th Meeting Belfast y Stella *et al.*, 1985, “Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery, en: Directed Drug Delivery, Borchardt *et al.*, (ed.), págs. 247-267, Humana Press. Los profármacos útiles incluyen, pero no se limitan a estos, profármacos que contienen fosfato, profármacos que contienen tiofosfato, profármacos que contienen sulfato, profármacos que contienen péptido, profármacos modificados con D-aminoácidos, profármacos glicosilados, profármacos que contienen β-lactama, profármacos que contienen fenoxiacetamida opcionalmente sustituida, y profármacos que contienen fenilacetamida opcionalmente sustituida, 5-fluorocitosina y otros profármacos de 5-fluorouridina que pueden convertirse en el fármaco libre citotóxico más activo. Los ejemplos de fármacos citotóxicos que pueden derivatizarse para dar una forma de profármaco incluyen, pero no se limitan a estos, los agentes quimioterápicos descritos anteriormente.

Para fines de diagnóstico así como de monitorización terapéutica, los anticuerpos de la invención también pueden conjugarse con un marcador, o bien un marcador solo o bien un marcador y un segundo agente adicional (profármaco, agente quimioterápico y similares). Un marcador, según se distingue de los otros segundos agentes, se refiere a un agente que es un compuesto o composición detectable y puede conjugarse directa o indirectamente con un anticuerpo humanizado de la presente invención. El marcador puede ser detectable en sí mismo (por ejemplo, marcadores de radioisótopos o marcadores fluorescentes) o, en el caso de un marcador enzimático, puede catalizar una alteración química de un compuesto o composición sustrato que es detectable. Puede prepararse anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado marcado y usarse en diversas aplicaciones incluyendo diagnósticos *in vitro* e *in vivo*.

Los anticuerpos de la presente invención pueden formularse como parte de una preparación liposomal con el fin de afectar a la administración de los mismos *in vivo*. Un “liposoma” es una pequeña vesícula compuesta por diversos tipos de lípidos, fosfolípidos y/o tensioactivo. Los liposomas son útiles para la administración a un mamífero de un compuesto o una formulación, tal como un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado divulgado en el presente documento, opcionalmente acoplado, o en combinación, con uno o más agentes y/o marcadores farmacéuticamente activos. Los componentes del liposoma se disponen comúnmente en una formación de bicapa, similar a la disposición de lípidos de membranas biológicas.

Determinados aspectos de la presente invención se refieren a ácidos nucleicos aislados que codifican para uno o más dominios de los anticuerpos humanizados de la presente invención. Una molécula de ácido nucleico “aislada” es una molécula de ácido nucleico que se identifica y separa de al menos una molécula de ácido nucleico contaminante con la que está habitualmente asociada en la fuente natural del ácido nucleico de anticuerpo. Una molécula de ácido nucleico aislada se distingue de la molécula de ácido nucleico tal como existe en células naturales.

En diversos aspectos de la presente divulgación uno o más dominios de los anticuerpos humanizados se expresarán de manera recombinante. Tal expresión recombinante puede emplear una o más secuencias de control, es decir, secuencias de polinucleótido necesarias para la expresión de una secuencia codificante operativamente unida en un organismo huésped particular. Las secuencias de control adecuadas para su uso en células procariotas incluyen, por ejemplo, secuencias de promotor, de operador y de sitio de unión al ribosoma. Las secuencias de control eucariotas incluyen, pero no se limitan a estos, promotores, señales de poliadenilación y potenciadores. Estas secuencias de control pueden usarse para la expresión y producción de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado en células huésped procariotas y eucariotas.

Una secuencia de ácido nucleico está “operativamente unida” cuando se coloca en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, un líder secretor o presecuencia de ácido nucleico está operativamente unido a un ácido nucleico que codifica para un polipéptido si se expresa como una preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o potenciador está operativamente unido a una secuencia codificante si afecta a la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión al ribosoma está operativamente unido a una secuencia codificante si está colocado para facilitar la traducción. Generalmente, “operativamente unido” significa que las secuencias de ADN que están uniéndose son contiguas, y, en el caso de un líder secretor, contiguas y en marco de lectura. Sin embargo, los potenciadores son opcionalmente contiguos. La unión puede lograrse mediante unión en sitios de restricción convenientes. Si no existen sitios de este tipo, pueden usarse grupos de unión o adaptadores oligonucleotídicos sintéticos.

Tal como se usan en el presente documento, las expresiones “célula”, “línea celular” y “cultivo celular” se usan de manera intercambiable y todas de tales denominaciones incluyen la progenie de las mismas. Por tanto, “transformantes” y “células transformadas” incluyen la célula objeto primaria y cultivos derivados de la misma independientemente del número de transferencias.

El término “mamífero”, para fines de tratamiento, se refiere a cualquier animal clasificado como un mamífero, incluyendo humanos, animales domesticados y de granja, y animales de zoológico, para deportes o mascotas, tales

como perros, caballos, gatos, vacas y similares. Preferiblemente, el mamífero es humano.

Un “trastorno”, tal como se usa en el presente documento, es cualquier estado que se beneficiará del tratamiento con un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado descrito en el presente documento. Esto incluye trastornos o enfermedades crónicos y agudos incluyendo los estados patológicos que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión. Los ejemplos o trastornos no limitativos que van a tratarse en el presente documento incluyen trastornos inflamatorios, angiogénicos, autoinmunitarios e inmunológicos, trastornos respiratorios, cáncer, neoplasias malignas hematológicas, tumores benignos y malignos, leucemias y neoplasias malignas linfoides.

Los términos “cáncer” y “canceroso” se refieren a, o describen, el estado fisiológico en mamíferos que está normalmente caracterizado por un crecimiento celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero no se limitan a estos, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia.

Tal como se usa en el presente documento, el término “trastorno asociado con IL-23” o “enfermedad asociada con IL-23” se refiere a un estado en el que la actividad de IL-23 contribuye a la enfermedad y normalmente en el que IL-23 se expresa de manera anómala. Un trastorno asociado con IL-23 incluye enfermedades y trastornos del sistema inmunitario, tales como trastornos autoinmunitarios y trastornos inflamatorios. Tales estados incluyen, pero no se limitan a estos, artritis reumatoide (RA), lupus eritematoso sistémico (SLE), esclerodermia, síndrome de Sjogren, esclerosis múltiple, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad inflamatoria del intestino (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), inflamación pulmonar, asma, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP) y espondilitis anquilosante.

El término “infusión intravenosa” se refiere a la introducción de un agente en la vena de un paciente animal o humano a lo largo de un periodo de tiempo mayor de aproximadamente 15 minutos, generalmente de entre aproximadamente 30 y 90 minutos.

El término “bolo intravenoso” se refiere a administración de fármaco en una vena de un animal o humano de tal manera que el organismo recibe el fármaco en aproximadamente 15 minutos o menos, generalmente 5 minutos o menos.

El término “administración subcutánea” se refiere a la introducción de un agente bajo la piel de un paciente animal o humano, preferiblemente dentro de una cavidad entre la piel y el tejido subyacente, mediante administración sostenida, relativamente lenta, a partir de un receptáculo de fármaco. Pellizcar o estirar la piel hacia arriba alejándola del tejido subyacente puede crear la cavidad.

El término “infusión subcutánea” se refiere a la introducción de un fármaco bajo la piel de un paciente animal o humano, preferiblemente dentro de una cavidad entre la piel y el tejido subyacente, mediante administración sostenida, relativamente lenta, a partir de un receptáculo de fármaco durante un periodo de tiempo incluyendo, pero sin limitarse a, 30 minutos o menos, o 90 minutos o menos. Opcionalmente, la infusión puede realizarse mediante implantación subcutánea de una bomba de administración de fármaco implantada bajo la piel del paciente animal o humano, en la que la bomba administra una cantidad predeterminada de fármaco durante un periodo de tiempo predeterminado, tal como 30 minutos, 90 minutos, o un periodo de tiempo que abarca la longitud del régimen de tratamiento.

El término “bolo subcutáneo” se refiere a la administración de fármaco por debajo de la piel de un paciente animal o humano, en el que la administración de fármaco en bolo es durante menos de aproximadamente 15 minutos; en otro aspecto, menos de 5 minutos, y en todavía otro aspecto, menos de 60 segundos. En incluso aún otro aspecto, la administración se realiza dentro de una cavidad entre la piel y el tejido subyacente, en la que la cavidad puede crearse pellizcando o estirando la piel hacia arriba alejándola del tejido subyacente.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” se usa para hacer referencia a una cantidad de un agente activo que alivia o mejora uno o más de los síntomas del trastorno que está tratándose. En otro aspecto, la cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a una concentración en suero objetivo que se ha mostrado que es eficaz, por ejemplo, en ralentizar la progresión de la enfermedad. La eficacia puede medirse de maneras convencionales, dependiendo de la afección que esté tratándose.

Se pretende que los términos “tratamiento” y “terapia” y similares, tal como se usan en el presente documento, incluyan medidas terapéuticas así como profilácticas, o de supresión, para una enfermedad o un trastorno que conducen a cualquier efecto clínicamente deseable o beneficioso, incluyendo, pero sin limitarse a, alivio o reducción de uno o más síntomas, regresión, ralentización o cese de la progresión de la enfermedad o el trastorno. Por tanto, por ejemplo, el término tratamiento incluye la administración de un agente antes o después de la aparición de un síntoma de una enfermedad o trastorno previniendo o eliminando así uno o más signos de la enfermedad o el trastorno. Como otro ejemplo, el término incluye la administración de un agente tras la manifestación clínica de la enfermedad para combatir los síntomas de la enfermedad. Además, la administración de un agente tras la aparición y tras haberse desarrollado síntomas clínicos en la que la administración afecta a los parámetros clínicos de la enfermedad o el trastorno, tales como el grado de lesión tisular o la cantidad o el grado de metástasis, tanto si el

tratamiento conduce a la mejora de la enfermedad como si no, comprende “tratamiento” o “terapia” tal como se usa en el presente documento. Además, siempre que las composiciones de la invención o bien solas o bien en combinación con otro agente terapéutico alivien o mejoren al menos un síntoma de un trastorno que está tratándose en comparación con ese síntoma en ausencia del uso de la composición de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, el resultado debe considerarse un tratamiento eficaz del trastorno subyacente independientemente de si se alivian todos los síntomas del trastorno o no.

El término “prospecto” se usa para hacer referencia a instrucciones incluidas habitualmente en envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, administración, contraindicaciones y/o advertencias referentes al uso de tales productos terapéuticos.

Anticuerpos

En un aspecto, en el presente documento se describen y divulgan anticuerpos anti-IL-23, en particular anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados, y composiciones y artículos de fabricación que comprenden uno o más anticuerpos anti-IL-23, en particular uno o más anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados de la presente invención. También se describen agentes de unión que incluyen un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo anti-IL-23, en particular un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado. Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados y agentes de unión pueden inhibir la producción de citocinas asociadas con Th17, que contribuyen a enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias crónicas. Por tanto, los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados y agentes de unión pueden usarse en el tratamiento de una variedad de enfermedades o trastornos. Un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado y un agente de unión a IL-23p19 incluyen cada uno al menos una parte que reconoce específicamente un epítopo de IL-23p19 (es decir, un fragmento de unión a antígeno).

En la caracterización inicial se seleccionaron anticuerpos de ratón basándose en la caracterización de unión a IL-23p19.

Por consiguiente en un aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D para IL-23, en particular IL-23 humana, de menos de 100 pM. En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 40 pM. En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 20 pM. En otro aspecto, un anticuerpo de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 10pm. En otro aspecto, un anticuerpo monoclonal de la presente divulgación tiene una K_D de menos de 1 pM.

Los anticuerpos de ratón seleccionados tienen las siguientes regiones variables de cadena ligera y regiones variables de cadena pesada tal como se muestran en la tabla 1 y 2:

Tabla 1: Líderes de ratón anti-IL-23p19 – Secuencias de VK

2D1vk	GACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGGTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAG AGGGCCACCATATCCTGCAGAACCAGTGAAAGTGTTTATAGTTATGGCCAA AATTTTATACACTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTC ATCTATCGTGCATCCAACCTGGAATCTGGGATCCCTGCCAGGTTCAGTGGC AGTGGGTCTAGGACAGACTTCACCCTCACCATGAATCCTGTGGAGGCTGAT GATGTTGCAACCTATTACTGTCAGCAAACTAATGAGGATCCGTACACGTTC GGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAGA (SEQ ID NO:83)
	DIVLTQSPGSLAVSLGQRATISCRTSESVYSYGQNFIHWYQQKPGQPPKLL IYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTMNPVEADDVATYYCQQTNEDPYTF GGGTKLEIR (SEQ ID NO:84)
6B8Vk	GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCTTGTCCACATCAGTGGGAGAC AGGGTCACCATCACTTGCAAGGCCAGTCGGGATGTGGCTATTGCTGTAGCC TGGTATCAACAGAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTTCTTTTCTGGGCA TCCACCCGACACACTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTCGG ACAGATTTCACTCTCACCATTAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAT TATTTCTGTCACCAATATAGCAGCTATCCATTCACGTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAG (SEQ ID NO:85)

	DIVMTQSHKFLSTSVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGQSPKLLLFWA STRHTGVPDRFTGSGSRTDFTLTISNVQSEDLADYFCHQYSSYPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:86)
9D12-Vk	GACATTGCGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTGGGGCAG AGGGCCACCATATCCTGCAGAGCCAGTGAAACTATTAATTTTTATGGCACT AGTTTTATGCACTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGTCACCCAAACTCCTC ATCTATCGTGCATCCAACCTAGAATCTGGGATCCCTGCCAGGTTCAGTGGC AGTGGGTCTAGGACAGACTTCACCCTCACCATTAATCCTGTGGAGGCTGAT GATGTTGCAACCTATTACTGTCAGCAAACTAATGAGGATCCGTACACGTTC GGAGGGGGGACTAAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:87)
	DIALTQSPASLAVSLGQRATISCRASETINFYGTSFMHWYQQKPGQSPKLL IYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQTNEDPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:88)
15C11vk	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGAT CAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGGA AACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTC CTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAACAGAGTGGAGGCT GAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACG TTCGGAGGGGGGACCCAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:89)
	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKL LIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKINRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYT FGGGTQLEIK (SEQ ID NO:90)
15F1vk	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISDYLHWYQQRSHESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSDFTLTINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:91)
18D3vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGAT AGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTATTAGCGACTACTTATAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATTTGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCGACAGTGTGGAACCTGATGATGTTGGAGTC TTTTTCTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCGTTCACGTTCGGAGGGGGGACC AAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:92)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISDYLYWYQQKSHESPRLLIKFA SQSISGIPSRFTGSGSGSDFTLSIDSVEPDDVGVFFCQNGHSFPFTFGGGT KLEIK (SEQ ID NO:93)

18C4vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGAT AGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGAGTACTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTG TATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCATTCACGTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:94)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISEYLHWYQQKSHESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:95)
18E5vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGAT AGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTATAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATTTGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCGACAGTGTGGAACCTGATGATGTTGGAGTC TTTTTCTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCGTTCACGTTCGGAGGGGGGACC AAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:96)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISDYLYWYQQKSHESPRLLIKFA SQSISGIPSRFTGSGSGSDFTLSIDSVEPDDVGVFFCQNGHSFPFTFGGGT KLEIK (SEQ ID NO:97)
20E8vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGAT AGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGAGTATTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTT TATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCATTCACGTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:98)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISEYLHWYQQKSHESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:99)
22E2vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGAT AGAGTCTCTCTCTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGTCTACTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACCTGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTT TATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCATTCACGTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:100)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISVYLHWYQQKSPESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:101)

24A54vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAAAT AGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGG TCAAATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTG TATTATTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCATTCACGTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:102)
	DIVMTQSPATLSVTPGNRVSLSCRASQSISDYLHWYQQKSHESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSNFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:103)
26F7Vk	GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTTTCTCTGGGGCAG AGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAGTGTCAGATTCTCTGACTAT TTTTATATGCACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTC ATCTACCTTGCATCCAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCAGTGGC AGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAG GATGCTGCAACCTATTACTGTCAGAACAGTAGGGAGCTTCCGTACACGTTC GGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATAAAA (SEQ ID NO:104)
	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVRFSDYFYMHWYQQKPGQPPKLL IYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQNSRELPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:105)
27G8vk	GACATTGTGTTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAG AGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAGTGTCAGTACATCTGGCTAT AGTTATATACACTGGTACCAACAGAAACCGGGACAGCCACCCAAATTCCTC ATCTATCTTGCATCCAACCTAGATTCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCAGTGGC AGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAG GATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTACACGTTC GGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:106)
	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYIHWYQQKPGQPPKFL IYLASNLDSGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:107)
31H9vk	GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGAT AGAGTCTCTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTACAC TGGTATCAACAAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCT TCCCAATCCATCTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGG TCAGATTTCACTCTCAGTATCAACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTG TATTACTGTCAAAATGGTCACAGCTTTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACC AAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:108)
	DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSISDYLHWYQQKSHESPRLLIKYA SQSISGIPSRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPYTFGGGT KLEIK (SEQ ID NO:109)

34G3Vk	GATGTTGTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGAT CAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGGA AACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTC CTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCCGACAGGTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCT GAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACG TTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAT (SEQ ID NO:110)
	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKL LIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYT FGGGTKLEIN (SEQ ID NO:111)
34D9Vk	GACATTATGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGAC AGGGTCAGCATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGGGTAATGCTGTGGTC TGGTATCAACAAAAACCAGGGCAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGGCA TCCACCCGGCACATTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGG ACAGATTTCACTCTCACCATTACCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAT TATTTCTGTCAGCAATATAGCAGCTATCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAG CTGGAGCTGAAA (SEQ ID NO:112)
	DIMMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVGNAVVWYQQKPGQSPKLLIYWA STRHIGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSEDLADYFCQQYSSYLTFGAGTK LELK (SEQ ID NO:113)
43F5vk	GATGTTGTGATGACCCAATCTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGAT CAAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTTGTACACAGTAATGGA AACACCTATCTACATTGGTACCTGCTGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTC CTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGT GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCT GAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCCGTACACG TTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:114)
	DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLLKPGQSPKL LIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQSTHVPYT FGGGTKLEIK (SEQ ID NO:115)
73H10Vk	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGTTTTCCTGTCTGCATCTGTGGGAGAA ACTGTCACCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTGACAGTTATTTAGCA TGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTTTGCTGCA CGAAACTTAGCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGC ACACAGTATTCTCTCAAGATCAACAGAATGCAGTCTGAAGATGTTGCGAGA TACTACTGTCAACATTATTATAGTACTCCATTCACGTTCGGCTCGGGGACA AAGTTGGAAATAGAA (SEQ ID NO:116)
	DIQMTQSPVFLSASVGETVTITCRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVFAA RNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINRMQSEDVARYYCQHYYSTPFTFGSGT KLEIE (SEQ ID NO:117)

74H3Vk	GACATCCAGATGACTCAGTCGCCAGCTTCCCTGTCTGCATCTGTGGGAGAA ACTGTCATCTTCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTGACAGTTATTTAGCA TGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTCCTCAGCTCCTGGTCTATGCTGCA ACAAACTTAGCAGATGGTGTGCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGC ACACAGTATTCTCTCAAGATCAACAGCCTGCAGTCTGAAGATGTTGCGAGA TATTACTGTCTACATTATTATAGTACTCCATTCACGTTCGGCTCGGGGACA GAGTTGGAAATAAAA (SEQ ID NO:118)
	DIQMTQSPASLSASVGETVIFTCRASENIDSYLAWYQQKQGKSPQLLVYAA TNLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDVARYYCLHYYSTPFTFGSGT ELEIK (SEQ ID NO:119)

Tabla 2: Líderes de ratón anti-IL-23p19 – Secuencias VH

2D1vh	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGC CTGTCCATCACATGCACTGTCTCTGGGTTCTCATTAACCACCTATGCTATA AGCTGGGTTCGCCAGTCACCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTTGGAGTCATA TGGACTGGTGGAGGCACAAAATATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGAGC ATCAGCAAAGACAACTCCAAGAGTCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTG CAAACTGATGACACAGCCAGGTACTACTGTGCCAGAAAGGACTATAATTAC GGGGGTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:120)
	QVQLKESGPGLVAPSQSLSITCTVSGFSLTTYAISWVRQSPGKGLEWLGVI WTGGGTKYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTARYYCARKDYNY GGAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:121)
6B8VH	CAGGTTCAGCTGCAACAGTCTGACGCTGAGTTGGTGAAACCTGGCACTTCA GTGAAGACATCCTGCAAAATTTCTGGCAACACCTTCACTGACCAAACTATT CACTGGATGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAATGGATTGGATATATT TATCCTAGAGATGATAGTCCTAAGTACAATGAGAACTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGT CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAATCCCAGACAGGTCA GGCTACGCCTGGTTTATTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCT TCA (SEQ ID NO:122)
	QVQLQQSDAELVKPGTSVKTSCKISGNTFTDQTIHWMKQRPEQGLEWIGYI YPRDDSPKYNENFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFCAIPDRS GYAWFIYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:123)

9D12VH	CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGTCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGC CTGTCCATCACATGCACTGTCTCTGGGTTCTCATTAAACAACTTTGCTATA AGTTGGGTTCGTCAGCCACCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGCTTGGAGCAATA TGGACTGGTGGAGGCACAAATTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGAGC ATCAGCAAAGACAACTCCAAGAGTCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTG CAAACTGATGACACAGCCAGGTATTATTGTGTCAGAAAGGACTATAGTTAC GGGGGTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:124)
	QVQLKESGPVLVAPSQSLSITCTVSGFSLNNFAISWVRQPPGKGLEWLGAI WTGGGTNYNSALKSRLSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTARYYCVRKDYSY GGAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:125)
15C11vh	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGTGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGTAAGGCTTCTGGATACACATTCACTGACTACTATATG AACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGTTATT ATTCCTTACAACGGTGGTACTAGCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTTGACAAGTCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAACAGC CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCACGAGATGGTCACCGC TGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:126)
	EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIGVI IPYNGGTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARDGHR WYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:127)
15F1vh	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTCCIMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARRWDE AYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:128)
18D3vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTCAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTCGCTATCTTATT CACTGGGTGAAAACAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACAATGATGGTACTAAATACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACCTCTAACTGGGACCTC GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:129)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYLIHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTSNWDL DYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:130)

18C4vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAAGTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCCTCTGGATACACATTCACTAGTTCTGTTATA CACTGGGTGAAGCAGAAGGCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATC AATCCCTATAATGATGGTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAGATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACGGTTGGACGAG GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:131)
	EVQLQQSGPEVVKPGASVKMSCKASGYTFTSSVIHWVKQKAGQGLEWIGYI NPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDRSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTRRLDE AYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:132)
18E5vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTGCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTCGCTATCTTATT CACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACAATGATGGTACTAAATATAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACCTCTAATTGGGACCTC GACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:133)
	EVQLQQSGPELVKPGAAVKMSCKASGYTFTRYLIHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTSNWDL DYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:134)
20E8vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAACTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCCTCTGGATACACATTCACTAGTTCTGTTATG CACTGGGTGAAGCAGAAGGCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATC AATCCCTATAATGATGGTACTCAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATTTTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGACGGTTGGACGAG GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:135)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSSVMHWVKQKAGQGLEWIGYI NPYNDGTQYNEKFKGKATLTSDKFSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTRRLDE AYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:136)
22E2vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGCTCTATTATT CACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACGATGATGTTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGACGGTGGGACGAG TCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:137)

	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSSIIHWVKQRPGQGLEWIGYI NPYDDVTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARRWDE SYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:138)
24A5vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACTTTCACTACCTCTATTATG CACTGGGTGAAACAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACGATGATGTTACTAAGTACAATGAAAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACATTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGTAAGACGGTGGGACGAG GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:139)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTTSIMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYDDVTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCVRRWDE AYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:140)
26F7VH	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATATCCTGTAAGGCTTCTGGATACACGTTTACTGACTACTACATG AACTGGGTGAGGCAGAGCCATGGAGAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATTTT AATCATAACAATGATGTTATTACTTACAACCCGAAGTTCAAGGGCAAGGTC ACATTGACTGTAGAGAAGTCTTCCACCACAGCCTACATGGAGCTCCGCAGC CTGTCATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGGGGGCTACGAGGC TACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:141)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYYMNWVRQSHGESLEWIGDF NHNNDVITYNPKFKGKVTLTVEKSSTTAYMELRSLSSEDSAVYYCARGLRG YYAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:142)
27G8vh	CAGGTTCAGCTGCAACAGTCTGACGCTGAGTTGGTGAAACCTGGAGCTTCA GTGAAGATATCCTGCAAGGTTTCTGGCTACACCTTCACTGACCATACTATT CACTGGATGAAGCAGAGGCCTGAACAGGGCCTGGAATGGATTGGATATATT TATCCTAGAGATGGTTATCCTAAGTTCAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGC CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAAGACGGCCCCCTTAC TATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCGCCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:143)
	QVQLQQSDAELVKPGASVKISCKVSGYTFTDHTIHWMKQRPEQGLEWIGYI YPRDGYPKFNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFCARRPPY YAMDYWGQGTSVAVSS (SEQ ID NO:144)

31H9vh	GAGGTCCAACTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGGTATCTTATG CACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGTTATATT AATCCTTACAATGATGGTACTAATTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTTCCCTTAACTGGGACTAT GCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:145)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYLMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTNYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCSLNWDY AYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:146)
34G3VH	GAGTTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGCGCTTCA GTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGACTACAACATG AACTGGGTGAAGCAGAGCAAAGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGTAATT ATTCCTAACTATGGTTTTACTAGCTACAATCAGAACTTCAAGGGCAAGGCC ACTTTGACTGTAGACCAGTCTTCCAGCACAGCCCACATGCAGCTCAACAGT GTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGTAAGAGATGGGGGAATA CTCCTCTGGTATCTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCC TCA (SEQ ID NO:147)
	EFQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYNMNWVKQSKGKSLEWIGVI IPNYGFTSYNQNFKGKATLTVDQSSSTAHMQLNSVTSEDSAVYYCVRDGGI LLWYLDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:148)
34D9VH7	GAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATACCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTGACTACAACATG GACTGGGTGAAGAAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGATATC AATCCTCACAATGGTGGTACTATCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCC ACATTGACTGTAGACAAGTCCTCCAGCACAGCCCACATGGAGCTCCGCAGC CTGACATCTGAGGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAAATTACTACGGT AGTAGTTACGGCTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACC GTCTCGTCA (SEQ ID NO:149)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKIPCKASGYTFTDYNMDWVKKSHGKSLEWIGDI NPHNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAHMELRSLTSEDTAVYYCARNYYG SSYGWYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:150)

43F5vh	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATTTCCTGCAGGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCTACTACATG AACTGGGTGAAGCAAAGTCCTGAAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAGAGATT ATTCCTACCACTGGTGGTACTTCCTACAACCAGAAGTTCAAGGCCAAGGCC ACATTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAAGAGC CTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGAGAGCGGTGGG TTCTACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCC TCA (SEQ ID NO:151)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCRASGYSFTGYYMNWVKQSPEKSLEWIGEI IPTTGGTSYNQKFKAKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYCARESGG FYWYFDVWGTGTTVTVSS (SEQ ID NO:152)
73H10VH	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGGTATGTTATG CACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGGCAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACAATGATGTTACTAAGTACAATGAGAAGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAGATCCTCCAGCACAGCCTACATGAAACTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTATTGTGCAAGAAACTGGGACGTT CCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGATCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:153)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYVMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDVTKYNEKFKGKATLTSDRSSSTAYMKLSSLTSEDSAVYYCARNWDV PYWGQGTLITVSA (SEQ ID NO:154)
74H3VH	GAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTAAAGCCTGGGGCTTCA GTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCACTAGGTATCTTATG CACTGGGTGAAGCAGAAGCCTGGACAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATATT AATCCTTACAATGATGGTACTAAGTACAATGAGAGGTTCAAAGGCAAGGCC ACACTGACTTCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGC CTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAAACTGGGACGTA CCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:155)
	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYLMHWVKQKPGQGLEWIGYI NPYNDGTKYNERFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARNWDV PYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:156)

Se seleccionaron secuencias de entramado humanas para cada uno de los líderes de ratón basándose en la homología de entramado, estructura de CDR, residuos canónicos conservados, residuos de empaquetamiento de superficie de contacto conservados y otros parámetros.

