

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 236**

51 Int. Cl.:

C07K 16/24 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.10.2010 PCT/US2010/054148**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.05.2011 WO2011056600**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.10.2010 E 10774095 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2016 EP 2493925**

54 Título: **Proteínas de unión a un antígeno de IL-23 humana**

30 Prioridad:

26.10.2009 US 254982 P
09.09.2010 US 381287 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.05.2017

73 Titular/es:

AMGEN INC. (100.0%)
One Amgen Center Drive
Thousand Oaks, CA 91320-1799, US

72 Inventor/es:

TOWNE, JENNIFER, E.;
CHENG, JANET, D.;
O'NEILL, JASON, C.;
ZHANG, YU;
SUN, YU;
CERNE, HEATHER;
PIPER, DEREK, E. y
KETCHEM, RANDAL, R.

74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

ES 2 613 236 T3

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

DESCRIPCIÓN

Proteínas de unión a un antígeno de IL-23 humana

Antecedentes

5 La interleucina 23 (IL-23), una citoquina heterodimérica, es un potente inductor de citoquinas proinflamatorias. La IL-23 está relacionada con la citoquina heterodimérica, interleucina 12 (IL-12) que comparten una subunidad p40 común. En IL-23, una subunidad p19 única está unida covalentemente a la subunidad p40. En IL-12, la única subunidad es p35 (Oppmann et al., *Immunity*, 2000, 13:713-715). La proteína heterodimérica de IL-23 es secretada. Al igual que la IL-12, la IL-23 se expresa mediante células presentadoras de antígeno (tales como células dendríticas y macrófagos) en respuesta a estímulos de activación tales como la ligación de CD40, agonistas y patógenos del receptor tipo Toll. IL-23 se une a un receptor heterodimérico que comprende una subunidad de IL-12Rβ1 (que se comparte con el receptor de IL-12) y una única subunidad de receptor, IL-23R. El receptor de IL-12 consiste en IL-12Rβ1 e IL-12Rβ2. IL-23 se une a su receptor heterodimérico y señales a través de JAK2 y Tyk2 para activar STAT1, 3, 4 y 5 (Parham et al., *J. Immunol.* 2002, 168:5699-708). Las subunidades del receptor están predominantemente coexpresadas en células T activadas o de memoria y células asesinas naturales y también a niveles inferiores en células dendríticas, monocitos, macrófagos, microglia, queratinocitos y fibroblastos sinoviales. IL-23 e IL-12 actúan sobre diferentes subconjuntos de células T y juegan papeles sustancialmente diferentes in vivo.

20 La IL-23 actúa sobre células T activadas y de memoria y promueve la supervivencia y la expansión del subconjunto de células T, Th17. Las células Th17 producen citoquinas proinflamatorias incluyendo IL-6, IL-17, TNFα, IL-22 y GM-CSF. La IL-23 también actúa sobre células asesinas naturales, células dendríticas y macrófagos para inducir la expresión de citoquinas proinflamatorias. A diferencia de la IL-23, la IL-12 induce la diferenciación de células T CD4+ naïve en células efectoras productoras IFNγ Th1 maduras, e induce NK y la función de células T citotóxicas estimulando la producción de IFNβ. Se pensó previamente que las células Th1 impulsadas por IL-12 eran el subconjunto de células T patógenas en muchas enfermedades autoinmunes, sin embargo, estudios animales más recientes en modelos de enfermedad inflamatoria intestinal, psoriasis, artritis inflamatoria y esclerosis múltiple, en los que las contribuciones individuales de IL-12 frente a IL-23 se han establecido firmemente que IL-23, no IL-12, es el conductor clave en la enfermedad autoinmune/inflamatoria (Ahern et al., *Immun. Rev.* 2008 226:147-159; Cua et al., *Nature* 2003 421:744-748; Yago et al., *Arthritis Res and Ther.* 2007 9(5):R96). Se cree que la IL-12 juega un papel crítico en el desarrollo de respuestas inmunes innatas y adaptativas protectoras a muchos patógenos intracelulares y virus y en la vigilancia inmunológica del tumor. Véase Kastelein, et al., *Annual Review of Immunology*, 2007, 25: 221-42; Liu, et al., *Rheumatology*, 2007, 46(8): 1266-73; Bowman et al., *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2006 19:245-52; Fieschi and Casanova, *Eur. J. Immunol.* 2003 33:1461-4; Meeran et al., *Mol. Cancer Ther.* 2006 5: 825-32; Langowski et al., *Nature* 2006 442: 461-5. Como tal, la inhibición específica de IL-23 (ahorrando IL-12 o la subunidad p40 compartida) debería tener un perfil de seguridad potencialmente superior comparado con la inhibición dual de IL-12 e IL-23.