Las CDR de cadena ligera y cadena pesada de ratón de los diversos anticuerpos de ratón se muestran en la tabla 3 y en la tabla 4, respectivamente. La tabla 4 también muestra tres CDR de cadenas pesadas derivadas del anticuerpo de ratón 6B8 mediante el proceso de humanización.

Tabla 3: Secuencias de CDR DE CADENA LIGERA

	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
18C4	RASQSISEYLH (SEQ ID NO: 1)	YASQSIS (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
18E5	RASQSISDYLY (SEQ ID NO: 4)	FASQSIS (SEQ ID NO: 5)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
18D3	RASQSISDYLY (SEQ ID NO: 4)	FASQSIS (SEQ ID NO: 5)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
20E8	RASQSISEYLH (SEQ ID NO: 1)	YASQSIS (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
22E2	RASQSISVYLH (SEQ ID NO: 6)	YASQSIS (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
24A5	RASQSISDYLH (SEQ ID NO: 7)	YASQSIS (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPFT (SEQ ID NO: 3)
15C11	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 10)
43F5	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 10)
27G8	RASKSVSTSGYSYIH (SEQ ID NO: 11)	LASNLDS (SEQ ID NO: 12)	QHSRELPYT (SEQ ID NO: 13)
31H9	RASQSISDYLH (SEQ ID NO: 7)	YASQSIS (SEQ ID NO: 2)	QNGHSFPYT (SEQ ID NO: 14)
2D1	RTSESVYSYGQNFIH (SEQ ID NO: 15)	RASNLES (SEQ ID NO: 16)	QQTNEDPYT (SEQ ID NO: 17)
9D12	RASETINFYGTSFMH (SEQ ID NO: 18)	RASNLES (SEQ ID NO: 16)	QQTNEDPYT (SEQ ID NO: 17)
6B8	KASRDVAIAVA (SEQ ID NO: 19)	WASTRHT (SEQ ID NO: 20)	HQYSSYPFT (SEQ ID NO: 21)
73H10	RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 22)	AARNLAD (SEQ ID NO: 23)	QHYYSTPFT (SEQ ID NO: 24)
74H3	RASENIDSYLA (SEQ ID NO: 22)	AATNLAD (SEQ ID NO: 25)	LHYYSTPFT (SEQ ID NO: 26)
35H8	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 10)
26F7	RASKSVRFSDYFYMH (SEQ ID NO: 27)	LASNLES (SEQ ID NO: 28)	QNSRELPYT (SEQ ID NO: 29)
34G3	RSSQSLVHSNGNTYLH (SEQ ID NO: 8)	KVSNRFS (SEQ ID NO: 9)	SQSTHVPYT (SEQ ID NO: 10)
34D9	KASQDVGNAVV (SEQ ID NO: 30)	WASTRHI (SEQ ID NO: 31)	QQYSSYLT (SEQ ID NO: 32)

Tabla 4: Secuencias de CDR DE CADENA PESADA

	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3
18C4	GYTFTSSVIH (SEQ ID NO: 33)	YINPYNDGTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 34)	RLDEAY (SEQ ID NO: 35)
18E5	GYTFTRYLIH (SEQ ID NO: 36)	YINPYNDGTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 34)	NWDLDY (SEQ ID NO: 37)
18D3	GYTFTRYLIH (SEQ ID NO: 36)	YINPYNDGTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 34)	NWDLDY (SEQ ID NO: 37)
20E8	GYTFTSSVMH (SEQ ID NO: 38)	YINPYNDGTQYNEKFKG (SEQ ID NO: 39)	RLDEAY (SEQ ID NO: 35)
22E2	GYTFTSSIIH (SEQ ID NO: 40)	YINPYDDVTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 41)	RWDESY (SEQ ID NO: 42)
24A5	GYTFTTSIMH (SEQ ID NO: 43)	YINPYDDVTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 41)	RWDEAY (SEQ ID NO: 44)
15C11	GYTFTDYYMN (SEQ ID NO: 45)	VIIPYNGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO: 46)	DGHRWYFDV (SEQ ID NO: 47)
43F5	GYSFTGYYMN (SEQ ID NO: 48)	EIIPTTGGTSYNQKFKA (SEQ ID NO: 49)	ESGGFYWYFDV (SEQ ID NO: 50)
27G8	GYTFTDHTIH (SEQ ID NO: 51)	YIYPRDGYPKFNEKFKG (SEQ ID NO: 52)	RPPYYAMDY (SEQ ID NO: 53)
31H9	GYTFTRYLMH (SEQ ID NO: 54)	YINPYNDGTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 55)	NWDYAY (SEQ ID NO: 56)
2D1	GFSLTTYAIS	VIWTGGGTKYNSALKS	KDYNYGGAMDY

	(SEQ ID NO: 57)	(SEQ ID NO: 58)	(SEQ ID NO: 59)
9D12	GFSLNNFAIS (SEQ ID NO: 60)	AIWTGGGTNYNSALKS (SEQ ID NO: 61)	KDYSYGGAMDY (SEQ ID NO: 62)
6B8	GNTFTDQTIH (SEQ ID NO: 63)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO: 64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO: 65)
Hu_6B8-2	GYTFTDQTIH (SEQ ID NO: 66)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO: 64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO: 65)
Hu_6B8-5	GFTFTDQTIH (SEQ ID NO: 67)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO: 64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO: 65)
Hu_6B8-36/65	GGTFTDQTIH (SEQ ID NO: 68)	YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO: 64)	PDRSGYAWFIY (SEQ ID NO: 65)
73H10	GYTFTRYVMH (SEQ ID NO: 69)	YINPYNDVTKYNEKFKG (SEQ ID NO: 70)	NWDVPY (SEQ ID NO: 71)
74H3	GYTFTRYLMH (SEQ ID NO: 54)	YINPYNDGTKYNERFKG (SEQ ID NO: 72)	NWDVPY (SEQ ID NO: 71)
35H8	GYTFTDYYMN (SEQ ID NO: 45)	VIIPYNGGISYNQKFKG (SEQ ID NO: 73)	NDYDWYFDV (SEQ ID NO: 74)
26F7	GYTFTDYYMN (SEQ ID NO: 45)	DFNHNNDVITYNPKFKG (SEQ ID NO: 75)	GLRGYYAMDY (SEQ ID NO: 76)
34G3	GYSFTDYNMN (SEQ ID NO: 77)	VIIPNYGFTSYNQNFKG (SEQ ID NO: 78)	DGGILLWYLDV (SEQ ID NO: 79)
34D9	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO: 80)	DINPHNGGTIYN4KFKG (SEQ ID NO: 81)	NYYGSSYGWYFDV (SEQ ID NO: 82)

Las CDR indicadas anteriormente en las tablas 3 y 4 se definen usando el sistema de numeración de Chothia (Al-Lazikani *et al*., (1997) JMB 273,927-948).

Los Fab que mostraron una unión mejor o igual en comparación con el Fab original quimérico se seleccionaron para su conversión en IgG. 6B8 se convirtió en un formato de IgG1KO. IgG1KO (desactivación de funciones efectoras) tiene dos mutaciones en la región Fc, Leu234Ala y Leu235Ala, lo cual reduce la función efectora tal como unión a complemento y FcγR. El formato de IgG se describe en la bibliografía (véase por ejemplo Hezareh *et al*. (2001) Journal of Virology 75: 12161-12168). El ejemplo 1 describe el proceso de humanización en más detalle. Los resultados de tal humanización dieron como resultado secuencias de anticuerpo humanizadas. Se proporciona un número representativo de regiones variables de cadena ligera y cadena pesada humanizadas derivadas del anticuerpo de ratón 6B8 y se muestran en las tablas 5 y 6. En la figura 1 se muestra una alineación entre las regiones variables de cadena ligera y cadena pesada humanizadas derivadas de anticuerpo de ratón 6B8 y las regiones variables de cadena y cadena pesada de anticuerpo de ratón 6B8.

La combinación seleccionada de regiones variables de cadena ligera y cadena pesada humanizadas derivadas de anticuerpo de ratón 6B8 dieron como resultado los anticuerpos A, B, C y D:

Anticuerpo A: 6B8-IgG1KO-2 con IgK-66 (región variable de cadena pesada 6B8CVH-02 y región variable de cadena ligera 6B8CVK-66);

Anticuerpo B: 6B8-IgG1KO-5 con IgK-66 (región variable de cadena pesada 6B8CVH-05 y región variable de cadena ligera 6B8CVK-66);

Anticuerpo C: 6B8-IgG1KO-2 con IgK-65 (región variable de cadena pesada 6B8CVH-02 y región variable de cadena ligera 6B8CVK-65);

Anticuerpo D: 6B8-IgG1KO-5 con IgK-65 (región variable de cadena pesada 6B8CVH-05 y región variable de cadena ligera 6B8CVK-65).

Los anticuerpos A, B, C y D tienen las secuencias de cadena pesada y ligera mostradas en la tabla 7.

Tabla 5: 6B8 humanizado – Secuencias de VK

6B8CVK-65	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcgccagcgtggg cgaccgcgtgaccatcacctgcaaggccagccgcgacgtggccatcg ccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaaagctgctg ctgttctgggccagcacccgccacaccggcgtgccagaccgcttcag cggcagcggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgc agccagaggacctggccgactactactgccaccagtacagcagctac ccattcaccttcggccagggcaccaagctggagatcaag (SEQ ID NO:157)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLL LFWASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDLADYYCHQYSSY PFTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:158)
6B8CVK-66	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcgccagcgtggg cgaccgcgtgaccatcacctgcaaggccagccgcgacgtggccatcg ccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaaagctgctg atctactgggccagcacccgccacaccggcgtgccaagccgcttcag cggcagcggcagccgcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgc agccagaggacgtggccgactacttctgccaccagtacagcagctac ccattcaccttcggcagcggcaccaagctggagatcaag (SEQ ID NO:159)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLL IYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSY PFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:160)
6B8CVK-67	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcgccagcgtggg cgaccgcgtgaccatcacctgcaaggccagccgcgacgtggccatcg ccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaaagctgctg ctgtactgggccagcacccgccacaccggcgtgccaagccgcttcag cggcagcggcagccgcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgc agccagaggacgtggccacctactactgccaccagtacagcagctac ccattcaccttcggcagcggcaccaagctggagatcaag (SEQ ID NO:161)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLL LYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDVATYYCHQYSSY PFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:162)

6B8CVK-78	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcgccagcgtggg cgaccgcgtgaccatcacctgcaaggccagccgcgacgtggccatcg ccgtggcctggtaccagcagaagccaggcaaggtgccaaagctgctg ctgttctgggccagcacccgccacaccggcgtgccagaccgcttcag cggcagcggcagccgcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgc agccagaggacctggccgactactactgccaccagtacagcagctac ccattcaccttcggcagcggcaccaagctggagatcaag (SEQ ID NO:163)
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLL LFWASTRHTGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQPEDLADYYCHQYSSY PFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:164)

Tabla 6: 6B8 humanizado – Secuencia de VH

6B8CVH-02	Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaagaagccaggcag cagcgtgaaggtgagctgcaaggccagcggctacaccttcaccgacc agaccatccactggatgcgccaggccccaggccagggcctggagtgg atcggctacatctacccacgcgacgacagcccaaagtacaacgagaa cttcaagggcaaggtcaccatcaccgccgacaagagcaccagcaccg cctacatggagctgagcagcctgcgcagcgaggacaccgccgtgtac tactgcgccatcccagaccgcagcggctacgcctggttcatctactg gggccagggcaccctggtgaccgtgagcagc (SEQ ID NO:165)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEW IGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:166)
6B8CVH-05	Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaagaagccaggcag cagcgtgaaggtgagctgcaaggccagcggcttcaccttcaccgacc agaccatccactgggtgcgccaggccccaggccagggcctggagtgg atgggctacatctacccacgcgacgacagcccaaagtacaacgagaa cttcaagggcaaggtcaccctgaccgccgacaagagcaccagcaccg cctacatggagctgagcagcctgcgcagcgaggacaccgccgtgtac tactgcgccatcccagaccgcagcggctacgcctggttcatctactg gggccagggcaccctggtgaccgtgagcagc (SEQ ID NO:167)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFTDQTIHWVRQAPGQGLEW MGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:168)

6B8CVH-36	Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaagaagccaggcag cagcgtgaagaccagctgcaaggccagcggcggcaccttcaccgacc agaccatccactgggtgcgccagcgcccaggccagggcctggagtgg atgggctacatctacccacgcgacgacagcccaaagtacaacgagaa cttcaagggccgcgtcaccatcaccgccgacaagagcaccagcaccg cctacatggagctgagcagcctgcgcagcgaggacaccgccgtgtac tactgcgccatcccagaccgcagcggctacgcctggttcatctactg gggccagggcaccctggtgaccgtgagcagc (SEQ ID NO:169)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKTSCKASGGTFTDQTIHWVRQRPGQGLEW MGYIYPRDDSPKYNENFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:170)
6B8CVH-65	Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaagaagccaggcag cagcgtgaaggtgagctgcaaggccagcggcggcaccttcaccgacc agaccatccactgggtgcgccaggccccaggccagggcctggagtgg atgggctacatctacccacgcgacgacagcccaaagtacaacgagaa tttcaagggccgcgtcaccctgaccgccgacaagagcaccagcaccg cctacatggagctgagcagcctgcgcagcgaggacaccgccgtgtac ttctgcgcccgcccagaccgcagcggctacgcctggttcatctactg gggccagggcaccctggtgaccgtgagcagc (SEQ ID NO:171)
	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFTDQTIHWVRQAPGQGLEW MGYIYPRDDSPKYNENFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVY FCARPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:172)

Tabla 7: Secuencias de aminoácidos y ADN de cadena pesada y ligera para anticuerpos A, B, C, y D

Anticuerpo A	Cadena ligera de IgK nº 66	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcg ccagcgtgggcgaccgcgtgaccatcacctgcaaggc cagccgcgacgtggccatcgccgtggcctggtaccag cagaagccaggcaaggtgccaaagctgctgatctact gggccagcacccgccacaccggcgtgccaagccgctt cagcggcagcggcagccgcaccgacttcaccctgacc atcagcagcctgcagccagaggacgtggccgactact tctgccaccagtacagcagctacccattcaccttcgg cagcggcaccaagctggagatcaagcgtactgtggct gcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagc agttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgct gaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgg aaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccagg agagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcaccta cagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagac tacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcaccc atcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaa caggggagagtgt (SEQ ID NO:173)
		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQ QKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTDFTLT ISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:174)
	Cadena pesada de IgG1KO nº 2	Caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaaaga agccaggcagcagcgtgaaggtgagctgcaaggccag cggctacaccttcaccgaccagaccatccactggatg cgccaggccccagggccagggcctggagtggatcggct acatctacccacgcgacgacagcccaaagtacaacga gaacttcaagggcaaggtcaccatcaccgccgacaag

		agcaccagcaccgcctacatggagctgagcagcctgc gcagcgaggacaccgccgtgtactactgcgccatccc agaccgcagcggctacgcctggttcatctactggggc cagggcaccctggtgaccgtgagcagcgcctccacca agggcccatcggtcttcccctggcaccctcctccaa gagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctg gtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgt ggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacacctt cccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctc agcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccag caacaccaaggtcgacaagagagttgagcccaaatct tgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcac cagaagctgctggggaccgtcagtcttcctcttccc cccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacc cctgaggtcacatgcgtcgtggtggacgtgagccacg aagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg cgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggag gagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcc tcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaagga gtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcc cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagc cccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatcccg ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgc ctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtgg agtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaa gaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttc ttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggt ggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgca tgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctc tccctgtctccgggt (SEQ ID NO:175)
		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWM RQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL

		VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG (SEQ ID NO:176)
Anticuerpo B	Cadena ligera de IgK nº 66	(SEQ ID NO: 173)
		(SEQ ID NO: 174)
	Cadena pesada de IgG1KO nº 5	caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaggtgaaga agccaggcagcagcgtgaaggtgagctgcaaggccag cggcttcaccttcaccgaccagaccatccactgggtg cgccaggccccaggccagggcctggagtggatgggct acatctacccacgcgacgacagcccaaagtacaacga gaacttcaagggcaaggtcaccctgaccgccgacaag agcaccagcaccgcctacatggagctgagcagcctgc gcagcgaggacaccgccgtgtactactgcgccatccc agaccgcagcggctacgcctggttcatctactggggc cagggcaccctggtgaccgtgagcagcgcctccacca agggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaa gagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctg gtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgt ggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacacctt cccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctc agcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggca cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccag

		caacaccaaggtcgacaagagagttgagcccaaatct tgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcac cagaagctgctgggggaccgtcagtcttcctcttccc cccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacc cctgaggtcacatgcgtcgtggtggacgtgagccacg aagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacgg cgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggag gagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcc tcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaagga gtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcc cccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagc cccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgc ctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtgg agtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaa gaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttc ttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggt ggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgca tgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctc tccctgtctccgggt (SEQ ID NO:177)
		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFTDQTIHWV RQAPGQGLEWMGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTLTADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG (SEQ ID NO:178)

Anticuerpo C	Cadena ligera de IgK nº 65	Gacatccagatgacccagagcccaagcagcctgagcg ccagcgtgggcgaccgcgtgaccatcacctgcaaggc cagccgcgacgtggccatcgccgtggcctggtaccag cagaagccaggcaaggtgccaaagctgctgctgttct gggccagcacccgccacaccggcgtgccagaccgctt cagcggcagcggcagcggcaccgacttcaccctgacc atcagcagcctgcagccagaggacctggccgactact actgccaccagtacagcagctacccattcaccttcgg ccagggcaccaagctggagatcaagcgtactgtggct gcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagc agttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgct gaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgg aaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccagg agagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcaccta cagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagac tacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcaccc atcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaa caggggagagtgt (SEQ ID NO:179)
		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQ QKPGKVPKLLLFWASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDLADYYCHQYSSYPFTFGQGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:180)
	Cadena pesada de IgG1KO nº 2	(SEQ ID NO: 175)
		(SEQ ID NO: 176)
Anticuerpo D	Cadena ligera de IgK nº 65	(SEQ ID NO: 179)
		(SEQ ID NO: 180)
	Cadena pesada de IgG1KO nº 5	(SEQ ID NO: 177)
		(SEQ ID NO: 178)

Las regiones variables de cadenas ligeras y cadena pesada de los anticuerpos A, B, C y D están subrayadas en la tabla 7 anterior.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes propiedades. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 de las siguientes propiedades. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene todas las siguientes propiedades.

• K_D para IL-23 humana ≤ 1 pM (sin desplazamiento en la constante de disociación en suero humano al 50%)

• Bloquea la unión de IL-23 a IL-23R/Fc humano *in vitro*

• Sin unión a IL-12 humana

• Inhibe la producción de IL-17 inducida por IL-23 humana en esplenocitos de ratón con CI_{50} ≤ 20 pM

• Inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 humana en células DB humanas con CI_{50} ≤ 40 pM

• Sin actividad predicha en ADCC/CDC

• K_D ≤ 1 pM para IL-23 de macaco cangrejero

• Sin reactividad cruzada frente a IL-23 de ratón o rata

• Inhibe la producción de IL-17 e IL-22 inducida por IL-23 humana en oreja de ratón (≥80% de inhibición de ambas citocinas a 1 mg/kg)

• Estabilidad a 83ºC (temperatura de fusión de 83ºC tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido)

• Solubilidad ≥ 100 mg/ml (tal como se mide mediante espectroscopía de UV y se monitoriza mediante turbidez)

• La administración subcutánea de 1,0 mg/kg en tres macacos cangrejeros muestra exposición sostenida ≥ 10 nM durante aproximadamente 28 días con una biodisponibilidad de aproximadamente el 70%.

Por sin actividad predicha en ADCC/DC quiere decirse en el presente documento que un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente invención tiene afinidad reducida por receptor de Fc y por tanto se predice que no tendrá actividad en ADCC/CDC.

En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes propiedades. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 de las siguientes propiedades. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene todas de las siguientes propiedades.

• K_D para IL-23 humana ≤ 1 pM (sin desplazamiento en la constante de disociación en suero humano al 50%)

• Bloquea la unión de IL-23 a IL-23R/Fc humano *in vitro*

• Sin unión a IL-12 humana

• Inhibe la producción de IL-17 inducida por IL-23 humana en esplenocitos de ratón con CI_{50} ≤ 20 pM

• Inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 humana en células DB humanas con CI_{50} ≤ 40 pM

• Sin actividad predicha en ADCC/CDC

• K_D ≤1 pM para IL-23 de macaco cangrejero

• Sin reactividad cruzada frente a IL-23 de ratón o rata

• Inhibe la producción de IL-17 e IL-22 inducida por IL-23 humana en oreja de ratón (≥ 80% de inhibición de ambas citocinas a 1 mg/kg)

• Estabilidad a 83ºC (temperatura de fusión de 83ºC tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido)

• Solubilidad ≥ 100 mg/ml (tal como se mide mediante espectroscopía de UV y se monitoriza mediante turbidez).

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes propiedades de unión (propiedades A). En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, de las siguientes propiedades. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene todas las siguientes propiedades.

• K_D para IL-23 humana ≤ 1 pM (sin desplazamiento en la constante de disociación en suero humano al 50%)

• Sin unión a IL-12 humana

• K_D ≤ 1 pM para IL-23 de macaco cangrejero

• Sin reactividad cruzada frente a IL-23 de ratón o rata.

En particular, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene una K_D para IL-23 humana ≤ 1 pM (sin desplazamiento en la constante de disociación en suero humano al 50%) y sin unión a IL-12 humana.

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes propiedades funcionales (propiedades B). En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, de las siguientes propiedades. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene todas las siguientes propiedades.

• Bloquea la unión de IL-23 a IL-23R/Fc humano *in vitro*

• Inhibe la producción de IL-17 inducida por IL-23 humana en esplenocitos de ratón con CI_{50} ≤ 20 pM

• Inhibe la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 humana en células DB humanas con CI_{50} ≤ 40 pM

• Inhibe la producción de IL-17 e IL-22 inducida por IL-23 humana en oreja de ratón (≥ 80% de inhibición de ambas citocinas a 1 mg/kg).

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes propiedades (propiedades C). En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, de las siguientes propiedades. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente invención tiene todas las siguientes propiedades.

• Sin actividad predicha en ADCC/CDC

• Estabilidad a 83ºC (temperatura de fusión de 83ºC tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido)

• Solubilidad ≥ 100 mg/ml (tal como se mide mediante espectroscopía de UV y se monitoriza mediante turbidez)

• La administración subcutánea de 1,0 mg/kg en tres macacos cangrejeros muestra exposición sostenida ≥ 10 nM durante aproximadamente 28 días con una biodisponibilidad de aproximadamente el 70%.

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una de las siguientes propiedades (propiedades C). En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación tiene cualquier combinación de al menos dos de las siguientes propiedades. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente invención tiene todas de las siguientes propiedades.

• Sin actividad predicha en ADCC/CDC

• Estabilidad a 83ºC (temperatura de fusión de 83ºC tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido)

• Solubilidad ≥ 100 mg/ml (tal como se mide mediante espectroscopía de UV y se monitoriza mediante turbidez).

En un aspecto adicional, un anticuerpo humanizado de la presente divulgación tiene al menos una propiedad A, al menos una propiedad B y al menos una propiedad C. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente invención tiene cualquier combinación de al menos dos, o al menos 3, de las propiedades A, B y C.

En algunos aspectos, el anticuerpo humanizado presenta actividad bloqueante, mediante lo cual disminuye la unión de IL-23 a receptor de IL-23 en al menos el 45%, en al menos el 50%; en al menos el 55%, en al menos el 60%, en al menos el 65%, en al menos el 70%, en al menos el 75%, en al menos el 80%, en al menos el 85%, en al menos el 90% o en al menos el 95%. La capacidad de un anticuerpo para bloquear la unión de IL-23 al receptor de IL-23 puede medirse usando ensayos de unión de competencia conocidos en la técnica. Alternativamente, la actividad bloqueante de un anticuerpo puede medirse evaluando los efectos biológicos de IL-23, tales como la producción de

IL-17 e IL-22, para determinar si se inhibe la señalización mediada por el receptor de IL-23.

En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado que tiene propiedades biofísicas favorables. En un aspecto, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente divulgación está presente en al menos el 90% en forma monomérica, o en al menos el 92% en forma monomérica, o en al menos el 95% en forma monomérica en un tampón. En un aspecto adicional, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente invención permanece en al menos el 90% en forma monomérica, o en al menos el 92% en forma monomérica, o en al menos el 95% en forma monomérica en un tampón durante un mes o durante cuatro meses.

En un aspecto, un anticuerpo humanizado de la presente invención es anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C o anticuerpo D. Por consiguiente, en una realización, un anticuerpo humanizado de la presente invención comprende la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 174 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 176 (anticuerpo A). En otra realización, un anticuerpo humanizado de la presente invención comprende la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 174 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 178 (anticuerpo B). En otra realización, un anticuerpo humanizado de la presente invención comprende la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 180 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 176 (anticuerpo C). En otra realización, un anticuerpo humanizado de la presente invención comprende la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 180 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 178 (anticuerpo D).

En una realización adicional, un anticuerpo humanizado de la presente invención consiste en la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 174 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 176 (anticuerpo A). En una realización adicional, un anticuerpo humanizado de la presente invención consiste en la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 174 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 178 (anticuerpo B). En una realización adicional, un anticuerpo humanizado de la presente invención consiste en la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 180 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 176 (anticuerpo C). En una realización adicional, un anticuerpo humanizado de la presente invención consiste en la secuencia de cadena ligera de SEQ ID NO: 180 y la secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 178 (anticuerpo D).

En algunas realizaciones los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados, incluyendo fragmentos de unión a antígeno de los mismos, tales como regiones variables de cadena pesada y ligera, comprenden una secuencia de aminoácidos de los residuos derivados del anticuerpo A (secuencia de cadena ligera = SEQ ID NO: 174; secuencia de cadena pesada = SEQ ID NO: 176), anticuerpo B (secuencia de cadena ligera = SEQ ID NO: 174; secuencia de cadena pesada = SEQ ID NO: 178), anticuerpo C (secuencia de cadena ligera = SEQ ID NO: 180; secuencia de cadena pesada = (SEQ ID NO: 176) o anticuerpo D (secuencia de cadena ligera = SEQ ID NO: 180; secuencia de cadena pesada = SEQ ID NO: 178).

En una realización adicional la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o un fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-23p19 humana en un epítopo que consiste en los residuos de aminoácido de 108 a 126 y los residuos de aminoácido de 137 a 151 de SEQ ID NO: 181.

En una realización adicional la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a IL-23p19 humana mediante competencia con un anticuerpo de la presente invención, por ejemplo anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C o anticuerpo D descrito en el presente documento. La capacidad de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno para unirse mediante competencia a IL-23p19 puede medirse usando ensayos de unión de competencia conocidos en la técnica.

Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados incluyen opcionalmente sustituciones de aminoácido específicas en las regiones de entramado consenso o de línea germinal. La sustitución específica de residuos de aminoácido en estas posiciones de entramado puede mejorar diversos aspectos del rendimiento de anticuerpo incluyendo afinidad de unión y/o estabilidad, con respecto al demostrado en anticuerpos humanizados formados mediante “cambio directo” de CDR o HVL en las regiones de entramado de línea germinal humanas.En algunas realizaciones la presente divulgación describe otros anticuerpos monoclonales con una región variable de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 84, 86, 88, 90, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117 o 119. En algunas realizaciones la presente invención describe otros anticuerpos monoclonales con una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 121, 123, 125, 127, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154 o 156 (véanse las tablas 1 y 2 anteriores). Las secuencias de CDR de estos anticuerpos de ratón se muestran en las tablas 3 y 4. Colocar tales CDR en FR de los dominios variables de cadena pesada y ligera consenso humanos proporcionará anticuerpos humanizados útiles de la presente invención.

En particular, la presente divulgación proporciona anticuerpos monoclonales con las combinaciones de regiones variable de cadena ligera y variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 84/121, 86/123, 88/125, 90/127, 91/128, 93/130, 95/132, 97/134, 99/136, 101/138, 103/140, 105/142, 107/144, 109/146, 111/148, 113/150, 115/152, 117/154 o 119/156. Tales regiones variables pueden combinarse con regiones constantes humanas.

En algunas realizaciones la presente divulgación describe otros anticuerpos humanizados con secuencias de región variable de cadena ligera que tienen la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 158, 160, 162 o 164. En algunas realizaciones la presente divulgación describe otros anticuerpos humanizados con secuencias de región variable de cadena pesada que tienen la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 166, 168, 170 o 172 (véanse las tablas 5 y 6 anteriores). Las secuencias de CDR de estos anticuerpos se muestran en las tablas 3 y 4. En particular, la presente invención proporciona anticuerpos monoclonales con las combinaciones de regiones variable de cadena ligera y variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 160/166, 160/168, 158/166 o 158/168. Tales regiones variables pueden combinarse con regiones constantes humanas.

En una realización adicional la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 160 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90%, idéntica en al menos el 93% o idéntica en al menos el 95% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO: 160 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 166 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90%, idéntica en al menos el 93% o idéntica en al menos el 95% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO: 166. En una realización el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En una realización adicional la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 160 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90%, idéntica en al menos el 93% o idéntica en al menos el 95% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO: 160 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 168 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90%, idéntica en al menos el 93% o idéntica en al menos el 95% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO: 168. En una realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En una realización adicional la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 158 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90%, idéntica en al menos el 93% o idéntica en al menos el 95% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO: 158 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 166 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90%, idéntica en al menos el 93% o idéntica en al menos el 95% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO: 166. En una realización el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En una realización adicional la presente divulgación se refiere a un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 158 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90%, idéntica en al menos el 93% o idéntica en al menos el 95% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO: 158 y un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 168 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90%, idéntica en al menos el 93% o idéntica en al menos el 95% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO: 168. En una realización el anticuerpo anti-IL-23p19 es un anticuerpo monoclonal humanizado.

En algunas realizaciones específicas los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados divulgados en el presente documento comprenden al menos un dominio variable de cadena pesada o ligera que comprende las CDR o HVL de los anticuerpos monoclonales murinos o anticuerpos humanizados tal como se muestran en las tablas 1 a 6 anteriores y las FR de los dominios variables de cadena pesada y ligera de línea germinal humanos.

Las CDR de estas secuencias se muestran en las tablas 3 y 4. Por consiguiente, en un aspecto, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una secuencia de CDR1 de cadena ligera (L-CDR1) de SEQ ID NO: 1, 4, 6, 7, 8, 11, 15, 18, 19, 22, 27 o 30; una secuencia de CDR2 de cadena ligera (L-CDR2) de SEQ ID NO: 2, 5, 9, 12, 16, 20, 23, 25, 28 o 31; una secuencia de CDR3 de cadena ligera (L-CDR3) de SEQ ID NO: 3, 10, 13, 14, 17, 21, 24, 26, 29 o 32; una secuencia de CDR1 de cadena pesada (H-CDR1) de SEQ ID NO: 33, 36, 38, 40, 43, 45, 48, 51, 54, 57, 60, 63, 66, 67, 68, 69, 77 u 80; una secuencia de CDR2 de cadena pesada (H-CDR2) de SEQ ID NO: 34, 39, 41, 46, 49, 52, 55, 58, 61, 64, 70, 72, 73, 75, 78 u 81; y una secuencia de CDR3 de cadena pesada (H-CDR3) de SEQ ID NO: 35, 37, 42, 44, 47, 50, 53, 56,

59, 62, 65, 71, 74, 76, 79 u 82. En un aspecto el anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una L-CDR1 indicada anteriormente, una L-CDR2 indicada anteriormente y una L-CDR3 indicada anteriormente, y una región variable de cadena pesada que comprende una H-CDR1 indicada anteriormente, una H-CDR2 indicada anteriormente y una H-CDR3 indicada anteriormente.

En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende:

a) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 33, 34, y 35, respectivamente; o

b) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 4, 5, 3, 36, 34 y 37, respectivamente; o

c) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 38, 39 y 35, respectivamente; o

d) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 6, 2, 3, 40, 41 y 42, respectivamente; o

e) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 7, 2, 3, 43, 41 y 44, respectivamente; o

f) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 45, 46 y 47, respectivamente; o

g) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 48, 49 y 50, respectivamente; o

h) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 11,12, 13, 51, 52 y 53, respectivamente; o

i) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 7, 2, 14, 54, 55 y 56, respectivamente; o

j) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 15, 16, 17, 57, 58 y 59, respectivamente; o

k) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 18, 16, 17, 60, 61 y 62, respectivamente; o

l) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 19, 20, 21, 63, 66, 67 o 68, 64 y 65, respectivamente; o

m) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 22, 23, 24, 69, 70 y 71, respectivamente; o

n) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 22, 25, 26, 55, 72 y 71, respectivamente; o

o) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 45, 73 y 74, respectivamente; o

p) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 27, 28, 29, 45, 75 y 76, respectivamente; o

q) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 77, 78 y 79, respectivamente; o

r) una secuencia de L-CDR1, una de L-CDR2, una de L-CDR3, una de H-CDR1, una de H-CDR2 y una de H-CDR3 de SEQ ID NO: 30, 31, 32, 80, 81 y 82, respectivamente.

En un aspecto el anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una combinación de L-CDR1, L-CDR2 y L-CDR3 indicadas anteriormente, y una región variable de cadena pesada que comprende una combinación de H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3

indicadas anteriormente.

En realizaciones específicas se contempla que anticuerpos quiméricos con regiones CDR cambiadas (es decir, por ejemplo cambio de una o dos CDR de uno de los anticuerpos de ratón o anticuerpo humanizado derivado del mismo por la CDR análoga de otro anticuerpo de ratón o anticuerpo humanizado derivado del mismo) entre estas inmunoglobulinas a modo de ejemplo puedan proporcionar anticuerpos útiles.

En determinadas realizaciones el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado es un fragmento de anticuerpo. Anteriormente se han comentado de manera general diversos fragmentos de anticuerpo y hay técnicas que se han desarrollado para la producción de fragmentos de anticuerpo. Los fragmentos pueden derivarse mediante digestión proteolítica de anticuerpos intactos (véase, por ejemplo, Morimoto *et al.*, 1992, Journal of Biochemical and Biophysical Methods 24: 107-117; y Brennan *et al.*, 1985, Science 229: 81). Alternativamente, los fragmentos pueden producirse directamente en células huésped recombinantes. Por ejemplo, pueden recuperarse fragmentos Fab'-SH directamente de *E. coli* y acoplarse químicamente para formar fragmentos $F(ab')_2$ (véase, por ejemplo, Carter *et al.*, 1992, Bio/Technology 10: 163-167). Mediante otro enfoque, pueden aislarse fragmentos $F(ab')_2$ directamente de cultivo de células huésped recombinantes. Otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo resultarán evidentes para el experto en la técnica. Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención proporciona fragmentos de anticuerpo que comprenden las CDR descritas en el presente documento, en particular una de las combinaciones de L-CDR1, L-CDR2, L-CDR3, H-CDR1, H-CDR2 y H-CDR3 descritas en el presente documento. En un aspecto adicional la presente divulgación proporciona fragmentos de anticuerpo que comprenden las regiones variables descritas en el presente documento, por ejemplo una de las combinaciones de regiones variables de cadena ligera y regiones variables de cadena pesada descritas en el presente documento.

Determinadas realizaciones incluyen un fragmento de $F(ab')_2$ de un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado que comprende una secuencia de cadena ligera de cualquiera de SEQ ID NO: 174 o 180 en combinación con una secuencia de cadena pesada de SEQ ID NO: 176 o 178. Tales realizaciones pueden incluir un anticuerpo intacto que comprende un $F(ab')_2$ de este tipo.

En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo incluye una región constante que media en la función efectora. La región constante puede proporcionar respuestas de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpo (ADCP) y/o citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) frente a una célula diana que expresa IL-23. El/los dominio(s) efector(es) puede(n) ser, por ejemplo, una región Fc de una molécula de Ig.

El dominio efector de un anticuerpo puede ser de cualquier especie de animal vertebrado e isotipo adecuado. Los isotipos de diferentes especies animales se diferencian en las capacidades para mediar en funciones efectoras. Por ejemplo, la capacidad de inmunoglobulina humana para mediar en CDC y ADCC/ADCP está generalmente en el orden de $IgM \approx IgG_1 \approx IgG_3 > IgG_2 > IgG_4$ e $IgG_1 \approx IgG_3 > IgG_2/IgM/IgG_4$, respectivamente. Las inmunoglobulinas murinas median en CDC y ADCC/ADCP generalmente en el orden de $IgM \approx IgG_3 >> IgG_{2b} > IgG_{2a} >> IgG_1$ e $IgG_{2b} > IgG_{2a} > IgG_1 >> IgG_3$ murinas, respectivamente. En otro ejemplo IgG_{2a} murina media en ADCC mientras que tanto IgG_{2a} como IgM murinas median en CDC.

Modificaciones de anticuerpos

Los agentes y anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados pueden incluir modificaciones del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, puede ser deseable modificar el anticuerpo con respecto a la función efectora para potenciar la eficacia del anticuerpo en el tratamiento del cáncer. Una modificación de este tipo es la introducción de residuo(s) de cisteína en la región Fc, permitiendo así la formación de enlaces disulfuro entre cadenas en esta región. El anticuerpo homodimérico así generado puede tener capacidad de internalización mejorada y/o destrucción celular mediada por complemento aumentada y/o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC). Véase, por ejemplo, Caron *et al.*, 1992, J. Exp Med. 176: 1191-1195; y Shopes, 1992, J. Immunol. 148: 2918-2922. También pueden prepararse anticuerpos homodiméricos que tienen actividad antitumoral potenciada usando agentes de reticulación heterobifuncionales tal como se describe en Wolff *et al.*, 1993, Cancer Research 53: 2560-2565. Alternativamente, puede modificarse un anticuerpo por ingeniería para contener regiones Fc dobles, potenciando las capacidades de lisis de complemento y ADCC del anticuerpo. Véase Stevenson *et al.*, 1989, Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230.

Se han generado anticuerpos con capacidad mejorada para respaldar ADCC modificando el patrón de glicosilación de su región Fc. Esto es posible ya que la glicosilación de anticuerpo en el residuo de asparagina, N297, en el dominio C_{H2} está implicada en la interacción entre receptores de IgG y $Fc\gamma$ como prerrequisito para ADCC. Se han modificado por ingeniería líneas de células huésped para expresar anticuerpos con glicosilación alterada, tal como aumento de N-acetilglucosamina de bisección o reducción de fucosa. La reducción de fucosa proporciona mayor potenciación a la actividad de ADCC que el aumento de la presencia de N-acetilglucosamina de bisección. Además, la potenciación de ADCC mediante anticuerpos con bajo contenido en fucosa es independiente del polimorfismo de $Fc\gamma$RIIIa V/F.

Modificar la secuencia de aminoácidos de la región Fc de anticuerpos es una alternativa a la modificación por ingeniería de la glicosilación para potenciar la ADCC. El sitio de unión en IgG_1 humana para receptores de Fcγ se ha determinado mediante análisis mutacional extensivo. Esto condujo a la generación de anticuerpos de IgG_1 humanizados con mutaciones de Fc que aumentan la afinidad de unión por FcγRIIIa y potencian la ADCC *in vitro*. Adicionalmente, se han obtenido variantes de Fc con muchas permutaciones diferentes de propiedades de unión, por ejemplo, unión mejorada a receptores FcγR específicos con unión inalterada o reducida a otros receptores FcγR.

Otro aspecto incluye inmunoconjugados que comprenden el anticuerpo humanizado o fragmentos del mismo conjugados a un agente citotóxico tal como un agente quimioterápico, una toxina (por ejemplo, una toxina enzimáticamente activa de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de la misma), o un isótopo radiactivo (es decir, un radioconjugado).

Anteriormente se han descrito agentes quimioterápicos útiles en la generación de tales inmunoconjugados. Las toxinas enzimáticamente activas y fragmentos de las mismas que pueden usarse para formar inmunoconjugados útiles incluyen cadena A de toxina diftérica, fragmentos activos no de unión de toxina diftérica, cadena A de exotoxina (de *Pseudomonas aeruginosa*), cadena A de ricina, cadena A abrina, cadena A modecina, alfa-sarcina, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas de diantina, proteínas de *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *Sapaonaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina, los tricotecenos, y similares. Hay una variedad de radionúclidos disponibles para la producción de anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados radioconjugados. Ejemplos incluyen ^{212}Bi, ^{131}I, ^{131}In, ^{90}Y y ^{186}Re.

Pueden prepararse conjugados del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado y agente citotóxico o quimioterápico mediante métodos conocidos, usando una variedad de agentes de acoplamiento a proteína bifuncionales tales como 3-(2-piridilditiol)propionato de N-succinimidilo (SPDP), iminotiolano (IT), derivados bifuncionales de imidoésteres (tales como adipimidato de dimetilo HCl), ésteres activos (tales como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (tales como glutareldehído), compuestos de bis-azido (tales como bis(pazidobenzoil)hexanodiamina), derivados de bis-diazonio (tales como bis-(p-diazoniobenzoil)-etilendiamina), diisocianatos (tales como 2,6-diisocianato de tolueno) y compuestos de flúor bis-activos (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno). Por ejemplo, puede prepararse una inmunotoxina de ricina tal como se describe en Vitetta *et al*., 1987, Science 238: 1098. El ácido 1-isotiocianatobencil-3-metildietilen-triaminopentaacético marcado con carbono 14 (MX-DTPA) es un agente quelante a modo de ejemplo para la conjugación de radionucleótido al anticuerpo. También pueden formarse conjugados con un grupo de unión escindible.

Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados divulgados en el presente documento también pueden formularse como inmunoliposomas. Se preparan liposomas que contienen el anticuerpo mediante métodos conocidos en la técnica, tal como se describe en Epstein *et al*., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 3688; Hwang *et al*., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4030; y las patentes estadounidenses n.^{os} 4.485.045 y 4.544.545. Se divulgan liposomas que tienen tiempo de circulación potenciado, por ejemplo, en la patente estadounidense nº 5.013.556.

Pueden generarse liposomas particularmente útiles mediante el método de evaporación de fase inversa con una composición de lípidos que comprende fosfatidilcolina, colesterol y fosfatidiletanolamina derivatizada con PEG (PEG-PE). Los liposomas se extruyen a través de filtros de tamaño de poro definido para dar liposomas con el diámetro deseado. Pueden conjugarse fragmentos Fab' de un anticuerpo divulgados en el presente documento con los liposomas tal como se describe en Martin *et al*., 1982, J. Biol. Chem. 257: 286-288 mediante una reacción de intercambio de disulfuro. Opcionalmente dentro del liposoma está contenido un agente quimioterápico (tal como doxorubicina). Véase, por ejemplo, Gabizon *et al*., 1989, J. National Cancer Inst. 81 (19): 1484.

Los anticuerpos descritos y divulgados en el presente documento también pueden usarse en procedimientos de ADEPT (terapia con profármacos enzimáticos dirigidos a anticuerpos) conjugando el anticuerpo con una enzima activadora de profármaco que convierte un profármaco (por ejemplo, un agente quimioterápico de peptidilo) en un fármaco anticancerígeno activo. Véanse, por ejemplo, los documentos WO 81/01145, WO 88/07378 y la patente estadounidense nº 4.975.278. El componente enzimático del inmunoconjugado útil para ADEPT es una enzima capaz de actuar sobre un profármaco de tal manera que lo convierte en su forma citotóxica más activa. Las enzimas específicas que son útiles en ADEPT incluyen, pero no se limitan a estas, fosfatasa alcalina para convertir profármacos que contienen fosfato en fármacos libres; arilsulfatasa para convertir profármacos que contienen sulfato en fármacos libres; citosina desaminasa para convertir 5-fluorocitosina no tóxica en el fármaco anticancerígeno, 5-fluorouracilo; proteasas, tales como proteasa de *Serratia*, termolisina, subtilisina, carboxipeptidasas, y catepsinas (tales como catepsinas B y L), para convertir profármacos que contienen péptidos en fármacos libres; D-alanilcarboxipeptidasas, para convertir profármacos que contienen sustituyentes de D-aminoácidos; enzimas de escisión de hidratos de carbono tales como β-galactosidasa y neuraminidasa para convertir profármacos glicosilados en fármacos libres; β-lactamasa para convertir fármacos derivatizados con β-lactamas en fármacos libres; y penicilina amidasas, tales como penicilina V amidasa o penicilina G amidasa, para convertir fármacos derivatizados en sus nitrógenos de amina con grupos fenoxiacetilo o fenilacetilo, respectivamente, en fármacos libres. Alternativamente, pueden usarse anticuerpos que tienen actividad enzimática ("abzimas") para convertir los

profármacos en fármacos activos libres (véase, por ejemplo, Massey, 1987, Nature 328: 457-458). Pueden prepararse conjugados de anticuerpo-abzima mediante métodos conocidos para suministrar la abzima a una población de células tumorales, por ejemplo, uniendo covalentemente la enzima al anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado/reactivos de reticulación heterobifuncionales comentados anteriormente. Alternativamente, pueden construirse proteínas de fusión que comprenden al menos la región de unión a antígeno de un anticuerpo divulgado en el presente documento unida a al menos una parte funcionalmente activa de una enzima tal como se describió anteriormente usando técnicas de ADN recombinante (véase, por ejemplo, Neuberger *et al.*, 1984, Nature 312: 604-608).

En determinadas realizaciones puede ser deseable usar un fragmento de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, en vez de un anticuerpo intacto, por ejemplo, para aumentar la penetración tisular. Puede ser deseable modificar el fragmento de anticuerpo con el fin de aumentar su semivida en suero. Esto puede lograrse, por ejemplo, mediante incorporación de un epítopo de unión a receptor de rescate en el fragmento de anticuerpo. En un método, la región apropiada del fragmento de anticuerpo puede alterarse (por ejemplo, mutarse), o el epítopo puede incorporarse en una etiqueta de péptido que después se fusiona con el fragmento de anticuerpo en cualquier extremo o en el centro, por ejemplo, mediante síntesis de péptidos o ADN. Véase, por ejemplo, el documento WO 96/32478.

En otras realizaciones también se incluyen modificaciones covalentes del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado. Las modificaciones covalentes incluyen modificación de residuos de cisteinilo, residuos de histidilo, residuos de lisinilo y amino-terminales, residuos de arginilo, residuos de tirosilo, grupos laterales de carboxilo (aspartilo o glutamilo), residuos de glutaminilo y asparaginilo, o residuos de serilo o treonilo. Otro tipo de modificación covalente implica acoplar química o enzimáticamente glicósidos al anticuerpo. Tales modificaciones pueden prepararse mediante síntesis química o mediante escisión enzimática o química del anticuerpo, si es aplicable. Otros tipos de modificaciones covalentes del anticuerpo pueden introducirse en la molécula haciendo reaccionar residuos de aminoácido del anticuerpo seleccionados como diana con un agente de derivatización orgánico que es capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o los residuos amino o carboxilo-terminales.

La eliminación de cualquier resto de hidrato de carbono presente en el anticuerpo puede lograrse de manera química o enzimática. La desglicosilación química se describe por Hakimuddin *et al.*, 1987, Arch. Biochem. Biophys. 259: 52 y por Edge *et al.*, 1981, Anal. Biochem., 118: 131. La escisión enzimática de restos de hidrato de carbono en anticuerpos puede lograrse mediante el uso de una variedad de endo y exo-glicosidasas tal como se describe por Thotakura *et al.*, 1987, Met. Enzymol., 138: 350.

Otro tipo de modificación covalente útil comprende unir el anticuerpo a uno de una variedad de polímeros no proteicos, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol o polioxialquilenos, de la manera expuesta en una o más de la patente estadounidense nº 4.640.835, la patente estadounidense nº 4.496.689, la patente estadounidense nº 4.301.144, la patente estadounidense nº 4.670.417, la patente estadounidense nº 4.791.192 y la patente estadounidense nº 4.179.337.

Humanización y variantes de secuencia de aminoácidos

Pueden prepararse variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-23p19 introduciendo cambios de nucleótidos apropiados en el ADN de anticuerpo anti-IL-23p19 o mediante síntesis de péptidos. Tales variantes incluyen, por ejemplo, deleciones de, y/o inserciones en y/o sustituciones de, residuos dentro de las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos anti-IL- 23p19 de los ejemplos en el presente documento. Se realiza cualquier combinación de deleciones, inserciones y sustituciones para llegar al constructo final, siempre que el constructo final presente las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar procesos postraduccionales del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o variante, tales como cambio del número o la posición de sitios de glicosilación.

Un método útil para la identificación de determinados residuos o regiones del anticuerpo anti-IL-23p19 que son ubicaciones preferidas para la mutagénesis se denomina “mutagénesis por barrido de alanina”, tal como se describe por Cunningham y Wells (Science, 244: 1081-1085 (1989)). En este caso, se identifica un residuo o grupo de residuos objetivo (por ejemplo, residuos con carga tales como arg, asp, his, lys y glu) y se sustituyen por un aminoácido neutro o con carga negativa (normalmente alanina) para afectar a la interacción de los aminoácidos con el antígeno de IL-23p19. Después, las ubicaciones de aminoácido que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones se refinan introduciendo variantes adicionales u otras en, o para, los sitios de sustitución. Por tanto, aunque el sitio para la introducción de una variación de la secuencia de aminoácidos está predeterminado, no es necesario que la naturaleza de la mutación en sí misma esté predeterminada. Por ejemplo, para analizar el rendimiento de una mutación en un sitio dado se realiza mutagénesis por barrido de alanina o al azar en el codón o región objetivo y se examinan las variantes de anticuerpo anti-IL-23p19 expresadas para detectar la actividad deseada.

Las inserciones de secuencia de aminoácidos incluyen fusiones amino y/o carboxilo-terminales cuya longitud oscila entre un residuo y polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como inserciones dentro de la secuencia de residuos de aminoácido individuales o múltiples. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo anti-

IL-23p19 fusionado con una etiqueta de epítopo. Otras variantes de inserción de la molécula de anticuerpo anti-IL-23p19 incluyen una fusión con el extremo N- o C-terminal del anticuerpo anti-IL-23p19 de una enzima o un polipéptido que aumenta la semivida en suero del anticuerpo.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácido. Estas variantes tienen al menos un residuo de aminoácido en la molécula de anticuerpo anti-IL-23p19 retirado y un residuo diferente insertado en su lugar. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis por sustitución incluyen las regiones hipervariable, pero también se contemplan alteraciones de la FR. En la tabla 5 se muestran sustituciones conservativas bajo el título de "sustituciones preferidas". Si tales sustituciones dan como resultado un cambio en la actividad biológica, entonces pueden introducirse cambios más sustanciales, denominados "sustituciones a modo de ejemplo", o tal como se describe a continuación en referencia a clases de aminoácidos, y examinarse los productos.

TABLA 8:

Residuo original	Sustituciones a modo de ejemplo	Sustituciones preferidas
Ala (A)		val; leu; ile **val**
Arg (R)		lys; gln; asn **lys**
Asn (N)		gln; his; asp; lys; arg
	gln	
Asp (D)		glu; asn **glu**
Cys (C)		ser; ala **ser**
Gln (Q)		asn; glu **asn**
Glu (E)		asp; gln **asp**
Gly (G)		ala **ala**
His (H)		arg; asn; gln; lys;
	arg	
Ile (I)		leu; val; met; ala;
phe; norleucina	**leu**	
Leu (L)		ile; norleucina; val;
met; ala; phe	**ile**	
Lys (K)		arg; gln; asn **arg**
Met (M)		leu; phe; ile **leu**
Phe (F)		tyr; leu; val; ile; ala;
	tyr	
Pro (P)		ala **ala**
Ser (S)		thr **thr**
Thr (T)		ser **ser**
Trp (W)		tyr; phe **tyr**
Tyr (Y)		phe; trp; thr; ser
	phe	
Val (v)		leu; ile; met; phe
ala; norleucina;	**leu**	

En la química de proteínas, generalmente se acepta que las propiedades biológicas del anticuerpo pueden lograrse seleccionando sustituciones que difieren significativamente en cuanto a su efecto sobre mantener (a) la estructura del esqueleto de polipéptido en la zona de la sustitución, por ejemplo, como una conformación en lámina o helicoidal, (b) la carga o hidrofobia de la molécula en el sitio objetivo, o (c) el volumen ocupado de la cadena lateral. Los residuos que se producen de manera natural se dividen en grupos basándose en propiedades de cadena lateral comunes:

(1) hidrófobos: norleucina, met, ala, val, leu, ile;

(2) hidrófilos neutros: cys, ser, thr;

(3) ácidos: asp, glu;

(4) básicos: asn, gln, his, lys, arg;

(5) residuos que influyen sobre la orientación de la cadena: gly, pro; y

(6) aromáticos: trp, tyr, phe.

Las sustituciones no conservativas conllevarán el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

Cualquier residuo de cisteína no implicado en mantener la conformación apropiada del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o variante también puede sustituirse, generalmente por serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de

la molécula, prevenir la reticulación aberrante, o proporcionar puntos establecidos de conjugación a un compuesto citotóxico o citostático. A la inversa, puede(n) añadirse enlace(s) de cisteína al anticuerpo para mejorar su estabilidad (particularmente cuando el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo tal como un fragmento Fv).

Un tipo de variante de sustitución implica sustituir uno o más residuos de región hipervariable de un anticuerpo original (por ejemplo, un anticuerpo humano o humanizado). Generalmente, el/las variante(s) resultante(s) seleccionada(s) para su desarrollo adicional tendrán propiedades biológicas mejoradas en relación con el anticuerpo original a partir del cual se generan. Una manera conveniente de generar tales variantes de sustitución es la maduración por afinidad usando presentación en fagos. En resumen, se mutan varios sitios de regiones hipervariables (por ejemplo, 6-7 sitios) para generar todas las posibles sustituciones de amino en cada sitio. Las variantes de anticuerpo así generadas se presentan de un modo monovalente a partir de partículas de fagos filamentosos como fusiones con el producto del gen III de M13 empaquetadas dentro de cada partícula. Después se examinan las variantes presentadas en fagos para determinar su actividad biológica (por ejemplo, afinidad de unión). Con el fin de identificar sitios de región hipervariable candidatos para la modificación, puede realizarse mutagénesis por barrido de alanina para identificar residuos de región hipervariable que contribuyen significativamente a la unión a antígeno. Alternativamente, o de manera adicional, puede ser beneficioso analizar la estructura cristalina del complejo antígeno-anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el anticuerpo e IL-23p19 humana. Tales residuos de contacto y residuos adyacentes son candidatos para la sustitución según las técnicas elaboradas en el presente documento. Una vez generadas tales variantes, se somete el panel de variantes a examen tal como se describe en el presente documento y pueden seleccionarse anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos relevantes para su desarrollo adicional.

Otro tipo de variante de aminoácido del anticuerpo altera el patrón de glicosilación original del anticuerpo. Por “alterar” se entiende eliminar uno o más restos de hidrato de carbono encontrados en el anticuerpo, y/o añadir uno o más sitios de glicosilación que no están presentes en el anticuerpo.

En algunas realizaciones puede ser deseable modificar los anticuerpos de la invención para añadir sitios de glicosilaciones. La glicosilación de anticuerpos está normalmente o bien unida a N o bien unida a O. Unida a N se refiere a la unión del resto de hidrato de carbono a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias tripeptídicas asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, en las que X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática del resto de hidrato de carbono a la cadena lateral de asparagina. Por tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias tripeptídicas en un polipéptido crea un posible sitio de glicosilación. La glicosilación unida a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa, a un hidroxiaminoácido, lo más comúnmente serina o treonina, aunque también pueden usarse 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina. Por tanto, con el fin de glicosilar una proteína dada, por ejemplo, un anticuerpo, la secuencia de aminoácidos de la proteína se modifica por ingeniería para contener una o más de las secuencias tripeptídicas descritas anteriormente (para sitios de glicosilación unida a N). La alteración también puede realizarse mediante la adición de, o sustitución con, uno o más residuos de serina o treonina a la secuencia del anticuerpo original (para sitios de glicosilación unida a O).

Se preparan moléculas de ácido nucleico que codifican para variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-23p19 mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica. Estos métodos incluyen, pero no se limitan a estos, aislamiento a partir de una fuente natural (en el caso de variantes de secuencia de aminoácidos que se producen de manera natural) o preparación mediante mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida al sitio), mutagénesis por PCR, y mutagénesis por casete de una variante preparada anteriormente o una versión no variante del anticuerpo anti-IL-23p19.

Polinucleótidos, vectores, células huésped y métodos recombinantes

Otras realizaciones abarcan polinucleótidos aislados que comprenden una secuencia que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, vectores y células huésped que comprenden los polinucleótidos, y técnicas recombinantes para la producción del anticuerpo humanizado. Los polinucleótidos aislados pueden codificar para cualquier forma deseada del anticuerpo anti-IL-23p19 incluyendo, por ejemplo, anticuerpos monoclonales de longitud completa, fragmentos Fab, Fab', $F(ab')_2$ y Fv, diacuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de cadena sencilla, y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 84, 86, 88, 90, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117 o 119. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO: 83, 85, 87, 89, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116 y 118. Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la región variable de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121, 123, 125, 127, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154 o 156. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO: 120, 122, 124, 126, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153 o 155.

Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 158, 160, 162 o 164. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO: 157, 159, 161 o 163. Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la región variable de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166, 168, 170 o 172. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO: 165, 167, 169 o 171.

Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la cadena ligera de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 174 o 180. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO: 173 o 179. Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que comprenden secuencias que codifican para la cadena pesada de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176 o 178. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO: 175 o 177.

En un aspecto la(s) secuencia(s) de polinucleótido aislada(s) codifica(n) para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene una cadena ligera y una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 y SEQ ID NO: 176, respectivamente; SEQ ID NO: 174 y SEQ ID NO: 178, respectivamente; SEQ ID NO: 180 y SEQ ID NO: 176, respectivamente; SEQ ID NO: 180 y SEQ ID NO: 178, respectivamente. Secuencias de polinucleótido a modo de ejemplo que codifican para tales secuencias de aminoácidos son SEQ ID NO: 173 y 175, respectivamente, SEQ ID NO: 173 y 177, respectivamente, SEQ ID NO: 179 y 175, respectivamente, SEQ ID NO: 179 y 177, respectivamente.

El/los polinucleótido(s) que comprende(n) una secuencia que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o un fragmento o cadena del mismo puede(n) ser útil(es) para una o más secuencias reguladoras o de control, tal como se conoce en la técnica, y puede(n) estar contenido(s) en vectores de expresión o célula huésped adecuados tal como se conoce en la técnica. Cada una de las moléculas de polinucleótido que codifican para los dominios variables de cadena pesada o ligera puede fusionarse independientemente con una secuencia de polinucleótido que codifica para un dominio constante, tal como un dominio constante humano, permitiendo la producción de anticuerpos intactos. Alternativamente, pueden fusionarse polinucleótidos, o partes de los mismos, entre sí, proporcionando un molde para la producción de un anticuerpo de cadena sencilla.

Para la producción recombinante se inserta un polinucleótido que codifica para el anticuerpo en un vector replicable para la clonación (amplificación del ADN) o para la expresión. Están disponibles muchos vectores adecuados para expresar el anticuerpo recombinante. Los componentes de vector incluyen generalmente, pero no se limitan a estos, uno o más de los siguientes: una secuencia señal, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y una secuencia de terminación de la transcripción.

Los anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados también pueden producirse como polipéptidos de fusión, en los que el anticuerpo se fusiona con un polipéptido heterólogo, tal como una secuencia señal u otro polipéptido que tiene un sitio de escisión específico en el extremo amino-terminal de la proteína o el polipéptido maduros. La secuencia señal heteróloga es normalmente una que se reconoce y procesa (es decir, se escinde mediante una señal peptidasa) por la célula huésped. Para células huésped procariotas que no reconocen y procesan la secuencia señal del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, la secuencia señal puede sustituirse por una secuencia señal procariota. La secuencia señal puede ser, por ejemplo, fosfatasa alcalina, penicilinasa, lipoproteína, líderes de enterotoxina II termoestables, y similares. Para la secreción de levaduras, la secuencia señal nativa puede sustituirse, por ejemplo, por una secuencia líder obtenida de factor alfa de invertasa de levadura (incluyendo líderes de factor α de *Saccharomyces* y *Kluyveromyces*), fosfatasa ácida, glucoamilasa de *C. albicans*, o la señal descrita en el documento WO90/13646. En células de mamífero, pueden usarse secuencias señal de mamífero así como líderes de secreción virales, por ejemplo, la señal gD del herpes simple. El ADN para tal región de precursor se liga en marco de lectura con ADN que codifica para el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado.

Los vectores de expresión y clonación contienen una secuencia de ácido nucleico que permite que el vector se replique en una o más células huésped seleccionadas. Generalmente, en vectores de clonación esta secuencia es una que permite que el vector se replique independientemente del ADN cromosómico del huésped, e incluye orígenes de replicación o secuencias de replicación autónoma. Tales secuencias se conocen bien para una variedad de bacterias, levaduras y virus. El origen de replicación del plásmido pBR322 es adecuado para la mayoría de las bacterias Gram negativas, el origen de plásmido 2-υ es adecuado para levadura, y diversos orígenes virales (VS40, poliomavirus, adenovirus, VEV y VPB) son útiles para clonar vectores en células de mamífero. Generalmente, el componente de origen de replicación no se necesita para vectores de expresión en mamíferos (el origen de VS40 puede usarse normalmente sólo porque contiene el promotor temprano).

Los vectores de expresión y clonación pueden contener un gen que codifica para un marcador seleccionable para facilitar la identificación de la expresión. Los genes de marcadores seleccionables típicos codifican para proteínas

que confieren resistencia a antibióticos u otras toxinas, por ejemplo, ampicilina, neomicina, metotrexato o tetraciclina, o alternativamente, son deficiencias auxotróficas de complemento, o en otras alternativas suministran nutrientes específicos que no están presentes en medios complejos, por ejemplo, el gen que codifica para D-alanina racemasa para bacilos.

Un ejemplo de un esquema de selección utiliza un fármaco para detener el crecimiento de una célula huésped. Las células que se transforman satisfactoriamente con un gen heterólogo producen una proteína que confiere resistencia a fármaco y por tanto sobreviven en el régimen de selección. Ejemplos de tal selección dominante usan los fármacos neomicina, ácido micofenólico e higromicina. Marcadores seleccionables comunes para células de mamíferos son aquellos que permiten la identificación de células competentes para captar un ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, tal como DHFR (dihidrofolato reductasa), timidina cinasa, metalotioneína I y II (tal como genes de metalotioneína de primate), adenosina desaminasa, ornitina descarboxilasa, y similares. En primer lugar se identifican células transformadas con el gen de selección de DHFR cultivando todos los transformantes en un medio de cultivo que contiene metotrexato (Mtx), un antagonista de competencia de DHFR. Una célula huésped apropiada cuando se emplea DHFR de tipo natural es la línea de células de ovario de hámster chino (CHO) deficiente en actividad DHFR (por ejemplo, DG44).

Alternativamente, pueden seleccionarse células huésped (particularmente huéspedes de tipo natural que contienen DHFR endógeno) transformadas o cotransformadas con secuencias de ADN que codifican para anticuerpo anti-IL-23p19, proteína DHFR de tipo natural y otro marcador seleccionable. tal como aminoglicósido 3'-fosfotransferasa (APH), mediante crecimiento celular en medio que contiene una selección agentes para el marcador seleccionable tal como un antibiótico aminoglicosídico, por ejemplo, kanamicina, neomicina o G418. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense nº 4.965.199.

Cuando la producción recombinante se realiza en una célula de levadura como célula huésped, el gen de TRP1 presente en el plásmido de levadura YRp7 (Stinchcomb *et al*., 1979, Nature 282: 39) puede usarse como marcador seleccionable. El gen de TRP1 proporciona un marcador de selección para una cepa mutante de levadura que carece de la capacidad de crecer en triptófano, por ejemplo, ATCC nº 44076 o PEP4-1 (Jones, 1977, Genetics 85: 12). Entonces, la presencia de la lesión de trp1 en el genoma de la célula huésped de levadura proporciona un entorno eficaz para detectar la transformación mediante crecimiento en ausencia de triptófano. De manera similar, cepas de levadura deficientes en Leu2p tales como ATCC 20.622 y 38.626 se complementan mediante plásmidos conocidos que portan el gen de LEU2.

Además, pueden usarse vectores derivados del plásmido circular de 1,6 μm pKD1 para la transformación de levaduras *Kluyveromyces*. Alternativamente, se notificó un sistema de expresión para la producción a gran escala de quimosina de ternero recombinante para *K. lactis* (Van den Berg, 1990, Bio/Technology 8: 135). También se han divulgado vectores de expresión de múltiples copias estables para la secreción de albúmina sérica humana recombinante madura mediante cepas industriales de *Kluyveromyces* (Fleer *et al*., 1991, Bio/Technology 9: 968-975).

Los vectores de expresión y clonación habitualmente contienen un promotor que se reconoce por el organismo huésped y está operativamente unido a la molécula de ácido nucleico que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 o cadena polipeptídica del mismo. Promotores adecuados para su uso con huéspedes procariotas incluyen promotor phoA, sistemas de promotor de lactosa y β-lactamasa, fosfatasa alcalina, sistema de promotor de triptófano (trp), y promotores híbridos tales como el promotor tac. Otros promotores bacterianos conocidos también son adecuados. Los promotores para su uso en sistemas bacterianos también contendrán una secuencia de Shine-Dalgarno (S.D.) operativamente unida al ADN que codifica para el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado.

Se conocen muchas secuencias de promotor eucariotas. Prácticamente todos los genes eucariotas tienen una región rica en AT ubicada aproximadamente de 25 a 30 bases en el sentido aguas rriba del sitio en el que se inicia la transcripción. Otra secuencia encontrada de 70 a 80 bases en el sentido agua arriba desde el comienzo de la transcripción de muchos genes es una región de CNCAAT en la que N puede ser cualquier nucleótido. En el extremo 3' de la mayoría de los genes eucariotas hay una secuencia AATAAA que puede ser la señal para la adición de la cola de poliA al extremo 3' de la secuencia codificante. Todas estas secuencias se insertan de manera adecuada en vectores de expresión eucariotas.

Ejemplos de secuencias promotoras adecuadas para su uso con huéspedes de levadura incluyen los promotores para 3-fosfoglicerato cinasa u otras enzimas glicolíticas, tales como enolasa, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, hexocinasa, piruvato descarboxilasa, fosfofructocinasa, glucosa-6-fosfato isomerasa, 3-fosfoglicerato mutasa, piruvato cinasa, triosafosfato isomerasa, fosfoglucosa isomerasa y glucocinasa.

Los promotores inducibles tienen la ventaja adicional de la transcripción controlada por las condiciones de crecimiento. Estos incluyen regiones de promotor de levadura para alcohol deshidrogenasa 2, isocitocromo C, fosfatasa ácida, enzimas derivadas asociadas con el metabolismo del nitrógeno, metalotioneína, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, y enzimas responsables del uso de maltosa y galactosa. En el documento EP 73.657 se describen adicionalmente vectores y promotores adecuados para su uso en la expresión en levaduras. También se

usan potenciadores de levaduras ventajosamente con promotores de levaduras.

La transcripción de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado a partir de vectores en células huésped de mamífero se controla, por ejemplo, mediante promotores obtenidos a partir de los genomas de virus tales como poliomavirus, virus de la viruela aviar, adenovirus (tal como adenovirus 2), virus del papiloma bovino, virus del sarcoma aviar, citomegalovirus, un retrovirus, virus de la hepatitis B y virus del simio 40 (VS40), a partir de promotores de mamífero heterólogos, por ejemplo, el promotor de actina o un promotor de inmunoglobulina, o a partir de promotores de choque térmico, siempre que tales promotores sean compatibles con los sistemas de la célula huésped.

Los promotores tempranos y tardíos del virus VS40 se obtienen convenientemente como un fragmento de restricción de VS40 que también contiene el origen de replicación viral de VS40. El promotor temprano inmediato del citomegalovirus humano se obtiene convenientemente como un fragmento de restricción de HindIII E. Se divulga un sistema para expresar ADN en huéspedes mamíferos que usa el virus del papiloma bovino como vector se divulga en la patente estadounidense nº 4.419.446. Se describe una modificación de este sistema en la patente estadounidense nº 4.601.978. Véase también Reyes *et al.*, 1982, Nature 297: 598-601, que divulga la expresión de ADNc de interferón p humano en células de ratón bajo el control de un promotor de timidina cinasa de virus del herpes simple. Alternativamente, puede usarse la repetición terminal larga de virus del sarcoma de Rous como promotor.

Otro elemento útil que puede usarse en un vector de expresión recombinante es una secuencia de potenciador, que se usa para aumentar la transcripción de un ADN que codifica para un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado por eucariotas superiores. Ahora se conocen muchas secuencias de potenciador a partir de genes de mamífero (por ejemplo, globina, elastasa, albúmina, α-fetoproteína e insulina). Sin embargo, normalmente se usa un potenciador de un virus de célula eucariota. Los ejemplos incluyen el potenciador de VS40 en el lado tardío del origen de replicación (pb 100-270), el potenciador del promotor temprano de citomegalovirus, el potenciador de poliomavirus en el lado tardío del origen de replicación y potenciadores de adenovirus. Véase también Yaniv, 1982, Nature 297: 17-18 para una descripción de elementos potenciadores para la activación de promotores eucariotas. El potenciador puede empalmarse en el vector en una posición en 5' o 3' con respecto a la secuencia que codifica para el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado, pero está preferiblemente ubicado en un sitio en 5' desde el promotor.

Los vectores de expresión usados en células huésped eucariotas (células de levaduras, hongos, insectos, vegetales, animales, humanas o células nucleadas de otros organismos multicelulares) también pueden contener secuencias necesarias para la terminación de la transcripción y para estabilizar el ARNm. Tales secuencias están comúnmente disponibles a partir de las regiones no traducidas en 5' y, ocasionalmente en 3', de ADNc o ADN eucariotas o virales. Estas regiones contienen segmentos de nucleótidos transcritos como fragmentos poliadenilados en la parte sin traducir del ARNm que codifica para anticuerpo anti-IL-23p19. Un componente de terminación de la transcripción útil es la región de poliadenilación de hormona del crecimiento bovina. Véase el documento WO94/11026 y el vector de expresión divulgado en el mismo. En algunas realizaciones pueden expresarse anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados usando el sistema CHEF. (Véase, por ejemplo, la patente estadounidense nº 5.888.809).

Células huésped adecuadas para clonar o expresar el ADN en los vectores en el presente documento son las células procariotas, de levaduras o eucariotas superiores descritas anteriormente. Las procariotas adecuadas para este fin incluyen eubacterias, tales como organismos Gram negativos o Gram positivos, por ejemplo, *Enterobacteriaceae* tales como *Escherichia*, por ejemplo, *E. coli*, *Enterobacter, Erwinia, Klebsiella, Proteus, Salmonella*, por ejemplo, *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, por ejemplo, *Serratia marcescans*, y *Shigella*, así como *Bacilli* tales como *B. subtilis* y *B. licheniformis* (por ejemplo, *B. licheniformis* 41 P divulgado en el documento DD 266.710 publicado el 12 de abril de 1989), *Pseudomonas* tales como *P. aeruginosa* y *Streptomyces*. Un huésped de clonación de *E. coli* preferido es *E. coli* 294 (ATCC 31.446), aunque otras cepas tales como *E. coli* B, *E. coli* X1776 (ATCC 31.537) y *E. coli* W31110 (ATCC 27.325) son adecuadas. Estos ejemplos son ilustrativos en vez de limitativos.

Además de procariotas, microbios eucariotas tales como hongos filamentosos o levaduras son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican para anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado. *Saccharomyces cerevisiae*, o levadura de panadería común, es el más comúnmente utilizado de entre los microorganismos huésped eucariotas inferiores. Sin embargo, están comúnmente disponibles otros varios géneros, especies y cepas y son útiles en el presente documento, tales como *Schizosaccharomyces pombe*; huéspedes de *Kluyveromyces* tales como, por ejemplo, *K. lactis, K. fragilis* (ATCC 12.424), *K. bulgaricus* (ATCC 16.045), *K. wickeramii* (ATCC 24.178), *K. waltii* (ATCC 56.500), *K. drosophilarum* (ATCC 36.906), *K. thermotolerans,* y *K. marxianus*; *Yarrowia* (documento EP 402.226); *Pichia pastors* (documento EP 183.070); *Candida; Trichoderma reesia* (documento EP 244.234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces* tales como *Schwanniomyces occidentalis* y hongos filamentosos tales como, por ejemplo, *Neurospora, Penicillium, Tolypocladium,* y huéspedes de *Aspergillus* tales como *A. nidulans* y *A. niger*.

Se derivan células huésped adecuadas para la expresión de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado glicosilado de organismos multicelulares. Ejemplos de células de invertebrados incluyen células vegetales y de insectos, incluyendo, por ejemplo, numerosas variantes y cepas de baculovirus y células huésped de insecto permisivas

correspondientes de huéspedes tales como *Spodoptera frugiperda* (oruga), *Aedes aegypti* (mosquito), *Aedes albopictus* (mosquito), *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta) y *Bombyx mori* (gusano de seda). Está disponible para el público una variedad de cepas virales para la transfección, por ejemplo, la variante L-1 del VPN de *Autographa californica* y la cepa Bm-5 del VPN de *Bombyx mori*, y tales virus pueden usarse particularmente para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*.

También pueden usarse cultivos de células vegetales de algodón, maíz, patata, semilla de soja, petunia, tomate y tabaco como huéspedes.

En otro aspecto, la expresión de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado se lleva a cabo en células de vertebrados. La propagación de células de vertebrados en cultivo (cultivo tisular) se ha convertido en un procedimiento de rutina y hay técnicas ampliamente disponibles. Ejemplos de líneas de célula huésped de mamífero útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por VS40 (COS-7, ATCC CRL 1651), línea de riñón embrionario humano (293 o células 293 subclonadas para el crecimiento en cultivo en suspensión (Graham *et al*., 1977, J. Gen Virol. 36: 59)), células de riñón de hámster recién nacido (BHK, ATCC CCL 10), células de ovario de hámster chino/-DHFR1 (CHO, Urlaub *et al*., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216; por ejemplo, DG44), células de Sertoli de ratón (TM4, Mather, 1980, Biol, Reprod. 23: 243-251), células de riñón de mono (CV1 ATCC CCL 70), células de riñón de mono verde africano (VERO-76, ATCC CRL- 1587), células de carcinoma de cuello uterino humanas (HELA, ATCC CCL 2), células de riñón de perro (MDCK, ATCC CCL 34), células de hígado de rata Buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442), células de pulmón humano (W138, ATCC CCL 75), células de hígado humano (Hep G2, HB 8065), tumor de mama de ratón (MMT 060562, ATCC CCL51), células TR1 (Mather *et al*., 1982, Annals N.Y. Acad. Sci. 383: 44-68), células MRC 5, células FS4 y línea de hepatoma humano (Hep G2).

Las células huésped se transforman con los vectores de expresión o clonación descritos anteriormente para la producción de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado y se cultivan en medios de nutrientes convencionales modificados según sea apropiado para inducir promotores, seleccionar transformantes o amplificar los genes que codifican para las secuencias deseadas.

Las células huésped usadas para producir un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado descrito en el presente documento pueden cultivarse en una variedad de medios. Medios comercialmente disponibles tales como F10 de Ham (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Mo.), medio mínimo esencial ((MEM), Sigma-Aldrich Co.), RPMI-1640 (Sigma-Aldrich Co.) y medio de Eagle modificado por Dulbecco ((DMEM), Sigma-Aldrich. Co.) son adecuados para cultivar las células huésped. Además, pueden usarse como medios de cultivo para las células huésped cualquiera de los medios descritos en uno o más de Ham *et al*., 1979, Meth. Enz. 58: 44, Barnes *et al*., 1980, Anal. Biochem. 102: 255, la patente estadounidense nº 4.767.704, la patente estadounidense nº 4.657.866, la patente estadounidense nº 4.927.762, la patente estadounidense nº 4.560.655, la patente estadounidense nº 5.122.469, los documentos WO 90/103430 y WO 87/00195. Cualquiera de estos medios puede suplementarse según sea necesario con hormonas y/u otros factores de crecimiento (tales como insulina, transferrina o factor de crecimiento epidérmico), sales (tales como cloruro de sodio, calcio, magnesio y fosfato), tampones (tales como HEPES), nucleótidos (tales como adenosina y timidina), antibióticos (tales como gentamicina), oligoelementos (definidos como compuestos inorgánicos habitualmente presentes a concentraciones finales en el intervalo micromolar), y glucosa o una fuente de energía equivalente. También pueden incluirse otros suplementos a concentraciones apropiadas que conocerán los expertos en la técnica. Las condiciones de cultivo, tales como temperatura, pH y similares, son las usadas anteriormente con la célula huésped seleccionada para la expresión y resultarán evidentes para el experto habitual.

Cuando se usan técnicas recombinantes, el anticuerpo puede producirse intracelularmente en el espacio periplásmico o secretarse directamente al medio. Si el anticuerpo se produce intracelularmente, las células pueden romperse para liberar proteína como una primera etapa. Los residuos particulados, o bien células huésped o bien fragmentos sometidos a lisis, pueden retirarse, por ejemplo, mediante centrifugación o ultrafiltración. Carter *et al*., 1992, Bio/Technology 10: 163-167 describen un procedimiento para aislar anticuerpos que se secretan en el espacio periplásmico de *E. coli*. En resumen, se descongela pasta celular en presencia de acetato de sodio (pH 3,5), EDTA, y fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) a lo largo de aproximadamente 30 minutos. Los residuos celulares pueden retirarse mediante centrifugación. Cuando el anticuerpo se secreta al medio en primer lugar se concentran generalmente sobrenadantes de tales sistemas de expresión utilizando un filtro de concentración de proteínas disponible comercialmente, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración Amicon o Pellicon de Millipore. Puede incluirse un inhibidor de proteasas tal como PMSF en cualquiera de las etapas anteriores para inhibir la proteólisis y pueden incluirse antibióticos para prevenir el crecimiento de contaminantes adventicios. Puede usarse una variedad de métodos para aislar el anticuerpo de la célula huésped.

La composición de anticuerpo preparado a partir de las células puede purificarse usando, por ejemplo, cromatografía de hidroxiapatita, electroforesis en gel, diálisis y cromatografía de afinidad, siendo la cromatografía de afinidad una técnica de purificación típica. La idoneidad de proteína A como ligando de afinidad depende de la especie y el isotipo de cualquier dominio Fc de inmunoglobulina que esté presente en el anticuerpo. Puede usarse proteína A para purificar anticuerpos que se basan en cadenas pesadas de gamma1, gamma2 o gamma4 humanas (véase, por ejemplo, Lindmark *et al*., 1983 J. Immunol. Met. 62: 1-13). Se recomienda proteína G para todos los isotipos de ratón y para gamma3 humana (véase, por ejemplo, Guss *et al*., 1986 EMBO J. 5: 1567-1575). Una matriz a la que se une

un ligando de afinidad es lo más frecuentemente agarosa, pero hay otras matrices disponibles. Matrices mecánicamente estables tales como vidrio de poro controlado o poli(estirenodivinil)benceno permiten velocidades de flujo más rápidas y tiempos de procesamiento más cortos que los que pueden lograrse con agarosa. Cuando el anticuerpo comprende un dominio C_{H3}, la resina Bakerbond ABX™ (J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.) es útil para la purificación. También están disponibles otras técnicas para la purificación de proteínas tales como fraccionamiento en una columna de intercambio iónico, precipitación con etanol, HPLC de fase inversa, cromatografía sobre sílice, cromatografía sobre heparina-SEPHAROSE™, cromatografía sobre una resina de intercambio aniónico o catiónico (tal como una columna de poli(ácido aspártico)), cromatoenfoque, SDS-PAGE y precipitación con sulfato de amonio dependiendo del anticuerpo que va a recuperarse.

Tras cualquier etapa de purificación preliminar, la mezcla que comprende el anticuerpo de interés y contaminantes puede someterse a cromatografía de interacción hidrófoba a pH bajo usando un tampón de elución a un pH de entre aproximadamente 2,5-4,5, realizada normalmente a bajas concentraciones de sal (por ejemplo, sal desde aproximadamente 0-0,25 M).

También se incluyen ácidos nucleicos que se hibridan en condiciones de rigurosidad baja, moderada y alta, tal como se define en el presente documento, con la totalidad o una parte (por ejemplo, la parte que codifica para la región variable) de la secuencia de nucleótidos representada por secuencia(s) de polinucleótido aislada(s) que codifica(n) para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de la presente invención. La parte de hibridación del ácido nucleico de hibridación tiene normalmente al menos 15 (por ejemplo, 20, 25, 30 o 50) nucleótidos de longitud. La parte de hibridación del ácido nucleico de hibridación es idéntica en al menos el 80%, por ejemplo, al menos el 90%, al menos el 95% o al menos el 98%, a la secuencia de una parte o la totalidad de un ácido nucleico que codifica para un polipéptido anti-IL-23p19 (por ejemplo, una región variable de cadena pesada o cadena ligera), o su complemento. Los ácidos nucleicos de hibridación del tipo descrito en el presente documento pueden usarse, por ejemplo, como sonda de clonación, un cebador, por ejemplo, un cebador de PCR o sonda de diagnóstico.

Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 84, 86, 88, 90, 91, 93, 95, 97; 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117 o 119, y que son idénticas en al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% a las secuencias de polinucleótido de SEQ ID NO: 83, 85, 87, 89, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116 o 118.

Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 158, 160, 162 o 164, y que son idénticas en al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% a las secuencias de polinucleótido de SEQ ID NO: 157, 159, 161 o 163.

Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 121, 123, 125, 127, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154 o 156, y que son idénticas en al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% a las secuencias de polinucleótido de SEQ ID NO: 120, 122, 124, 126, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153 o 155.

Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 166, 168, 170 o 172, y que son idénticas en al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% a las secuencias de polinucleótido de SEQ ID NO: 165, 167, 169 o 171.

Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera que es idéntica en al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 84, 86, 88, 90, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117 o 119. Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera que es idéntica en al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 158; 160, 162 o 164. Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada que es idéntica en al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 121, 123, 125, 127, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154 o 156. Algunas realizaciones incluyen polinucleótidos aislados que incluyen secuencias que codifican para un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada que es idéntica en al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 98% o al menos el 99% a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 166, 168, 170 o 172. Tal como se usa en el presente documento, los términos “idéntico” o “identidad en porcentaje”, en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias de polipéptido, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o que tienen un

porcentaje especificado de nucleótidos o residuos de aminoácido que son iguales, cuando se comparan y alinean para obtener una correspondencia máxima. Para determinar la identidad en porcentaje, las secuencias se alinean con fines de comparación óptima (por ejemplo, pueden introducirse huecos en la secuencia de una primera secuencia de aminoácidos o ácido nucleico para alineación óptima con una segunda secuencia de aminoácidos o de ácido nucleico). Entonces se comparan los residuos de aminoácido o nucleótidos en posiciones de aminoácido o posiciones de nucleótido correspondientes. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido o nucleótido que la posición correspondiente en la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. La identidad en porcentaje entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias (es decir, identidad en % = nº de posiciones idénticas / nº total de posiciones (por ejemplo, posiciones solapantes) x 100). En algunas realizaciones las dos secuencias que se comparan tienen la misma longitud tras introducirse huecos dentro de las secuencias, según sea apropiado (por ejemplo, excluyendo la secuencia adicional que se extiende más allá de las secuencias que están comparándose). Por ejemplo, cuando se comparan secuencias de región variable, no se consideran las secuencias líder y/o de dominio constante. Para comparaciones de secuencias entre dos secuencias, una CDR "correspondiente" se refiere a una CDR en la misma ubicación en ambas secuencias (por ejemplo, CDR-H1 de cada secuencia).

La determinación de la identidad en porcentaje o similitud en porcentaje entre dos secuencias puede lograrse usando un algoritmo matemático. Un ejemplo preferido, no limitativo, de un algoritmo matemático usado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin y Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264-2268, modificado según Karlin y Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873-5877. Un algoritmo de este tipo se incorpora en los programas NBLAST y XBLAST de Altschul *et al.*, 1990, J. Mol. Biol. 215: 403-410. Pueden realizarse búsquedas de nucleótidos de BLAST con el programa NBLAST, puntuación = 100, longitud de palabra = 12, para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a un ácido nucleico que codifica para una proteína de interés. Pueden realizarse búsquedas de proteínas de BLAST con el programa XBLAST, puntuación = 50, longitud de palabra = 3, para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a una proteína de interés. Para obtener alineaciones con huecos para fines de comparación, puede usarse Gapped BLAST tal como se describe en Altschul *et al.*, (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402. Alternativamente, puede usarse PSI-Blast para realizar una búsqueda con iteraciones que detecta relaciones distantes entre moléculas (citado anteriormente). Cuando se usan los programas BLAST, Gapped BLAST y PSI-Blast, pueden usarse los parámetros por defecto de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST). Otro ejemplo preferido, no limitativo, de un algoritmo matemático usado para la comparación de secuencias es el algoritmo de Myers y Miller, CABIOS (1989). Un algoritmo de este tipo se incorpora en el programa ALIGN (versión 2.0) que es parte del paquete de software de alineación de secuencias GCG. Cuando se usa el programa ALIGN para comparar secuencias de aminoácidos, puede usarse una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización por longitud de hueco de 12 y una penalización por hueco de 4. En la técnica se conocen algoritmos adicionales para análisis de secuencias e incluyen ADVANCE y ADAM tal como se describe en Torellis y Robotti, 1994, Comput. Appl. Biosci. 10: 3-5; y FASTA descrito en Pearson y Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 2444-8. Dentro de FASTA, ktup es una opción de control que establece la sensibilidad y velocidad de la búsqueda. Si ktup = 2, se encuentran regiones similares en las dos secuencias que están comparándose buscando pares de residuos alineados; si ktup = 1, se examinan aminoácidos alineados individuales. ktup puede establecerse a 2 o 1 para secuencias de proteínas, o a desde 1 hasta 6 para secuencias de ADN. El valor por defecto si no se especifica ktup es de 2 para proteínas y 6 para ADN. Alternativamente, puede llevarse a cabo la alineación de secuencias de proteínas usando el algoritmo CLUSTAL W, tal como se describe por Higgins *et al.*, 1996, Methods Enzymol. 266: 383-402.

Usos no terapéuticos

Los anticuerpos descritos en el presente documento son útiles como agentes de purificación por afinidad. En este procedimiento se inmovilizan los anticuerpos sobre una fase sólida tal como una resina de proteína A, usando métodos bien conocidos en la técnica. Se pone el anticuerpo inmovilizado en contacto con una muestra que contiene la proteína IL-23p19 (o fragmento de la misma) que va a purificarse, y posteriormente se lava el soporte con un disolvente adecuado que eliminará sustancialmente todo el material en la muestra excepto por la proteína IL-2319, que se une al anticuerpo inmovilizado. Finalmente, se lava el soporte con otro disolvente adecuado que liberará la proteína IL-23p19 del anticuerpo.

Los anticuerpos anti-IL-23p19, por ejemplo anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados, también son útiles en ensayos de diagnóstico para detectar y/o cuantificar proteína IL-23, por ejemplo, detectar la expresión de IL-23 en células, tejido o suero específicos. Los anticuerpos anti-IL-23p19 pueden usarse a modo de diagnóstico, por ejemplo, para monitorizar el desarrollo o la progresión de una enfermedad como parte de un procedimiento de pruebas clínicas, por ejemplo, para determinar la eficacia de un régimen de tratamiento y/o prevención dado. La detección puede facilitarse mediante acoplamiento del anticuerpo anti-IL-23p19. Ejemplos de sustancias detectables incluyen diversas enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, materiales radiactivos, metales emisores de positrones usando diversas tomografías por emisión de positrones, e iones de metales paramagnéticos no radiactivos. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense nº 4.741.900 para iones de metal que pueden conjugarse con anticuerpos para su uso como diagnóstico según la presente invención.

Los anticuerpos anti-IL-23p19 pueden usarse en métodos para diagnosticar un trastorno asociado con IL-23 (por ejemplo, un trastorno caracterizado por expresión anómala de 1L-23) o para determinar si un sujeto tiene un riesgo aumentado de desarrollar un trastorno asociado con IL-23. Tales métodos incluyen poner en contacto una muestra biológica de un sujeto con un anticuerpo frente a IL-23p19 y detectar la unión del anticuerpo a IL-23p19. Por "muestra biológica" quiere decirse cualquier muestra biológica obtenida de un individuo, línea celular, cultivo tisular u otra fuente de células que expresan posiblemente IL-23. En la técnica se conocen bien métodos para obtener biopsias de tejido y líquidos corporales de mamíferos.

En algunas realizaciones el método puede comprender además comparar el nivel de IL-23 en una muestra de paciente con una muestra de control (por ejemplo, un sujeto que no tiene un trastorno asociado con IL-23) para determinar si el paciente tiene un trastorno asociado con IL-23 o corre el riesgo de desarrollar un asociado con IL-23.

En algunas realizaciones resultará ventajoso, por ejemplo, con fines de diagnóstico, marcar el anticuerpo con un resto detectable. Hay numerosos marcadores detectables disponibles, incluyendo radioisótopos, marcadores fluorescentes, marcadores de sustrato enzimático y similares. El marcador puede conjugarse indirectamente con el anticuerpo usando diversas técnicas conocidas.

Por ejemplo, el anticuerpo puede conjugarse con biotina y cualquiera de las tres categorías amplias de marcadores mencionadas anteriormente puede conjugarse con avidina, o viceversa. La biotina se une selectivamente a avidina y, por tanto, el marcador puede conjugarse con el anticuerpo de esta manera indirecta. Alternativamente, para lograr la conjugación indirecta del marcador con el anticuerpo, el anticuerpo puede conjugarse con un hapteno pequeño (tal como digoxina) y uno de los diferentes tipos de marcadores mencionados anteriormente se conjuga con un anticuerpo anti-hapteno (por ejemplo, anticuerpo anti-digoxina). Por tanto, puede lograrse la conjugación indirecta del marcador con el anticuerpo.

Los marcadores radioisótopos a modo de ejemplo incluyen ^{35}S, ^{14}C, ^{125}I, ^{3}H e ^{131}I. El anticuerpo puede marcarse con el radioisótopo usando las técnicas descritas, por ejemplo, en Current Protocols in Immunology, volúmenes 1 y 2, 1991, Coligen *et al.*, Ed. Wiley-Interscience, New York, N.Y., Pubs. Puede medirse la radiactividad, por ejemplo, mediante recuento de centelleo.

Marcadores fluorescentes a modo de ejemplo que están disponibles incluyen marcadores derivados de quelatos de tierras raras (quelatos de europio) o fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, dansilo, Lissamine, ficoeritrina, y rojo de Texas. Los marcadores fluorescentes pueden conjugarse con el anticuerpo por medio de técnicas conocidas, tales como las divulgadas, por ejemplo, en Current Protocols in Immunology. Puede cuantificarse la fluorescencia usando un fluorímetro.

En la técnica se conocen diversos marcadores de sustratos enzimáticos bien caracterizados (véase, por ejemplo, la patente estadounidense nº 4.275.149 para revisión). Generalmente la enzima cataliza una alteración química del sustrato cromogénico que puede medirse usando diversas técnicas. Por ejemplo, la alteración puede ser un cambio de color en un sustrato que puede medirse de manera espectrofotométrica. Alternativamente, la enzima puede alterar la fluorescencia o quimioluminiscencia del sustrato. Anteriormente se describieron técnicas para cuantificar un cambio en la fluorescencia. El sustrato quimioluminiscente se excita electrónicamente mediante una reacción química y entonces puede emitir luz que puede medirse, usando un quimioluminómetro, por ejemplo, o dona energía a un aceptor fluorescente.

Ejemplos de marcadores enzimáticos incluyen luciferasas tales como luciferasa de luciérnaga y luciferasa bacteriana (patente estadounidense nº 4.737.456), luciferina, 2,3-dihidroftalazindionas, malato deshidrogenasa, ureasa, peroxidasa tal como peroxidasa del rábano (HRPO), fosfatasa alcalina, β-galactosidasa, glucoamilasa, lisozima, sacárido oxidasas (tales como glucosa oxidasa, galactosa oxidasa, y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa), oxidasas heterocíclicas (tales como uricasa y xantina oxidasa), lactoperoxidasa, microperoxidasa, y similares. Se describen técnicas para conjugar enzimas a anticuerpos, por ejemplo, en O'Sullivan *et al.*, 1981, Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay, en Methods in Enzym. (J. Langone & H. Van Vunakis, eds.), Academic press, N.Y., 73: 147-166.

Ejemplos de combinaciones de enzima-sustrato incluyen, por ejemplo: peroxidasa del rábano (HRPO) con hidrógeno peroxidasa como sustrato, en la que la hidrógeno peroxidasa oxida un precursor colorante tal como ortofenilen-diamina (OPD) o clorhidrato de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB); fosfatasa alcalina (AP) con fosfato de para-nitrofenilo como sustrato cromogénico; y β-D-galactosidasa (β-D-Gal) con un sustrato cromogénico tal como p-nitrofenil-β-D-galactosidasa o sustrato fluorogénico 4-metilumbeliferil-β-D-galactosidasa.

Están disponibles otras combinaciones numerosas de enzima-sustrato están disponibles para los expertos en la técnica. Para una revisión general de las mismas, véase la patente estadounidense nº 4.275.149 y la patente estadounidense nº 4.318.980.

En otra realización se usa el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado sin marcar y se detecta con un anticuerpo

marcado que se une al anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado.

Los anticuerpos descritos en el presente documento pueden emplearse en cualquier método de ensayo conocido, tal como ensayos de unión de competencia, ensayos de tipo sándwich directos e indirectos y ensayos de inmunoprecipitación. Véase, por ejemplo, Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, págs. 147-158 (CRC Press, Inc. 1987).

El anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo puede usarse para inhibir la unión de IL-23 al receptor de IL-23. Tales métodos comprenden administrar un anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno del mismo a una célula (por ejemplo, una célula de mamífero) o entorno celular, mediante lo cual se inhibe la señalización mediada por el receptor de IL-23. Estos métodos pueden realizarse *in vitro* o *in vivo*. Por "entorno celular" quiere decirse el tejido, medio o matriz extracelular que rodea a una célula. El anticuerpo anti-IL-23p19 o fragmento de unión a antígeno se administra al entorno celular de una célula de tal manera que el anticuerpo o fragmento es capaz de unirse a moléculas de IL-23 fuera de, y que rodean a, la célula, previniendo por tanto la unión de IL-23 a su receptor.

Kits de diagnóstico

Puede usarse un anticuerpo anti-IL-23p19 en un kit de diagnóstico, es decir, una combinación envasada de reactivos en cantidades predeterminadas con instrucciones para realizar el ensayo de diagnóstico. Cuando el anticuerpo está marcado con una enzima, el kit puede incluir sustratos y cofactores requeridos por la enzima tales como un precursor de sustrato que proporciona el cromóforo o fluoróforo detectable. Además, pueden incluirse otros aditivos tales como estabilizadores, tampones (por ejemplo un tampón de bloqueo o tampón de lisis) y similares. Las cantidades relativas de los diversos reactivos pueden variarse ampliamente para proporcionar concentraciones en disolución de los reactivos que optimizan sustancialmente la sensibilidad del ensayo. Los reactivos pueden proporcionarse como polvos secos, habitualmente liofilizados, incluyendo excipientes que, en disolución, proporcionarán una disolución de reactivo que tiene la concentración apropiada.

Usos terapéuticos

En otra realización, un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado divulgado en el presente documento es útil en el tratamiento de diversos trastornos asociados con la expresión de IL-23p19 tal como se describe en el presente documento. Métodos para tratar un trastorno asociado con IL-23 comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado a un sujeto que lo necesita.

El agente o anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado se administra mediante cualquier medio adecuado, incluyendo por vía parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar e intranasal, y, si se desea para tratamiento inmunosupresor local, administración intralesional (incluyendo perfusión o contacto de otro modo del injerto con el anticuerpo antes del trasplante). El agente o anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado puede administrarse, por ejemplo, como infusión o como bolo. Las infusiones parenterales incluyen administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. Además, el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado se administra de manera adecuada mediante infusión pulsada, particularmente con dosis decrecientes del anticuerpo. En un aspecto, la dosificación se administra mediante inyecciones, lo más preferiblemente inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica.

Para la prevención o el tratamiento de una enfermedad, la dosificación apropiada de anticuerpo dependerá de una variedad de factores tales como el tipo de enfermedad que va a tratarse, tal como se definió anteriormente, la intensidad y el transcurso de la enfermedad, si el anticuerpo se administra para fines preventivos o terapéuticos, terapia anterior, la historia clínica del paciente y respuesta al anticuerpo, y el criterio del médico encargado. El anticuerpo se administra de manera adecuada al paciente en una vez o a lo largo de una serie de tratamientos.

Dependiendo del tipo y la intensidad de la enfermedad, aproximadamente de 1 μg/kg a 20 mg/kg (por ejemplo, 0,1-15 mg/kg) de anticuerpo es una dosificación candidata inicial para la administración al paciente, ya sea, por ejemplo, mediante una o más administraciones separadas o mediante infusión continua. Una dosificación diaria típica puede oscilar entre aproximadamente 1 μg/kg y 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. Para administraciones repetidas a lo largo de varios días o más, dependiendo del estado, el tratamiento se sostiene hasta que se produce una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, otros regímenes de dosificación pueden ser útiles. El progreso de esta terapia se monitoriza fácilmente mediante ensayos y técnicas convencionales. Un régimen de dosificación a modo de ejemplo es el divulgado en el documento WO 94/04188.

El término "supresión" se usa en el presente documento en el mismo contexto que "mejora" y "alivio" para significar una reducción de una o más características de la enfermedad.

La composición de anticuerpo se formulará, dosificará y administrará de un modo compatible con la buena práctica médica. Los factores que deben considerarse en este contexto incluyen el trastorno particular que está tratándose, el

mamífero particular que está tratándose, el estado clínico del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el método de administración, el calendario de administración, y otros factores conocidos por los médicos. La “cantidad terapéuticamente eficaz” del anticuerpo que va a administrarse estará regida por tales consideraciones, y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar el trastorno asociado con la expresión de IL-23.

No es necesario, pero sí opcional, que el anticuerpo se formule con uno o más agentes actualmente usados para prevenir o tratar el trastorno en cuestión. La cantidad eficaz de tales otros agentes depende de la cantidad de anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado presente en la formulación, el tipo de trastorno o tratamiento, y otros factores comentados anteriormente. Generalmente se usan en las mismas dosificaciones y con vías de administración tal como las usadas anteriormente en el presente documento o aproximadamente a desde el 1 hasta el 99% de las dosificaciones empleadas hasta ahora.

Trastornos asociados con IL-23

Los agentes o anticuerpos anti-IL-23p19 son útiles para tratar o prevenir un trastorno inmunológico caracterizado por la expresión anómala de IL-23, por ejemplo, mediante activación inapropiada de células inmunitarias (por ejemplo, linfocitos o células dendríticas). Tal expresión anómala de IL-23 puede deberse, por ejemplo, a niveles aumentados de proteína IL-23. Los anticuerpos anti-IL-23p19 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos también encuentran uso en el tratamiento o la prevención de trastornos respiratorios, trastornos metabólicos, por ejemplo diabetes mellitus, y determinados cánceres. El tratamiento o la prevención del trastorno inmunológico, trastorno respiratorio, trastorno metabólico o cáncer, según los métodos descritos en el presente documento, se logra administrando a un sujeto que necesita tal tratamiento o prevención una cantidad eficaz del agente o anticuerpo anti-IL-23p19, mediante lo cual el anticuerpo reduce la actividad de IL-23 asociada con el estado patológico.

Las enfermedades inmunológicas que se caracterizan por una activación inapropiada de células inmunitarias y que pueden tratarse o prevenirse mediante los métodos descritos en el presente documento pueden clasificarse, por ejemplo, mediante el/los tipo(s) de reacción/reacciones de hipersensibilidad subyacentes al trastorno. Estas reacciones se clasifican normalmente en cuatro tipos: reacciones anafilácticas, reacciones citotóxicas (citolíticas), reacciones de complejo inmunitario o reacciones de inmunidad mediada por células (CMI) (también denominadas reacciones de hipersensibilidad de tipo retrasado (DTH)). (Véase, por ejemplo, Fundamental Immunology (William E. Paul ed., Raven Press, N.Y., 3ª ed. 1993)). Las enfermedades inmunológicas incluyen enfermedades inflamatorias y enfermedades autoinmunitarias.

Ejemplos específicos de tales enfermedades inmunológicas incluyen las siguientes: artritis reumatoide, enfermedades desmielinizantes autoinmunitarias (por ejemplo, esclerosis múltiple, encefalomielitis alérgica), oftalmopatía endocrina, uveoretinitis, lupus eritematoso sistémico, miastenia grave, enfermedad de Grave, glomerulonefritis, trastorno hepatológico autoinmunitario, enfermedad inflamatoria del intestino (por ejemplo, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa), anafilaxia, reacción alérgica, síndrome de Sjogren, diabetes mellitus tipo I, cirrosis biliar primaria, granulomatosis de Wegener, fibromialgia, polimiositis, dermatomiositis, miositis inflamatoria, insuficiencia endocrina múltiple, síndrome de Schmidt, uveitis autoinmunitaria, enfermedad de Addison, adrenalitis, tiroiditis, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad tiroidea autoinmunitaria, anemia perniciosa, atrofia gástrica, hepatitis crónica, hepatitis lupoide, aterosclerosis, lupus eritematosos cutáneo subagudo, hipoparatiroidismo, síndrome de Dressler, trombocitopenia autoinmunitaria, púrpura trombocitopénica idiopática, anemia hemolítica, pénfigo vulgar, pénfigo, dermatitis herpetiforme, alopecia areata, penfigoide, esclerodermia, esclerosis sistémica progresiva, síndrome de CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, disfunción esofágica, esclerodactilia y telangiectasia), esterilidad autoinmunitaria masculina y femenina, espondilitis anquilosante, colitis ulcerosa, enfermedad de tejido conjuntivo mixta, poliarteritis nudosa, vasculitis necrotizante sistémica, dermatitis atópica, rinitis atópica, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Chagas, sarcoidosis, fiebre reumática, asma, aborto recurrente, síndrome antifosfolípidos, pulmón del granjero, eritema multiforme, síndrome tras cardiotomía, síndrome de Cushing, hepatitis activa crónica autoinmunitaria, pulmón del criador de pájaros, necrolisis epidérmica tóxica, síndrome de Alport, alveolitis, alveolitis alérgica, alveolitis fibrosante, enfermedad pulmonar intersticial, eritema nudoso, pioderma gangrenoso, reacción de transfusión, arteritis de Takayasu, polimialgia reumática, arteritis temporal, esquistosomiasis, arteritis de células gigantes, ascariasis, aspergilosis, síndrome de Sampter, eczema, granulomatosis linfomatoide, enfermedad de Behcet, síndrome de Caplan, enfermedad de Kawasaki, dengue, encefalomielitis, endocarditis, fibrosis endomiocárdica, endoftalmitis, eritema elevado diutinum, psoriasis, artritis psoriásica, eritroblastosis fetal, fascitis eosinofílica, síndrome de Shulman, síndrome de Felty, filariasis, ciclitis, ciclitis crónica, ciclitis heterocrómica, ciclitis de Fuch, nefropatía de IgA, púrpura de Henoch-Schonlein, enfermedad de injerto contra huésped, rechazo de trasplante, cardiomiopatía, síndrome de Eaton-Lambert, policondritis recidivante, crioglobulinemia, macroglobulemia de Waldenstrom, síndrome de Evan, síndrome de dificultad respiratoria aguda, inflamación pulmonar, osteoporosis, hipersensibilidad de tipo retrasado e insuficiencia gonadal autoinmunitaria.

En algunas realizaciones el trastorno inmunológico es un trastorno inmunológico mediado por células T y, por consiguiente, los agentes y anticuerpos anti-IL-23p19 tal como se describen en el presente documento también son útiles para tratar o prevenir trastornos inmunológicos mediados por células T.

En un aspecto, los agentes o anticuerpos anti-IL-23p19 son útiles para tratar o prevenir un trastorno respiratorio en el que IL-23 se expresa de manera anómala. El tratamiento o la prevención del trastorno respiratorio, según los métodos descritos en el presente documento, se logra administrando a un sujeto que necesita tal tratamiento o prevención una cantidad eficaz del agente o anticuerpo anti-IL-23p19, mediante lo cual el anticuerpo reduce la actividad de IL-23 asociada con el estado patológico. Estos incluyen, pero no se limitan a: afecciones respiratorias, enfermedades pulmonares obstructivas de diversos orígenes, enfisema pulmonar de diversos orígenes, enfermedades pulmonares restrictivas, enfermedades pulmonares intersticiales, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis quística, bronquitis de diversos orígenes, bronquiectasia, SDRA (síndrome de dificultad respiratoria del adulto) y todas las formas de edema pulmonar; enfermedades pulmonares obstructivas seleccionadas de EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica), asma, asma bronquial, asma pediátrico, asma intenso, ataques de asma agudos y bronquitis crónica; enfisema pulmonar que tiene como origen EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) o deficiencia de inhibidor de α1-proteinasa; enfermedades pulmonares restrictivas seleccionadas de alveolitis alérgica, enfermedades pulmonares restrictivas provocadas por sustancias nocivas relacionadas con el trabajo, tales como asbestosis o silicosis, y restricción provocada por tumores de pulmón, tales como linfangitis carcinomatosa, linfomas y carcinoma bronquioalveolar; neumonía provocada por infecciones, tales como por ejemplo, infección por virus, bacterias, hongos, protozoos, helmintos u otros patógenos, neumonitis provocada, por diversos factores, tales como por ejemplo aspiración e insuficiencia cardiaca izquierda, neumonitis o fibrosis inducida por radiación, colagenosis, tales como, por ejemplo, lupus eritematoso, sarcoidosis o esclerodermia sistémica, granulomatosis, tales como, por ejemplo, enfermedad de Boeck, neumonía intersticial idiopática o fibrosis pulmonar idiopática (FPI); mucoviscidosis, bronquitis provocada por infección bacteriana o viral, bronquitis alérgica y bronquitis tóxica; bronquiectasia; edema pulmonar, por ejemplo, edema pulmonar tóxico tras aspiración o inhalación de sustancias tóxicas y sustancias foráneas; rinitis, artritis y artropatías relacionadas, psoriasis, leucemia mieloide, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, glomerulonefritis y dermatitis atópica crónica.

En otro aspecto, los agentes y anticuerpos anti-IL-23p19 tal como se describen en el presente documento también son útiles para tratar cánceres en los que IL-23 se expresa de manera anómala.

Los cánceres que expresan IL-23 que pueden tratarse mediante los métodos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, leucemia, tal como leucemia aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielocítica aguda (por ejemplo, leucemia mieloblástica, promielocítica, mielomonocitica, monocítica o eritroleucemia), leucemia crónica, leucemia mielocítica crónica (granulocítica), o leucemia linfocítica crónica; policitemia vera; linfoma (por ejemplo, enfermedad de Hodgkin o enfermedad no Hodgkin); mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenstrom; enfermedad de las cadenas pesadas; tumores sólidos tales como sarcomas y carcinomas (por ejemplo, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, osteosarcoma, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiosarcoma, rabdomiosarcoma, carcinoma de colon, carcinoma colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovarios, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de glándula sudorípara, carcinoma de glándula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistoadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma de conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrional, tumor de Wilms, cáncer de cuello uterino, cáncer uterino, tumor de testículos, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, menangioma, melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, carcinoma nasofaríngeo o carcinoma de esófago).

Composiciones farmacéuticas y administración de las mismas

Una composición que comprende un agente de unión a IL-23p19 (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-23p19) puede administrarse a un sujeto que tiene o corre el riesgo de tener un trastorno inmunológico, trastorno respiratorio o un cáncer. La divulgación proporciona además el uso de un agente de unión a IL-23p19 (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-23p19) en la fabricación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de un cáncer, trastorno respiratorio o trastorno inmunológico. El término “sujeto” tal como se usa en el presente documento significa cualquier paciente mamífero al que puede administrarse un agente de unión a IL-23p19, incluyendo, por ejemplo, humanos y mamíferos no humanos, tales como primates, roedores y perros. Los sujetos específicamente previstos para el tratamiento usando los métodos descritos en el presente documento incluyen humanos. Los anticuerpos o agentes pueden administrarse o bien solos o bien en combinación con otras composiciones en la prevención o el tratamiento del trastorno inmunológico, trastorno respiratorio o cáncer. Tales composiciones que pueden administrarse en combinación con los anticuerpos o agentes incluyen metotrexato (MTX) e inmunomoduladores, por ejemplo anticuerpos o moléculas pequeñas.

Ejemplos de anticuerpos para su uso en tales composiciones farmacéuticas son aquellos que comprenden un anticuerpo humanizado o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de cualquiera de SEQ ID NO: 84, 86, 88, 90, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117 o 119. Ejemplos de anticuerpos para su uso en tales composiciones farmacéuticas también son aquellos que comprenden un anticuerpo humanizado o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de

región variable de cadena pesada de cualquiera de SEQ ID NO: 121, 123, 125, 127, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154 o 156.

Ejemplos adicionales de anticuerpos para su uso en tales composiciones farmacéuticas también son aquellos que comprenden un anticuerpo humanizado o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de cualquiera de SEQ ID NO: 158, 160, 162 o 164. Anticuerpos preferidos para su uso en tales composiciones farmacéuticas también son aquellos que comprenden un anticuerpo humanizado o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de cualquiera de SEQ ID NO: 166, 168, 170 o 172.

Ejemplos adicionales de anticuerpos para su uso en tales composiciones farmacéuticas también son aquellos que comprenden un anticuerpo humanizado o fragmento de anticuerpo que tiene la región variable de cadena ligera y región variable de cadena pesada de cualquiera de SEQ ID NO: 160 y 166, SEQ ID NO: 160 y 168, SEQ ID NO: 158 y 166 o SEQ ID NO: 158 y 168.

Ejemplos adicionales de anticuerpos para su uso en tales composiciones farmacéuticas también son aquellos que comprenden un anticuerpo humanizado que tiene la secuencia de aminoácidos de región de cadena ligera de cualquiera de SEQ ID NO: 174 o 180. Anticuerpos preferidos para su uso en tales composiciones farmacéuticas también son aquellos que comprenden anticuerpo humanizado que tiene la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de cualquiera de SEQ ID NO: 176 o 178.

Ejemplos adicionales de anticuerpos para su uso en tales composiciones farmacéuticas también son aquellos que comprenden anticuerpo A, anticuerpo B, anticuerpo C o anticuerpo D.

Se conocen diversos sistemas de administración y pueden usarse para administrar el agente de unión a IL-23p19. Los métodos de introducción incluyen, pero no se limitan a estos, las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. El agente de unión a IL-23p19 puede administrarse, por ejemplo, mediante infusión, bolo o inyección, y puede administrarse junto con otros agentes biológicamente activos tales como agentes quimioterápicos. La administración puede ser sistémica o local. En realizaciones preferidas, la administración es mediante inyección subcutánea. Pueden prepararse formulaciones para tales inyecciones, por ejemplo, en jeringas precargadas que pueden administrarse una vez cada dos semanas.

En realizaciones específicas la composición de agente de unión a IL-23p19 se administra mediante inyección, por medio de un catéter, por medio de un supositorio o por medio de un implante, siendo el implante de un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluyendo una membrana, tal como una membrana de Silastic, o una fibra. Normalmente, cuando se administra la composición, se usan materiales en los que no se absorbe el agente o anticuerpo anti-IL-23p19.

En otras realizaciones el agente o anticuerpo anti-IL-23p19 se administra en un sistema de liberación controlada. En una realización, puede usarse una bomba (véase, por ejemplo, Langer, 1990, Science 249: 1527-1533; Sefton, 1989, CRC Crit. Ref. Biomed. End. 14: 201; Buchwald *et al.*, 1980, Surgery 88: 507; Saudek *et al.*, 1989, N. Engl. J. Med. 321: 574). En otra realización, pueden usarse materiales poliméricos (véase, por ejemplo, Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen and Ball eds., Wiley, Nueva York, 1984); Ranger y Peppas, 1983, Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23: 61. Véase también Levy *et al.*, 1985, Science 228: 190; During *et al.*, 1989, Ann. Neurol. 25: 351; Howard *et al.*, 1989, J. Neurosurg. 71: 105). Se comentan otros sistemas de liberación controlada, por ejemplo, en Langer, citado anteriormente.

Se puede administrar un agente de unión a IL-23p19 (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-23p19) como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz del agente de unión y uno o más componentes farmacéuticamente compatibles.

En realizaciones típicas la composición farmacéutica se formula según procedimientos de rutina como una composición farmacéutica adaptada para administración intravenosa o subcutánea a seres humanos. Normalmente, las composiciones para administración mediante inyección son disoluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Cuando sea necesario, el producto farmacéutico también puede incluir un agente de solubilización y un anestésico local tal como lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Generalmente, los componentes se suministran o bien por separado o bien mezclados juntos en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado libre de agua en un recipiente sellado herméticamente tal como una ampolla o sobre que indican la cantidad de principio activo. Cuando el producto farmacéutico va a administrarse mediante infusión, puede dispensarse con una botella de infusión que contiene solución salina o agua de calidad farmacéutica estéril. Cuando el producto farmacéutico se administra mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de solución salina o agua estéril para inyección de modo que los componentes pueden mezclarse antes de la administración.

Además, la composición farmacéutica puede proporcionarse como kit farmacéutico que comprende (a) un recipiente

que contiene un agente de unión a IL-23p19 (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-23p19) en forma liofilizada y (b) un segundo recipiente que contiene un diluyente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua estéril) para inyección. El diluyente farmacéuticamente aceptable puede usarse para la reconstitución o dilución del agente o anticuerpo anti-IL-23p19 liofilizado. Opcionalmente en asociación con tal(es) recipiente(s) puede haber un prospecto en la forma recomendada por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos o biológicos, prospecto que refleja la aprobación por parte de la agencia de la fabricación, el uso o la venta para administración a humanos.

La cantidad del agente de unión a IL-23p19 (por ejemplo, anticuerpo anti-IL-23p19) que es eficaz en el tratamiento o la prevención de un trastorno inmunológico o cáncer puede determinarse mediante técnicas clínicas convencionales. Además, pueden emplearse opcionalmente ensayos *in vitro* para ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa que va a emplearse en la formulación también dependerá de la vía de administración, y el estadio del trastorno inmunológico o cáncer, y debe decidirse según el criterio del médico y las circunstancias de cada paciente. Pueden extrapolarse dosis eficaces a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba *in vitro* o de modelo animal.

Generalmente, la dosificación de un anticuerpo anti-IL-23p19 o agente de unión a IL-23p19 administrada a un paciente con un trastorno inmunológico o cáncer que expresa IL-23p19 es normalmente de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg del peso corporal del sujeto. La dosificación administrada a un sujeto es de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg, o de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del sujeto.

Las dosis a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a estos, desde 1 ng/kg hasta 100 mg/kg. En algunas realizaciones, una dosis es de aproximadamente 0,5 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 6 mg/kg, aproximadamente 7 mg/kg, aproximadamente 8 mg/kg, aproximadamente 9 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 11 mg/kg, aproximadamente 12 mg/kg, aproximadamente 13 mg/kg, aproximadamente 14 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg o aproximadamente 16 mg/kg. La dosis puede administrarse, por ejemplo, diariamente, una vez por semana (semanalmente), dos veces por semana; tres veces por semana, cuatro veces por semana, cinco veces por semana, seis veces por semana, bisemanalmente o mensualmente, cada dos meses, o cada tres meses. En realizaciones específicas, la dosis es de aproximadamente 0,5 mg/kg/semana, aproximadamente 1 mg/kg/semana, aproximadamente 2 mg/kg/semana, aproximadamente 3 mg/kg/semana, aproximadamente 4 mg/kg/semana, aproximadamente 5 mg/kg/semana, aproximadamente 6 mg/kg/semana, aproximadamente 7 mg/kg/semana, aproximadamente 8 mg/kg/semana, aproximadamente 9 mg/kg/semana, aproximadamente 10 mg/kg/semana, aproximadamente 11 mg/kg/semana, aproximadamente 12 mg/kg/semana, aproximadamente 13 mg/kg/semana, aproximadamente 14 mg/kg/semana, aproximadamente 15 mg/kg/semana o aproximadamente 16 mg/kg/semana. En algunas realizaciones, la dosis oscila entre aproximadamente 1 mg/kg/semana y aproximadamente 15 mg/kg/semana.

En algunas realizaciones las composiciones farmacéuticas que comprenden el agente de unión a IL-23p19 pueden comprender además un agente terapéutico, o bien conjugado o bien no conjugado al agente de unión. El anticuerpo anti-IL-23p19 o agente de unión a IL-23p19 puede coadministrarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento o la prevención de trastornos inmunológicos o cánceres.

Tal administración como terapia de combinación puede tener un efecto aditivo o sinérgico sobre parámetros de la enfermedad (por ejemplo, intensidad de un síntoma, el número de síntomas o la frecuencia de recidiva).

Con respecto a los regímenes terapéuticos para administración en combinación, en una realización específica, un anticuerpo anti-IL- 23p19 o agente de unión a IL-23p19 se administra simultáneamente con un agente terapéutico. En otra realización específica, el agente terapéutico se administra antes o después de la administración del anticuerpo anti-IL-23p19 o agente de unión a IL-23p19, en al menos una hora y hasta varios meses, por ejemplo, al menos una hora, cinco horas, 12 horas, un día, una semana, un mes o tres meses, antes o después de la administración del anticuerpo anti-IL-23p19 o agente de unión a IL-23p19.

Artículos de fabricación

En otro aspecto, se incluye un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento de los trastornos descritos anteriormente. El artículo de fabricación comprende un recipiente y una etiqueta. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas y tubos de ensayo. Los recipientes pueden formarse de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente contiene una composición que es eficaz para tratar el estado y puede tener un orificio de acceso estéril. Por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de disolución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica. El agente activo en la composición es el anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado. La etiqueta en o asociada con el recipiente indica que la composición se usa para tratar el estado de elección. El artículo de fabricación puede

comprender además un segundo recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y disolución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringas y prospectos con instrucciones de uso.

La invención se describe además en los siguientes ejemplos, que no se pretende que limiten el alcance de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1: Producción de anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados

Se convirtió el anticuerpo de ratón líder 6B8 en un anticuerpo quimérico que consistía en el dominio variable de ratón de 6B8 y un dominio constante de IgG1KO humano. El anticuerpo de ratón 6B8 se muestra en las tablas 1 y 2 anteriormente en el presente documento. El IgG1KO (“*knock out*”, desactivado) tiene dos mutaciones de sustitución (Leu234Ala y Leu235Ala) que eliminan la actividad ADCC y CDC reduciendo funciones efectoras tales como unión a complemento y FcγR. Los dominios variables de los anticuerpos de ratón y quiméricos son idénticos. Los anticuerpos quiméricos se generan para confirmar la función del anticuerpo y para garantizar que se ha obtenido la secuencia correcta. Entonces se humaniza la región variable del anticuerpo a través de un proceso de diseño y selección. Se obtuvo una biblioteca en la que se variaron residuos humanos y de ratón de tal manera que en cualquier posición dada podían ser un residuo o bien humano o bien de ratón. Se obtuvo una biblioteca de este tipo para aquellos aminoácidos que eran diferentes entre la línea germinal humana y el anticuerpo de ratón. Sólo se seleccionaron los clones que conservaban la función del anticuerpo de ratón original. Regiones variables humanizadas representativas para el anticuerpo 6B8 se muestran en las tablas 5 y 6.

De esta manera, el anticuerpo A, el anticuerpo B, el anticuerpo C y el anticuerpo D eran anticuerpos humanizados derivados del anticuerpo de ratón 6B8 (clonado en una estructura principal de IgG1-KO (KO=desactivado) humana/kappa. Los anticuerpos A, B, C y D se muestran en la tabla 7.

Ejemplo 2: Unión de anticuerpos a la proteína IL-23 recombinante

A) La cinética y la afinidad de los anticuerpos de ratón anti-IL-23p19 que se unen a IL-23 humana recombinante se muestran a continuación (tabla 9). Se midieron las cinéticas y las afinidades de unión usando la plataforma Octet de Fortebio (Fortebio, Menlo Park, CA) usando material generado a partir de hibridoma tras purificación en columna individual. Puesto que la plataforma Octet no es una tecnología basada en fluidos, este método no proporciona una determinación precisa de la disociación. En algunos casos, sólo puede obtenerse una estimación de la afinidad.

Tabla 9

Anticuerpo	k_a(1/Ms)	k_d(1/s)	K_D(pM)
18C4	3,84E+05	2,14E-06	5,57
18E5	3,29E+05	2,61E-06	7,93
18D3	3,19E+05	2,16E-06	6,78
20 E8	4,21E+05	2,69E-04	638
22 E2	3,46E+05	3,53E-04	1024
24A5	2,02E+05	4,57E-06	22,6
15C11	4,11E+05	1,07E-05	26
43F5	1,72E+05	5,96E-06	34,6
27G8	1,57E+05	4,26E-06	27,2
31H9	2,99E+05	3,45E-06	11,5
2D1		< 1e-6	< 1
9D12		< 1e-6	< 1
6B8		< 1e-6	< 1
73H10	5,29E+04	5,24E-06	99,2
74H3	3,06E+04	2,09E-06	68,3
35H8			
26F7	4,76E+05	1,34E-05	28,1
34G3	9,18E+05	3,10E-05	32,8
34D9	3,44E+03	1,87E-06	544

B) Se midieron las afinidades para anticuerpos humanizados derivados del anticuerpo de ratón 6B8. Los datos de unión cinéticos, medidos usando el sistema ProteON XPR36 (Biorad, Hercules, CA) y ajustados globalmente a un modelo de unión 1:1, demostraron las interacciones con IL-23 recombinante o bien con o bien sin un conector de 21 aminoácidos que se une covalentemente a las subunidades p19 y p40 para ser de alta afinidad, en el intervalo de 1 pM ~ 100 pM (tabla 10). También se sometieron a prueba el anticuerpo 6H12 (divulgado en el documento WO

2007/027714), el anticuerpo QF20 (divulgado en el documento WO 2007/024846) y el anticuerpo C1273 (divulgado en el documento WO 2007/005955).

Tabla 10

Anticuerpo	IL-23 humana con conector			IL-23 humana sin conector		
	k_a(1/Ms)	k_d(1/s)	K_D(pM)	k_a(1/Ms)	k_d(1/s)	K_D(pM)
Ratón 6B8				5,57E+05	1,38E-05	24,5
Anticuerpo A	6,27E+05	< 1e-6	< 1	5,51E+05	< 1e-6	< 1
Anticuerpo B	3,56E+05	< 1e-6	< 1	5,17E+05	< 1e-6	< 1
Anticuerpo C	3,74E+05	1,19E-05	31,8	4,54E+05	1,65E-05	36,3
Anticuerpo D	3,82E+05	4,07E-05	107	3,66E+05	4,93E-05	135
C-1273				3,60E+05	5,75E-06	15,8
6H12				4,99E+05	1,07E-04	214
QF20				2,03E+05	5,89E-06	2,91

C) Se midieron los datos cinéticos y de afinidad para los anticuerpos anti-IL-23p19 que se unen a IL-23 de macaco cangrejero en el sistema ProteON XPR36, y se ajustaron globalmente a un modelo de unión 1:1 (tabla 11). También se sometieron a prueba el anticuerpo 6H12 (divulgado en el documento WO 2007/027714), el anticuerpo QF20 (divulgado en el documento WO 2007/024846) y el anticuerpo C1273 (divulgado en el documento WO 2007/005955).

Tabla 11

Anticuerpo	K_D(pM)	k_a(1/Ms)	k_d(1/s)
Anticuerpo A	<1	2,95E+06	<1e-6
Anticuerpo B	<1	2,99E+06	<1e-6
Anticuerpo C	2,9	3,23E+06	9,36E-06
Anticuerpo D	15,9	2,07E+06	3,29E-05
C-1273	>5,000	n/d	n/d
6H12	157	9,91E+05	1,56E-04
QF20	1,2	3,90E+06	4,78E-06

D) Selectividad molecular con respecto a IL-12 humana

Los anticuerpos anti-IL-23p19 también se inyectaron sobre una superficie de IL-12 humana a una concentración de 100 nM. La señal de unión para estos anticuerpos medida usando la plataforma Octet de Fortebio es cero, lo que indica que estos anticuerpos se unen selectivamente a IL-23 humana. También se analizó la unión de los anticuerpos anti-IL-23p19 a IL-23 en presencia de suero humano al 50% y no se observó efecto significativo del suero sobre la constante de disociación lo que demuestra alta especificidad.

Ejemplo 3: Ensayo de unión de competencia de la unión de IL-23 humana a IL-23R/Fc humano

Se capturó IL-23R-Fc humano en la superficie del biosensor y se inyectaron 10 nM de IL-23 humana. El sensograma indica la unión específica entre IL-23 y el receptor de IL-23 (figura 2, trazo superior). Entonces se coinyectaron los anticuerpos con IL-23 humana 10 nM para evaluar si la unión del anticuerpo a la IL-23 podía inhibir la interacción entre IL-23 y el receptor de IL-23. En este ejemplo, si el anticuerpo se une a IL-23 humana y puede inhibir la interacción, entonces se observará unión reducida o ausencia de la misma (figura 2, trazo inferior). En el ejemplo mostrado, se coinyectó una concentración molar equivalente de anticuerpo A con IL-23 humana recombinante 10 nM

Ejemplo 4: Ensayos de células funcionales, inhibición de la producción de IL-17 a partir de esplenocitos de ratón estimulados con IL-23

Un ensayo de células funcionales para anticuerpos anti-IL-23p19 mide su capacidad para inhibir la producción de IL-17 estimulada por IL-23 a partir de células mononucleares aisladas de bazos de ratón. La proteína IL-23 recombinante humana puede estimular la liberación de IL-17 a partir de esplenocitos de ratón. Además, puede usarse una fuente natural de IL-23 humana encontrada en el sobrenadante de células THP-1 monocíticas humanas activadas para estimular la producción de IL-17 a partir de células mononucleares de ratón.

Se preincubó IL-23 recombinante humana o IL-23 humana natural procedente de células THP-1 activadas con anticuerpos anti-IL-23p19 titulados. Entonces se añadieron las combinaciones de IL-23/anticuerpo a esplenocitos murinos recién aislados. Se usó la IL-23 recombinante sola como control positivo. Tras dos días en cultivo, se recogieron los sobrenadantes celulares y se sometieron a ensayo para determinar IL-17 mediante ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN). Los valores de CI_{50} representativos para los anticuerpos anti-IL-23p19 se muestran a continuación. Los anticuerpos sometidos a prueba son anticuerpos de ratón derivados de hibridomas (filas 1-19,

véanse las tablas 1 y 2), anticuerpos quiméricos (filas 20-23) y los anticuerpos A a D. También se sometieron a prueba el anticuerpo 6H12 (divulgado en el documento WO 2007/027714), el anticuerpo QF20 (divulgado en el documento WO 2007/024846) y el anticuerpo C1273 (divulgado en el documento WO 2007/005955).

Tabla 12

Anticuerpo	Valores de CI_{50} (pM), IL-23 humana recombinante	Valores de CI_{50} (pM), IL-23 humana natural
18C4	471	100, 413
18E5	no determinado	9, 9, 13
18D3	234	no determinado
20E8	no determinado	438, 561
22E2	61, 130	117, 35
24A5	22, 37	85, 31
15C11	126	232
43F5	250, 8000	8000
27G8	235	5000
31H9	960	2000
2D1	no determinado	2336, 1911, 1597
9D12	59	281, 138
6B8	13	8, 2
73H10	1411	no determinado
74H3	1352	no determinado
36H8	no determinado	no determinado
26F7	27	2, 8
34G3	336	27, 25
34D9	510	456
18E5 quimérico	31	8, 36, 10, 9
22E2 quimérico	100	9, 178
24A5 quimérico	404	95, 102
6B8 quimérico	26, 37, 57	5, 2, 6 3
Anticuerpo A	5, 5, 5, 15	1, 1
Anticuerpo B	13, 30, 54, 42	9, 8
Anticuerpo C	53, 71, 162, 89	16, 32
Anticuerpo D	236, 225, 614, 458	133, 125
6H12	1600, 806, 1300	957, 4400, 1013, 439
QF20	no determinado	7, 12
C1273	no determinado	93, 44

Ejemplo 5: Pruebas de especificidad funcional frente a IL-12 en ensayo de células T activadas humanas

Se sometieron a prueba anticuerpos anti-IL-23p19 para determinar la inhibición funcional de IL-12 en un ensayo de células T activadas humanas. Se preincubó IL-12 recombinante humana (1 ng/ml) con anticuerpos anti-IL-23p19 5 μg/ml. Entonces se añadieron combinaciones de IL-12/anticuerpo a linfloblastos T derivados de PHA humanos. Se usó IL-12 recombinante sola como control positivo. Se usó un anticuerpo anti-IL-12p70 (Bender MedSystems, Viena, Austria) como anticuerpo inhibidor de control. Tras dos días en cultivo, se recogieron los sobrenadantes celulares y se sometieron a ensayo para determinar IFN-γ mediante ELISA (R&D Systems). Se sometieron a ensayo las muestras por triplicado y se determinaron los pg/ml de IFN-γ promedio. Los resultados (con desviaciones estándar) se muestran en la tabla a continuación.

Tabla 13

Anticuerpo	Estimulación de citocina	pg/ml de IFN-γ promedio +/- desviación estándar
Sin anticuerpo	Ninguna	87 +/- 7
Sin anticuerpo	IL-12 1 ng/ml	532+/-51
18E5 quimérico	IL-12 1 ng/ml	511 +/- 3
6B8 quimérico	IL-12 1 ng/ml	523+/-60
Anticuerpo A	IL-12 1 ng/ml	497 +/- 30
Anticuerpo B	IL-12 1 ng/ml	537 +/- 2
Anticuerpo C	IL-12 1 ng/ml	495 +/- 25
Anticuerpo D	IL-12 1 ng/ml	539 +/- 38
Anticuerpo anti-IL-12p70	IL-12 1 ng/ml	119 +/- 12

Ejemplo 6: Inhibición de fosforilación de STAT3 inducida por IL-23 en la línea celular humana DB

La línea celular humana DB (ATCC, Manassas, VA) responde a estimulación de IL-23 a través de un complejo IL-23R (IL-23R e IL-12Rβ1) endógeno y fosforila STAT3 de manera dependiente de la dosis IL-23. Se desarrolló un ensayo para someter a prueba la inhibición por el anticuerpo anti-IL-23p19 de la fosforilación de STAT3 inducida por IL-23. Se sembraron en placa células DB a 1x10e6 células/pocillo en una placa de 96 pocillos. Se diluyeron en serie los anticuerpos que iban a someterse a prueba y se preincubaron con IL-23 humana recombinante (10 ng/ml) durante 1 hora a temperatura ambiente. Entonces se añadió la mezcla de anticuerpo/IL-23 a las células durante 30 minutos a 37ºC. Se recogieron las células mediante centrifugación a 4ºC durante 10 minutos y entonces se lisaron en tampón helado (Cell Signaling Technology, Beverly, MA). Una parte del lisado se utilizó en un ELISA de fosfo-STAT3 (Invitrogen). Se calcularon los valores de CI_{50} del anticuerpo como la inhibición en porcentaje de la fosforilación de STAT3 en comparación con los pocillos control sin anticuerpo. Los valores de CI_{50} representativos se muestran en la tabla a continuación.

Tabla 14

Anticuerpo	CI_{50} (pM)
Anticuerpo A	25, 15, 38, 23, 13, 18
Anticuerpo B	73, 84
Anticuerpo C	132, 80
Anticuerpo D	158
QF20	26, 26, 27
C-1273	163, 438

Ejemplo 7: Modelo *in vivo* de producción de citocinas inducidas por IL-23 en la oreja de ratón

Se usó un modelo *in vivo* en el ratón. Se inyectó IL-23 humana recombinante en la piel de la oreja de ratón durante 4 días consecutivos dando como resultado engrosamiento epidérmico y regulación por incremento de las proteínas IL-17 e IL-22. Se evaluaron los anticuerpos anti-IL-23p19 en este modelo. Se administró una única inyección intraperitoneal de anticuerpo 1 mg/kg o 5 mg/kg 1 hora antes de la inyección inicial de IL-23 en la piel. Se inyectó IL-23 humana recombinante (con conector) una vez al día durante 3 días adicionales y se recogió tejido para la evaluación de citocinas. Se demostró la inhibición de la producción de citocinas por los anticuerpos. Los resultados de tres experimentos se muestran en la tabla a continuación (exp. 1: filas 1-7, exp. 2: filas 8-10, exp. 3: filas 11-14).

Tabla 15

	Tejido de oreja pg/ml de IL-17 Media +/- EEM	Tejido de oreja IL-17 Inhibición en porcentaje	Tejido de oreja pg/ml de IL-22 Media +/- EEM	Tejido de oreja IL-22 Inhibición en porcentaje
BSA al 0,1% + tampón citrato i.p. (control no estimulado)	3 +/- 1	ND	1 +/- 0	ND
0,3 ug de IL-23 + tampón citrato i.p. (control con vehículo)	25 +/- 3	ND	274 +/- 30	ND
0,3 ug de IL-23 + anticuerpo 6B8 1 mg/kg	7 +/- 2	81	57 +/- 19	80
0,3 ug de IL-23 + anticuerpo A 1 mg/kg	2 +/- 1	101	17 +/- 3	94
0,3 ug de IL-23 + anticuerpo B 1 mg/kg	5 +/- 1	93	30 +/- 2	89
0,3 ug de IL-23 + anticuerpo C 1 mg/kg	11 +/- 1	66	108 +/- 12	61
0,3 ug de IL-23 + anticuerpo D 1 mg/kg	10 +/- 1	67	151 +/- 12	45
BSA al 0,1% + vehículo (control no estimulado)	14 +/- 1	ND	1 +/- 1	ND
0,3 ug de IL-23 + vehículo	31 +/- 4	ND	129 +/- 29	ND
0,3 ug de IL-23 + 24A5 5 mg/kg	14 +/- 1	102	10 +/- 5	93
BSA al 0,1% + mIgG (control no estimulado)	17 +/- 1	ND	4 +/- 1	ND
0,3 ug de IL-23 + mIgG (control con vehículo)	30 +/- 2	ND	208 +/- 40	ND
0,3 ug de IL-23 + 24A5 5 mg/kg	16 +/- 0	109	28+/-5	88

0,3 ug de IL-23 + 18E5 5 mg/kg	21 +/- 2	70	53 +/- 41	80

Ejemplo 8: Estudios farmacocinéticos en macaco cangrejero

Se administraron anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados mediante infusión intravenosa de diez minutos a una dosis de 1,0 mg/kg a tres macacos cangrejeros. Se recogieron muestras de suero a lo largo de un transcurso de tiempo de 6 semanas y se midieron las concentraciones de anticuerpo libre usando un ELISA específico. Los perfiles de concentración en suero-tiempo para los anticuerpos y los parámetros farmacocinéticos correspondientes se resumen en la tabla 16 a continuación.

Tabla 16

Anticuerpo	CL (ml/d/kg)	Vol (ml/kg)	AUC (nM·h/ml)	$T_{1/2}$ (días)	MRT (días)
Anticuerpo A	5,2	88	32262	12,1	17,2
Anticuerpo B	6,0	87	27030	10,1	14,8
Anticuerpo C	4,7	91	34642	14,1	19,6
Anticuerpo D	3,4	67	47633	12,6	19,8

Ejemplo 9: Expresión en células NSO y datos biofísicos

Transfección de células NSO y generación de reservas estables; se hicieron crecer células NSO en presencia de FBS al 1% antes de la transfección. Se recogieron 40x10e6 células y se resuspendieron en 0,8 ml en medios que contenían FBS al 2% con 20 ug de ADN linealizado (vectores de expresión de cadena pesada y cadena ligera) y entonces se incubaron las células en hielo durante aproximadamente 15 min antes de la electroporación de las células a 750 V/25 uF (Bio-Rad Gene Pulser Xcell). Se recuperaron las células con FBS al 2% durante aproximadamente 48 horas a 37ºC y el 5% de CO_2, entonces se sembraron en placas de 96 pocillos a 2x10e5 células/ml que contenían G418 y ácido micofenólico durante 14-21 días hasta la formación de colonias.

Se examinó mediante ELISA el sobrenadante de las placas de 96 pocillos con colonias. Se recubrieron placas de ELISA con 1 ug/ml de anticuerpo de cabra anti-kappa (Southern Biotech, Birmingham, AL) en PBS y se incubaron los sobrenadantes diluidos y entonces se detectaron con anticuerpo de cabra anti-IgG Fc humano-HRP (de Jackson InmunoResearch Laboratories, West Grove, PA). Se reunieron las colonias positivas para la ampliación a escala. Se determinaron los títulos para la producción de anticuerpos mediante ForteBio usando extremos de proteína A según el protocolo de fabricación. Los títulos para el anticuerpo A y el anticuerpo D fueron de entre 250-350 mg/l, con más del 80% de recuperación a partir de la purificación de proteínas, y más del 94% de monómero tras la purificación mediante IEX. Se resuspendieron las proteínas en un tampón final que contenía citrato de sodio 20 mM y NaCl 115 mM, pH 6,0 y fueron estables a 4ºC durante al menos 4 meses y con solubilidad de hasta 100 mg/ml en este tampón.

Tabla 17

	Columna de proteína A			Columna de IEX	
	Título (mg/l)	Rendimiento (mg/l)	Recuperación	Rendimiento (mg/l)	Recuperación
Anticuerpo A	345	275	80%	221	80%
Anticuerpo D	248	225	90%	175	78%

Tabla 18:

	Calidad		Estabilidad				Solubilidad
	AUC reciente (% M)	SEC reciente (% M)	AUC 1 mes (% M)	SEC 1 mes (% M)	AUC 4 meses (% M)	SEC 4 meses (% M)	AUC a 100 mg/ml (% M)
Anticuerpo A	98	99	97	99	96	99	99
Anticuerpo D	94	100	98	100	99	99	97

AUC: Ultracentrifugación analítica tal como se mide mediante el método de velocidad de sedimentación a concentraciones de 0,5 -1 mg/ml; SEC: Cromatografía de exclusión molecular; %M: monómero en porcentaje.

Ejemplo 10: Mapeo de epítopos

Se empleó espectrometría de masas con intercambio de hidrógeno/deuterio (HXMS) para mapear el epítopo del anticuerpo A que se une a IL-23p19 humana. Este método determinó la propensión de los hidrógenos de la estructural principal de amida de IL-23p19 para intercambiarse con D_2O. El experimento se realizó con IL-23 sola e

IL-23 con anticuerpo A añadido. Por tanto, se identificaron regiones de la secuencia de IL-23p19 que muestran protección significativa con respecto al intercambio debido a la unión del anticuerpo A. La resolución del método se determina mediante los péptidos producidos por la digestión con pepsina o proteasa XVIII. Estos péptidos derivados de IL-23p19 se identificaron mediante experimentos de control adicionales con muestras sin intercambio empleando tecnologías de HPLC EM/EM y masa exacta convencionales.

Se usó IL-23 humana recombinante. Para la muestra de proteína + anticuerpo, se incubaron 50 ul de IL-23 (0,8 mg/ml) con 10 ul de anticuerpo A (12,7 mg/ml) durante 15 minutos a temperatura ambiente. La razón molar final anticuerpo A/IL-23 fue de 1,2:1.

Para el intercambio, se añadieron 5 ul de proteína IL-23 a 50 ul de tampón deuterado (PBS 50 mM en D_2O) y se incubaron durante 100 segundos a temperatura ambiente. Se añadieron 50 ul de urea 2 M /TCEP 0,5 M y se incubaron durante 60 segundos a temperatura ambiente. Se añadieron 5 ul de pepsina o proteasa XVIII (4 mg/ml en ácido fórmico al 0,1%) y se enfrió inmediatamente la muestra hasta 4ºC.

Tras 5 minutos, se inyectaron 50 ul de muestra en un sistema de HPLC de Shimadzu (controlador SCL10A y dos bombas LC10AD) en las siguientes condiciones:

Fase móvil A = 99/1/0,1 (agua/acetonitrilo/ácido fórmico).

Fase móvil B = 95/5/0,1 (acetonitrilo/agua/ácido fórmico).

Caudal = 100 ul/min.

Columna = Fenomenex Jupiter C5, 5u, 50x1,0 mm.

Las líneas de fase móvil, la columna, el bucle del inyector están en baños de hielo.

Gradiente= Tiempo 0 (3% de B), tiempo 2,2 (3% de B), tiempo 10,1 (90% de B), tiempo 12,0 (90% de B), tiempo 12,1 (3% de B).

La espectrometría de masas se llevó a cabo tal como sigue:

Espec. de masas = Thermo Orbitrap Velos (0900865).

Métodos:

A. Fragmentación (para identificar péptidos): tiempo de adquisición de 12 minutos (retardo de inicio de 3 minutos), FTMS de barrido completo a resolución de 30.000, siete barridos dependientes de datos de trampa de iones (CID).

B. Series de EM: tiempo de adquisición de 12 minutos (retardo de inicio de 3 minutos), FTMS de barrido completo a resolución de 60.000.

Se identificaron péptidos de proteasa XVIII y pepsina usando los datos de fragmentación y el programa Proteome Discoverer (Thermoscientific, Waltham, MA). Los péptidos identificados se compararon visualmente (proteína sola frente a proteína con anticuerpo presente) usando el software Xcalibur (Thermoscientific). No se observaron cambios significativos en el intercambio para IL-23 sola frente a IL-23 con el anticuerpo A fuera de la región de IL-23p19. Para la parte p19 de la proteína, se analizaron los datos usando el programa PepMap (Thermoscientific). Este programa calcula la masa promedio para los péptidos intercambiados. Se comprobaron los resultados de PepMap y aquellos péptidos que no produjeron resultados verificados se calcularon con la ayuda de Microsoft Excel.

Se identificaron las regiones de la secuencia de IL-23 que muestran protección significativa del intercambio debido a la unión del anticuerpo A como los residuos de aminoácido de 108 a 126 de SEQ ID NO: 181 y los residuos de aminoácido de 137 a 151 de SEQ ID NO: 181.

Lista de secuencias

<110> Barrett, Rachel Rebecca
Canada, Keith
Catron, Katrina Mary
Copenhaver, Robert
Frego, Lee Edward
Raymond, Ernest Lee
Singh, Sanjaya
Zhu, Xiangyang

<120> Anticuerpos anti-IL-23

<130> 09-0561

<150> Documento 61/410.158
<151> 04/11/2010

<150> Documento 61/411.953
<151> 10/11/2010

<150> Documento 61/412.594
<151> 11/11/2010

<150> Documento 61/448.785
<151> 03/03/2011

<160> 181

<170> FastSEQ para Windows versión 4.0

<210> 1
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 1

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Glu Tyr Leu His
1 5 10

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 2

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 3

Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu Tyr
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 5

Phe Ala Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

<210> 6
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 6

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Val Tyr Leu His
1 5 10

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 7

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu His
1 5 10

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 8

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

<210> 9
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 9

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 10
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 10

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 11
<211> 15
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 11

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Ile His
1 5 10 15

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 12

Leu Ala Ser Asn Leu Asp Ser
1 5

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 13

Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 14

Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Tyr Thr
1 5

<210> 15
<211> 15
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 15

Arg Thr Ser Glu Ser Val Tyr Ser Tyr Gly Gln Asn Phe Ile His
1 5 10 15

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 16

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 17

Gln Gln Thr Asn Glu Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> Ratón

<900> 18

Arg Ala Ser Glu Thr Ile Asn Phe Tyr Gly Thr Ser Phe Met His
1 5 10 15

<210> 19
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 19

Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala Val Ala
1 5 10

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 20

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 21

His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 22

Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 23

Ala Ala Arg Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 24

Gln His Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 25

Ala Ala Thr Asn Leu Ala Asp
1 5

<210> 26
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 26

Leu His Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 27
<211> 15
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 27

Arg Ala Ser Lys Ser Val Arg Phe Ser Asp Tyr Phe Tyr Met His
1 5 10 15

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 28

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 29

Gln Asn Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 30

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Asn Ala Val Val
1 5 10

<210> 31
<211> 7
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 31

Trp Ala Ser Thr Arg His Ile
1 5

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 32

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Leu Thr
1 5

<210> 33
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 33

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Val Ile His
1 5 10

<210> 34
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 34

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 35
<211> 6
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 35

Arg Leu Asp Glu Ala Tyr
1 5

<210> 36
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 36

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Leu Ile His
1 5 10

<210> 37
<211> 6
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 37

Asn Trp Asp Leu Asp Tyr
1 5

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 38

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Val Met His
1 5 10

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 39

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Gln Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 40
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 40

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Ile Ile His
1 5 10

<210> 41
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 41

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 42
<211> 6
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 42

Arg Trp Asp Glu Ser Tyr
1 5

<210> 43
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 43

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Ser Ile Met His
1 5 10

<210> 44
<211> 6
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 44

Arg Trp Asp Glu Ala Tyr
1 5

<210> 45
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 45

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 46

Val Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 47

Asp Gly His Arg Trp Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 48
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 48

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr Met Asn
1 5 10

<210> 49
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 49

Glu Ile Ile Pro Thr Thr Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Ala

<210> 50

<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 50

Glu Ser Gly Gly Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 51

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp His Thr Ile His
1 5 10

<210> 52
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 52

Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Tyr Pro Lys Phe Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 53

Arg Pro Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 54
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 54

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Leu Met His
1 5 10

<210> 55
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 55

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 56

<211> 6
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 56

Asn Trp Asp Tyr Ala Tyr
1 5

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 57

Gly Phe Ser Leu Thr Thr Tyr Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 58
<211> 16
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 58

Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Lys Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 59
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 59

Lys Asp Tyr Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 60

Gly Phe Ser Leu Asn Asn Phe Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 61
<211> 16
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 61

Ala Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 62

Lys Asp Tyr Ser Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 63

Gly Asn Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
1 5 10

<210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 64

Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 65
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 65

Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr
1 5 10

<210> 66
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 66

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
1 5 10

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 67

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
1 5 10

<210> 68
<211> 10
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 68

Gly Gly Thr Phe Thr Asp Gln Thr Ile His
1 5 10

<210> 69
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 69

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Val Met His
1 5 10

<210> 70
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 70

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Val Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 71
<211> 6
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 71

Asn Trp Asp Val Pro Tyr
1 5

<210> 72
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 72

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Lys Tyr Asn Glu Arg Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 73
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 73

Val Ile Ile Pro Tyr Asn Gly Gly Ile Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 74

<211> 9
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 74

Asn Asp Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5

<210> 75
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 75

Asp Phe Asn His Asn Asn Asp Val Ile Thr Tyr Asn Pro Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 76
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 76

Gly Leu Arg Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 77
<211> 10
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 77

Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asn
1 5 10

<210> 78
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 78

Val Ile Ile Pro Asn Tyr Gly Phe Thr Ser Tyr Asn Gln Asn Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 79

Asp Gly Gly Ile Leu Leu Trp Tyr Leu Asp Val
1 5 10

<210> 80
<211> 10
<212> PRT

<213> Ratón

<400> 80

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Asn Met Asp
1 5 10

<210> 81
<211> 17
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 81

Asp Ile Asn Pro His Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 82
<211> 13
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 82

Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 83
<211> 333
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 83

gacattgtgc tgacccaatc tccaggttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 60
atatcctgca gaaccagtga aagtgtttat agttatggcc aaaattttat acactggtac 120
cagcagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatc gtgcatccaa cctggaatct 180
gggatccctg ccaggttcag tggcagtggg tctaggacag acttcaccct caccatgaat 240
cctgtggagg ctgatgatgt tgcaacctat tactgtcagc aaactaatga ggatccgtac 300
acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aga 333

<210> 84
<211> 111
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 84

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

<210> 85
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 85

```
gacattgtga tgacccagtc tcacaaattc ttgtccacat cagtgggaga cagggtcacc 60
atcacttgca aggccagtcg ggatgtggct attgctgtag cctggtatca acagaaacca 120
gggcaatctc ctaaactact tcttttctgg gcatccaccc gacacactgg ggtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tcggacagat ttcactctca ccattagcaa tgtgcagtct 240
gaagacttgg cagattattt ctgtcaccaa tatagcagct atccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa g                                          321
```

<210> 86
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 86

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

<210> 87
<211> 333
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 87

```
gacattgcgc tgacccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctggggca gagggccacc 60
atatcctgca gagccagtga aactattaat ttttatggca ctagttttat gcactggtac 120
cagcagaaac caggacagtc acccaaactc ctcatctatc gtgcatccaa cctagaatct 180
gggatccctg ccaggttcag tggcagtggg tctaggacag acttcaccct caccattaat 240
cctgtggagg ctgatgatgt tgcaacctat tactgtcagc aaactaatga ggatccgtac 300
acgttcggag gggggactaa gttggaaata aaa                             333
```

<210> 88
<211> 111
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 88

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

<210> 89
<211> 336
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 89

```
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120
tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
aacagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
tacacgttcg gaggggggac ccagctggaa ataaaa                           336
```

<210> 90
<211> 112
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 90

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

<210> 91
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 91

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

<210> 92
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 92

```
gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagtca gagtattagc gactacttat actggtatca acaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaattt gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcactg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcgacag tgtggaacct 240
gatgatgttg gagtcttttt ctgtcaaaat ggtcacagct ttccgttcac gttcggaggg 300
gggaccaagc tggaaataaa a                                          321
```

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 93

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

<210> 94
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 94

```
gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gagtacttac actggtatca acaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaatat gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcagtg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtgtatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa a                                          321
```

<210> 95
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 95

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

<210> 96
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 96

```
gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gactacttat actggtatca acaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaattt gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcactg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcgacag tgtggaacct 240
gatgatgttg gagtcttttt ctgtcaaaat ggtcacagct ttccgttcac gttcggaggg 300
gggaccaagc tggaaataaa a                                          321
```

<210> 97
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 97

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

<210> 98
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 98

```
gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gagtatttac actggtatca acaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaatat gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcagtg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtttatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa a                                           321
```

<210> 99
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 99

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

<210> 100
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 100

```
gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctctcctgca gggccagcca gagtattagc gtctacttac actggtatca acaaaaatca 120
cctgagtctc caaggcttct catcaaatat gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcagtg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtttatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa a                                           321
```

<210> 101
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 101

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

<210> 102
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 102

```
gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaaa tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gactacttac actggtatca acaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaatat gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcagtg gcagtggatc agggtcaaat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtgtatta ttgtcaaaat ggtcacagct ttccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataaa a                                          321
```

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 103

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

<210> 104
<211> 333
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 104

```
gacattgtgc tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgttt ctctggggca gagggccacc 60
atctcatgca gggccagcaa aagtgtcaga ttctctgact atttttatat gcactggtac 120
caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctacc ttgcatccaa cctagaatct 180
ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcaga acagtaggga gcttccgtac 300
acgttcggag gggggaccaa gctggagata aaa                             333
```

<210> 105
<211> 111
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 105

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

<210> 106
<211> 333
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 106

```
gacattgtgt tgacacagtc tcctgcttcc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc 60
atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt acatctggct atagttatat acactggtac 120
caacagaaac cgggacagcc acccaaattc ctcatctatc ttgcatccaa cctagattct 180
ggggtccctg ccaggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc acagtaggga gcttccgtac 300
acgttcggag gggggaccaa gctggaaata aaa                               333
```

<210> 107
<211> 111
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 107

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

<210> 108
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 108

```
gacattgtga tgactcagtc tccagccacc ctgtctgtga ctccaggaga tagagtctct 60
ctttcctgca gggccagcca gagtattagc gactacttac actggtatca acaaaaatca 120
catgagtctc caaggcttct catcaaatat gcttcccaat ccatctctgg gatcccctcc 180
aggttcagtg gcagtggatc agggtcagat ttcactctca gtatcaacag tgtggaacct 240
gaagatgttg gagtgtatta ctgtcaaaat ggtcacagct ttccgtacac gttcggaggg 300
gggaccaagc tggaaataaa à                                           321
```

<210> 109
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 109

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

<210> 110
<211> 336
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 110

```
gatgttgtga tgacccaaac tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tttacattgg 120
tacctgcaga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
tctggggtcc ccgacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaat                           336
```

<210> 111
<211> 112
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 111

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

<210> 112
<211> 318
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 112

```
gacattatga tgacccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgggt aatgctgtgg tctggtatca acaaaaacca 120
gggcaatctc ctaaactact gatttactgg gcatccaccc ggcacattgg agtccctgat 180
cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccattaccaa tgtgcagtct 240
gaagacttgg cagattattt ctgtcagcaa tatagcagct atctcacgtt cggtgctggg 300
accaagctgg agctgaaa                                              318
```

<210> 113
<211> 106
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 113

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

<210> 114
<211> 336
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 114

```
gatgttgtga tgacccaatc tccactctcc ctgcctgtca gtcttggaga tcaagcctcc 60
atctcttgca gatctagtca gagccttgta cacagtaatg gaaacaccta tctacattgg 120
tacctgctga agccaggcca gtctccaaag ctcctgatct acaaagtttc caaccgattt 180
tctggggtcc cagacaggtt cagtggcagt ggatcaggga cagatttcac actcaagatc 240
agcagagtgg aggctgagga tctgggagtt tatttctgct ctcaaagtac acatgttccg 300
tacacgttcg gaggggggac caagctggaa ataaaa                           336
```

<210> 115
<211> 112
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 115

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

<210> 116
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 116

```
gacatccaga tgactcagtc tccagtttc ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60
atcacatgtc gagcaagtga gaatattgac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctttgct gcacgaaact tagcagatgg tgtgccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattctctca agatcaacag aatgcagtct 240
gaagatgttg cgagatacta ctgtcaacat tattatagta ctccattcac gttcggctcg 300
gggacaaagt tggaaataga a                                          321
```

<210> 117
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 117

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

<210> 118
<211> 321
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 118

```
gacatccaga tgactcagtc gccagcttcc ctgtctgcat ctgtgggaga aactgtcatc 60
ttcacatgtc gagcaagtga gaatattgac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120
ggaaaatctc ctcagctcct ggtctatgct gcaacaaact tagcagatgg tgtgccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc aggcacacag tattctctca agatcaacag cctgcagtct 240
gaagatgttg cgagatatta ctgtctacat tattatagta ctccattcac gttcggctcg 300
gggacagagt tggaaataaa a                                          321
```

<210> 119
<211> 107
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 119

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

<210> 120
<211> 357
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 120

```
caggtgcagc tgaaggagtc aggacctggc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccatc 60
acatgcactg tctctgggtt ctcattaacc acctatgcta taagctgggt tcgccagtca 120
ccaggaaagg gtctggagtg gcttggagtc atatggactg gtggaggcac aaaatataat 180
tcagctctca aatccagact gagcatcagc aaagacaact ccaagagtca agttttctta 240
aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccaggtact actgtgccag aaaggactat 300
aattacgggg gtgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca    357
```

<210> 121
<211> 119
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 121

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

<210> 122
<211> 360
<212> ADN

<213> Ratón

<400> 122

caggttcagc tgcaacagtc tgacgctgag ttggtgaaac ctggcacttc agtgaagaca 60
tcctgcaaaa tttctggcaa caccttcact gaccaaacta ttcactggat gaagcagagg 120
cctgaacagg gcctggaatg gattggatat atttatccta gagatgatag tcctaagtac 180
aatgagaact tcaagggcaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcagctca acagtctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aatcccagac 300
aggtcaggct acgcctggtt tatttactgg ggccaaggga ctctggtcac tgtctcttca 360

<210> 123
<211> 120
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 123

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

<210> 124
<211> 357
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 124

caggtgcagc tgaaggagtc aggacctgtc ctggtggcgc cctcacagag cctgtccatc 60
acatgcactg tctctgggtt ctcattaaac aactttgcta taagttgggt tcgtcagcca 120
ccaggaaagg gtctggagtg gcttggagca atatggactg gtggaggcac aaattataat 180
tcagctctca aatccagact gagcatcagc aaagacaact ccaagagtca agttttctta 240
aaaatgaaca gtctgcaaac tgatgacaca gccaggtatt attgtgtcag aaaggactat 300
agttacgggg gtgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

<210> 125
<211> 119
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 125

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

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

<210> 126
<211> 354
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 126

```
gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgtg ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgtaagg cttctggata cacattcact gactactata tgaactgggt gaagcagagc 120
catggaaaga gccttgagtg gattggagtt attattcctt acaacggtgg tactagctac 180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgttgaca agtcctccag cacagcctac 240
atggagctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc acgagatggt 300
caccgctggt acttcgatgt ctggggcaca gggaccacgg tcaccgtctc ctca       354
```

<210> 127
<211> 118
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 127

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

<210> 128
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 128

```
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Cys Cys
            20                  25                  30
```

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

<210> 129
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 129

```
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtcaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact cgctatctta ttcactgggt gaaacagaag 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaaatac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtac ctctaactgg 300
gacctcgact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca                  345
```

<210> 130
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 130

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

<210> 131
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 131

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgaa gtggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cctctggata cacattcact agttctgtta tacactgggt gaagcagaag 120
gctgggcagg gccttgagtg gattggatat atcaatccct ataatgatgg tactaagtac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca gatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtac aagacggttg 300
gacgaggctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 132
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 132

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

<210> 133
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 133

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggctgc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact cgctatctta ttcactgggt gaagcagaag 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaaatat 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtac ctctaattgg 300
gacctcgact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctca 345

<210> 134
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 134

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

<210> 135
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 135

```
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgaa ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cctctggata cacattcact agttctgtta tgcactgggt gaagcagaag 120
gctgggcagg gccttgagtg gattggatat atcaatccct ataatgatgg tactcagtac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aattttccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtac aagacggttg 300
gacgaggctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca                  345
```

<210> 136
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 136

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

<210> 137
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 137

```
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact agctctatta ttcactgggt gaagcagagg 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acgatgatgt tactaagtac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagacggtgg 300
gacgagtctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca                  345
```

<210> 138
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 138

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

<210> 139
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 139

```
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cactttcact acctctatta tgcactgggt gaaacagaag 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acgatgatgt tactaagtac 180
aatgaaaagt tcaaaggcaa ggccacattg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcagtct attactgtgt aagacggtgg 300
gacgaggctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca                  345
```

<210> 140
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 140

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

<210> 141
<211> 357
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 141

```
gaggtccagc tgcaacaatc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
tcctgtaagg cttctggata cacgtttact gactactaca tgaactgggt gaggcagagc 120
catggagaga gccttgagtg gattggagat tttaatcata acaatgatgt tattacttac 180
aacccgaagt tcaagggcaa ggtcacattg actgtagaga agtcttccac cacagcctac 240
atggagctcc gcagcctgtc atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aaggggggcta 300
cgaggctact atgctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca    357
```

<210> 142
<211> 119
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 142

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

<210> 143
<211> 354
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 143

caggttcagc tgcaacagtc tgacgctgag ttggtgaaac ctggagcttc agtgaagata 60
tcctgcaagg tttctggcta caccttcact gaccatacta ttcactggat gaagcagagg 120
cctgaacagg gcctggaatg gattggatat atttatccta gagatggtta tcctaagttc 180
aatgagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcagctca acagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aagacggccc 300
ccttactatg ctatggacta ctggggtcaa ggaacctcag tcgccgtctc ctca 354

<210> 144
<211> 118
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 144

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

<210> 145
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 145

gaggtccaac tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact aggtatctta tgcactgggt gaagcagaag 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggttat attaatcctt acaatgatgg tactaattac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgttc ccttaactgg 300
gactatgctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca 345

<210> 146
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 146

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

<210> 147
<211> 360
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 147

```
gagttccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggcgcttc agtgaagata 60
tcctgcaagg cttctggtta ctcattcact gactacaaca tgaactgggt gaagcagagc 120
aaaggaaaga gccttgagtg gattggagta attattccta actatggttt tactagctac 180
aatcagaact tcaagggcaa ggccactttg actgtagacc agtcttccag cacagcccac 240
atgcagctca acagtgtgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgt aagagatggg 300
ggaatactcc tctggtatct cgatgtctgg ggcacaggga ccacggtcac cgtctcctca 360
```

<210> 148
<211> 120
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 148

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

                85                  90                  95
Val Arg Asp Gly Gly Ile Leu Leu Trp Tyr Leu Asp Val Trp Gly Thr
            100                 105                 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 149
<211> 366
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 149

gaggtccagc tgcaacagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
ccctgcaagg cttctggata cacattcact gactacaaca tggactgggt gaagaagagc 120
catggaaaga gccttgagtg gattggagat atcaatcctc acaatggtgg tactatctac 180
aaccagaagt tcaagggcaa ggccacattg actgtagaca agtcctccag cacagcccac 240
atggagctcc gcagcctgac atctgaggac actgcagtct attactgtgc aagaaattac 300
tacggtagta gttacggctg gtacttcgat gtctggggca cagggaccac ggtcaccgtc 360
tcgtca 366

<210> 150
<211> 122
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 150

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

<210> 151
<211> 360
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 151

gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagatt 60
tcctgcaggg cttctggtta ctcattcact ggctactaca tgaactgggt gaagcaaagt 120
cctgaaaaga gccttgagtg gattggagag attattccta ccactggtgg tacttcctac 180
aaccagaagt tcaaggccaa ggccacattg actgtagaca aatcctccag cacagcctac 240
atgcagctca agagcctgac atctgaggac tctgcagtct attactgtgc aagagagagc 300
ggtgggttct actggtactt cgatgtctgg ggcacaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 152
<211> 120
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 152

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

<210> 153
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 153

```
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact aggtatgtta tgcactgggt gaagcagaag 120
cctgggcagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgt tactaagtac 180
aatgagaagt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca gatcctccag cacagcctac 240
atgaaactca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attattgtgc aagaaactgg 300
gacgttcctt actggggcca agggactctg atcactgtct ctgca                  345
```

<210> 154
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 154

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

<210> 155
<211> 345
<212> ADN
<213> Ratón

<400> 155

```
gaggtccagc tgcagcagtc tggacctgag ctggtaaagc ctggggcttc agtgaagatg 60
tcctgcaagg cttctggata cacattcact aggtatctta tgcactgggt gaagcagaag 120
cctggacagg gccttgagtg gattggatat attaatcctt acaatgatgg tactaagtac 180
aatgagaggt tcaaaggcaa ggccacactg acttcagaca aatcctccag cacagcctac 240
atggagctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct attactgtgc aagaaactgg 300
gacgtacctt actggggcca agggactctg gtcactgtct ctgca                  345
```

<210> 156
<211> 115
<212> PRT
<213> Ratón

<400> 156

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

<210> 157
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 157

```
gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gctgttctgg gccagcaccc gccacaccgg cgtgccagac 180
cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacctgg ccgactacta ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagatcaa g                                          321
```

<210> 158
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 158

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Leu
        35                  40                  45
Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 159
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 159

```
gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gatctactgg gccagcaccc gccacaccgg cgtgccaagc 180
cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacgtgg ccgactactt ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
ggcaccaagc tggagatcaa g                                          321
```

<210> 160
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 160

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

<210> 161
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada.

<400> 161

```
gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gatctactgg gccagcaccc gccacaccgg cgtgccaagc 180
cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacgtgg ccgactactt ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
ggcaccaagc tggagatcaa g                                           321
```

<210> 162
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 162

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

<210> 163
<211> 321
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 163

```
gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gctgttctgg gccagcaccc gccacaccgg cgtgccagac 180
cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacctgg ccgactacta ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
ggcaccaagc tggagatcaa g                                           321
```

<210> 164
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 164

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

<210> 165
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 165

```
caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gaccagacca tccactggat gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatcggctac atctacccac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctggtt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360
```

<210> 166
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 166

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

<210> 167
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 167

caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ccagcggctt caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatgggctac atctacccac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccctg accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240

atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctggtt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360

<210> 168
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 168

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

<210> 169
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 169

caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaagacc 60
agctgcaagg ccagcggcgg caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccagcgc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatgggctac atctacccac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggccg cgtcaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctggtt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360

<210> 170
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada.

<400> 170

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

<210> 171
<211> 360
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 171

```
caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ccagcggcgg caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatgggctac atctacccac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaatt tcaagggccg cgtcaccctg accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt acttctgcgc ccgcccagac 300
cgcagcggct acgcctggtt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360
```

<210> 172
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 172

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

<210> 173
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 173

```
gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gatctactgg gccagcaccc gccacaccgg cgtgccaagc 180
cgcttcagcg gcagcggcag ccgcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacgtgg ccgactactt ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggcagc 300
ggcaccaagc tggagatcaa gcgtactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt                    642
```

<210> 174
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 174

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Val Ala Asp Tyr Phe Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Ser 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> 175

<211> 1347
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 175

caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gaccagacca tccactggat gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatcggctac atctacccac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccatc accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctggtt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tcgacaagag agttgagccc 660
aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag caccagaagc tgctgggggga 720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780
gaggtcacat gcgtcgtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggt 1347

<210> 176
<211> 449
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 176

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

                245                 250                 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
Gly
```

<210> 177
<211> 1347
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 177

caggtgcagc tggtgcagag cggcgccgag gtgaagaagc caggcagcag cgtgaaggtg 60
agctgcaagg ccagcggctt caccttcacc gaccagacca tccactgggt gcgccaggcc 120
ccaggccagg gcctggagtg gatgggctac atctacccac gcgacgacag cccaaagtac 180
aacgagaact tcaagggcaa ggtcaccctg accgccgaca agagcaccag caccgcctac 240
atggagctga gcagcctgcg cagcgaggac accgccgtgt actactgcgc catcccagac 300
cgcagcggct acgcctggtt catctactgg ggccagggca ccctggtgac cgtgagcagc 360
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tcgacaagag agttgagccc 660
aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag caccagaagc tgctggggga 720
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 780
gaggtcacat gcgtcgtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggt 1347

<210> 178
<211> 449
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 178

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Gln
            20                  25                  30
Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Tyr Ile Tyr Pro Arg Asp Asp Ser Pro Lys Tyr Asn Glu Asn Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Lys Val Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Ile Pro Asp Arg Ser Gly Tyr Ala Trp Phe Ile Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225                 230                 235                 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

        435                 440                 445
Gly
```

<210> 179
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia humanizada.

<400> 179

```
gacatccaga tgacccagag cccaagcagc ctgagcgcca gcgtgggcga ccgcgtgacc 60
atcacctgca aggccagccg cgacgtggcc atcgccgtgg cctggtacca gcagaagcca 120
ggcaaggtgc caaagctgct gctgttctgg gccagcaccc gccacaccgg cgtgccagac 180
cgcttcagcg gcagcggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatcagcag cctgcagcca 240
gaggacctgg ccgactacta ctgccaccag tacagcagct acccattcac cttcggccag 300
ggcaccaagc tggagatcaa gcgtactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt                     642
```

<210> 180
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia humanizada.

<400> 180

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asp Val Ala Ile Ala
            20                  25                  30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Leu
        35                  40                  45
Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Phe
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln 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> 181
<211> 189
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 181

```
Met Leu Gly Ser Arg Ala Val Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro Trp Thr
 1               5                  10                  15
Ala Gln Gly Arg Ala Val Pro Gly Gly Ser Ser Pro Ala Trp Thr Gln
            20                  25                  30
Cys Gln Gln Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His
        35                  40                  45
Pro Leu Val Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr
    50                  55                  60
Thr Asn Asp Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln
65                  70                  75                  80
Gly Leu Arg Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly
                85                  90                  95
Leu Ile Phe Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu
            100                 105                 110
Pro Ser Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu
        115                 120                 125
Leu Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr
    130                 135                 140
Gln Gln Ile Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu
145                 150                 155                 160
Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala
                165                 170                 175
Ala Arg Val Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro
            180                 185
```

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende:

a) una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); y

b) una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66 o 67 (CDR1-H); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

2. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende:

a) una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); y

b) una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66 (CDR1-H); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

3. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende:

a) una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (CDR1-L); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 (CDR2-L); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (CDR3-L); y

b) una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67 (CDR1-H); la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 (CDR2-H); y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65 (CDR3-H).

4. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 158, 160, 162 o 164; y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de SEQ ID NO: 166 o 168.

5. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 4, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166.

6. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 4, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 168.

7. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 4, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 y una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166.

8. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 4, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166 o 168 unida a una región constante de cadena pesada de IgG_1 humana; y la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 o 160 unida a una región constante de cadena ligera kappa humana.

9. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende:

a) un dominio variable de cadena ligera humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 158 o 160 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de dominio variable de SEQ ID NO: 158 o 160; y

b) un dominio variable de cadena pesada humanizado que comprende las CDR de SEQ ID NO: 166 o 168 y regiones de entramado que tienen una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos el 90% a la secuencia de aminoácidos de las regiones de entramado de la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de dominio variable de SEQ ID NO: 166 o 168.

10. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

11. El anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo es un anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 o 180 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176 o 178.

12. El anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado según la reivindicación 11, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176.

13. El anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado según la reivindicación 11, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 178.

14. El anticuerpo anti-IL-23p19 monoclonal humanizado según la reivindicación 11, en el que dicho anticuerpo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 180 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176.

15. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 para su uso en medicina.

16. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno según la reivindicación 15, en el que el uso es el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, de una enfermedad autoinmunitaria, de una enfermedad respiratoria, de un trastorno metabólico o de cáncer.

17. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno según la reivindicación 16, en el que el uso es para el tratamiento de psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o espondilitis anquilosante.

18. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno según la reivindicación 16, en el que el uso es para el tratamiento de asma o EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica).

19. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 y un portador farmacéuticamente aceptable.

20. Un polinucleótido aislado que comprende una secuencia que codifica para una región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158, 160, 162 o 164, y que codifica para una región variable de cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166 o 168.

21. El polinucleótido aislado según la reivindicación 20, en el que dicho polinucleótido comprende una secuencia que codifica para una cadena ligera de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 o 180, y que codifica para una cadena pesada de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176 o 178.

22. Un vector de expresión que comprende el polinucleótido según la reivindicación 20 o 21.

23. Una célula huésped que comprende:

a) un polinucleótido aislado que comprende una secuencia que codifica para una región variable de cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158, 160, 162 o 164; y

b) un polinucleótido aislado que comprende una secuencia que codifica para una región variable de cadena

pesada de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166 o 168.

24. Una célula huésped que comprende:

a) un polinucleótido aislado que comprende una secuencia que codifica para una cadena ligera de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174 o 180; y
b) un polinucleótido aislado que comprende una secuencia que codifica para una cadena pesada de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 176 o 178.

25. Un método para producir un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que comprende:

a) obtener una célula huésped según la reivindicación 23 o 24; y
b) cultivar la célula huésped.

26. El método según la reivindicación 25, que comprende además recuperar y purificar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno.

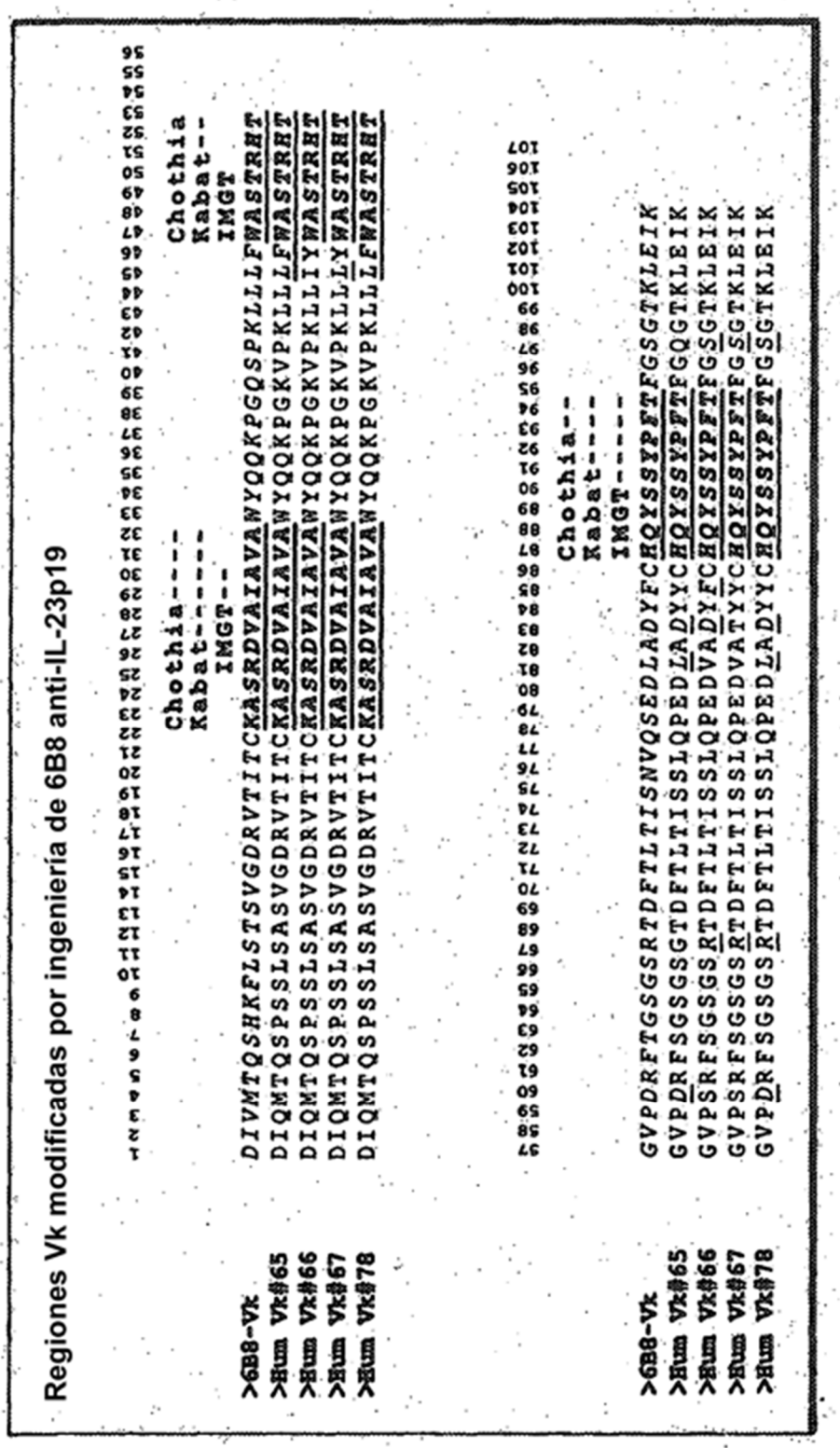
Regiones Vk modificadas por ingeniería de 6B8 anti-IL-23p19
Chothia
Kabat
IMGT
>6B8-Vk
>Hum Vk#65
>Hum Vk#66
>Hum Vk#67
>Hum Vk#78

Fig. 1a

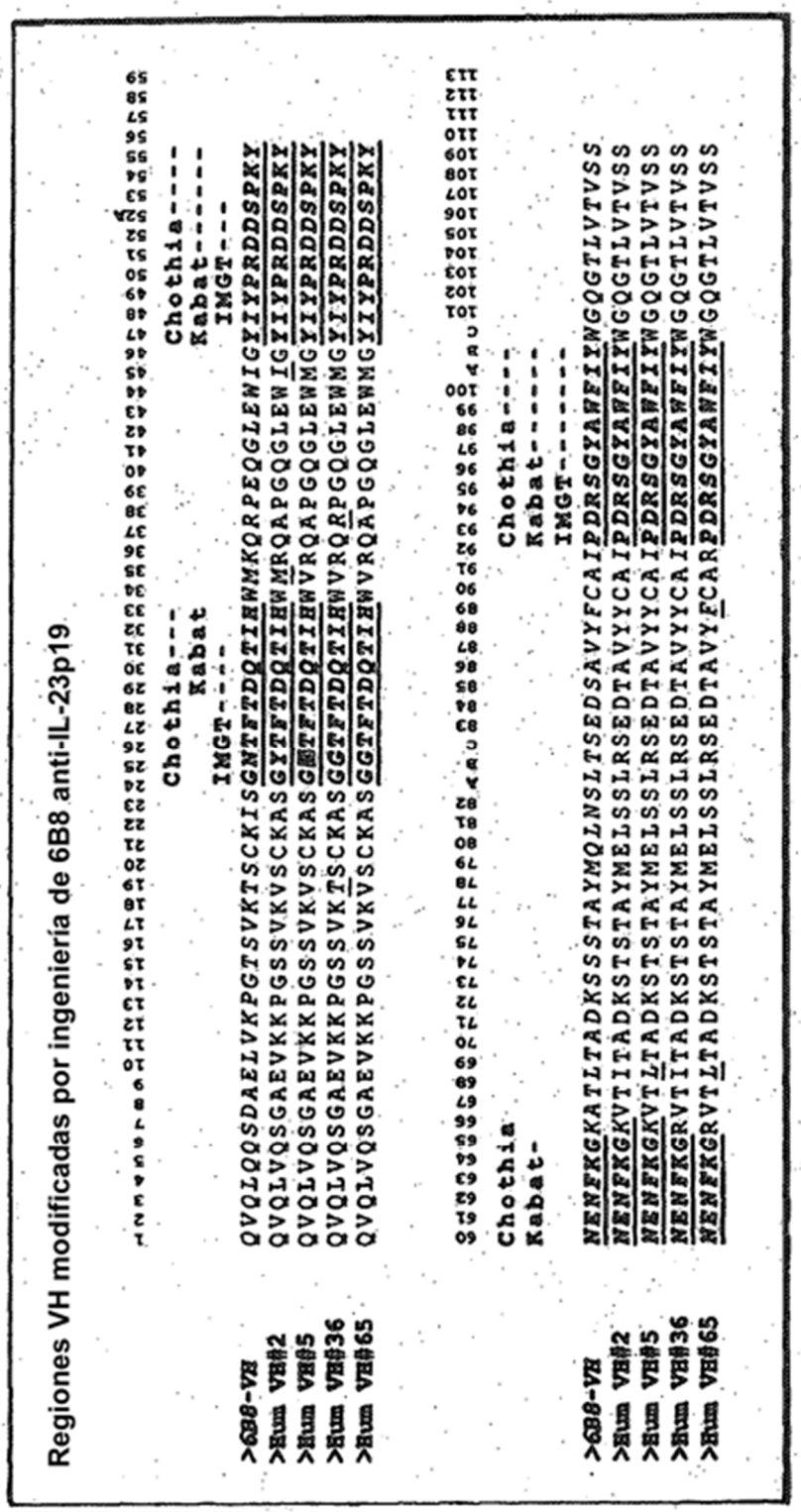
Regiones VH modificadas por ingeniería de 6B8 anti-IL-23p19
Chothia---
Kabat
IMGT---
>6B8-VH QVQLQQSDAELVKPGTSVKTSCKISGNTFTDQTIHWMKQRPEQGLEWIGYIYPRDDSPKY
>Hum VH#2 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKY
>Hum VH#5 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGWTFTDQTIHWVRQAPGQGLEWMGYIYPRDDSPKY
>Hum VH#36 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKTSCKASGGTFTDQTIHWVRQRPGQGLEWMGYIYPRDDSPKY
>Hum VH#65 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFTDQTIHWVRQAPGQGLEWMGYIYPRDDSPKY
Chothia
Kabat-
IMGT-------
>6B8-VH NENFKGKATLTADKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYFCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS
>Hum VH#2 NENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS
>Hum VH#5 NENFKGKVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS
>Hum VH#36 NENFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS
>Hum VH#65 NENFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSS

Fig. 1b

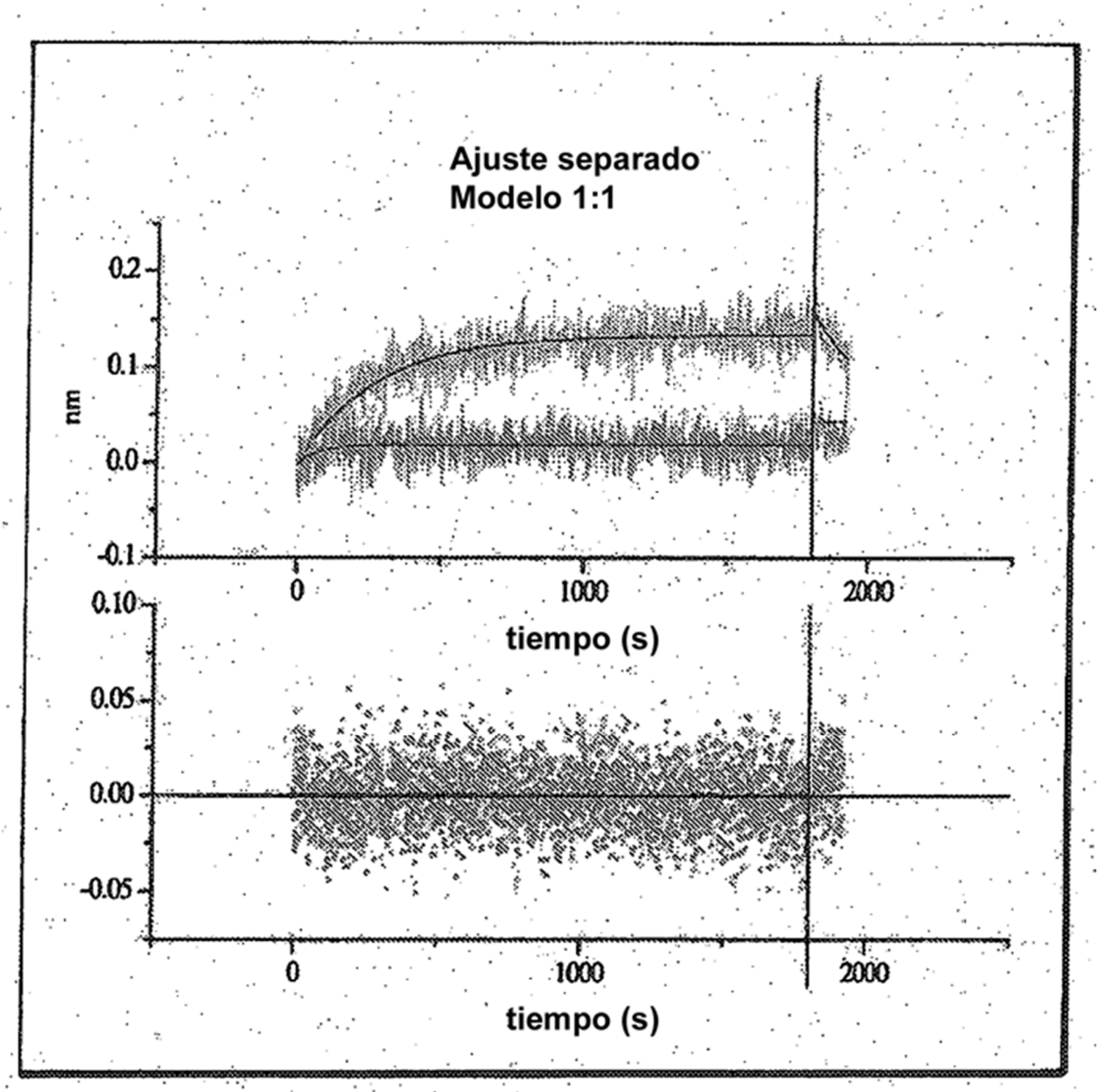
Ajuste separado
Modelo 1:1
nm
0.2
0.1
0.0
-0.1
0
1000
2000
tiempo (s)
0.10
0.05
0.00
-0.05
0
1000
2000
tiempo (s)

Fig. 2