35 Por lo tanto, el uso de antagonistas específicos de IL-23 que inhiben la IL-23 humana (tales como anticuerpos que se unen al menos a la subunidad p19 única o se unen tanto a las subunidades p19 como p40 de IL-23) que comparten IL-12 proporcionarían la eficacia igual o mayor que los antagonistas de IL-12 o antagonistas de p40 sin los riesgos potenciales asociados con la inhibición de IL-12. Se han descrito anticuerpos de expresión en fagos y humanizados, murinos de presentación en fagos seleccionados para la inhibición de la IL-23 recombinante; véase, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos 7,491,391, Publicaciones WIPO WO1999/05280, WO2007/0244846, WO2007/027714, WO 2007/076524, WO2007/147019, WO2008/103473, WO 2008/103432, WO2009/043933 y WO2009/082624. Sin embargo, existe una necesidad de agentes terapéuticos completamente humanos que sean capaces de inhibir IL-23 humana nativa. Tales agentes terapéuticos son altamente específicos para el objetivo, particularmente in vivo. La inhibición completa del objetivo in vivo puede dar lugar a formulaciones de dosis más bajas, dosificación más frecuente y/o más eficaz, lo que a su vez da como resultado un coste reducido y una mayor eficacia. La presente invención proporciona tales antagonistas de IL-23.

Resumen

50 Se proporcionan proteínas de unión al antígeno que unen IL-23, particularmente la IL-23 humana nativa. Las proteínas de unión al antígeno de la IL-23 humana pueden reducir, inhibir, interferir con, y/o modular al menos una de las respuestas biológicas relacionadas con IL-23 y, como tales, son útiles para mejorar los efectos de enfermedades relacionadas con IL-23 o trastornos. Las proteínas de unión al antígeno IL-23 se pueden usar, por ejemplo, para reducir, inhibir, interferir con y/o modular la señalización de IL-23, la activación de IL-23 de células Th17, la activación de IL-23 de células NK o inducir la producción de células citoquinas proinflamatorias.

55 En este documento se proporciona una proteína de unión al antígeno que se une a la IL-23 humana, donde dicha proteína de unión al antígeno comprende:

(i)

(a) una región variable de cadena pesada que comprende

una CDRH1 que tiene SEQ ID NO: 91,

una CDRH2 que tiene SEQ ID NO: 92 y

5 una CDRH3 que tiene SEQ ID NO: 93,

y una región variable de cadena ligera que comprende

una CDRL1 que tiene SEQ ID NO:62,

una CDRL2 que tiene SEQ ID NO:63 and

una CDRL3 que tiene SEQ ID NO:64;

10 o

(b) una región variable de cadena pesada que comprende

una CDRH1 que tiene SEQ ID NO:109,

una CDRH2 que tiene SEQ ID NO: 116 and

una CDRH3 que tiene SEQ ID NO:111,

15 y una región variable de cadena ligera que comprende

una CDRL1 que tiene SEQ ID NO:80,

una CDRL2 que tiene SEQ ID NO:81 y

una CDRL3 que tiene SEQ ID NO:76;

20 y en donde dicha proteína de unión al antígeno de acuerdo con (a) o (b) se une a la IL-23 humana con un K_D de $\leq 5 \times 10^{-12}$ M;

o

(ii) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:31 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:1; o una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:46 o 153 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:15;

25 en donde dicha proteína de unión al antígeno es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo multiespecífico, o un fragmento del anticuerpo del mismo.

También se proporcionan sistemas de expresión, incluyendo líneas celulares, para la producción de proteínas de unión al antígeno de IL-23 y usos médicos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la IL-23 humana.

30 Algunas de las proteínas de unión al antígeno que se unen a IL-23 descritas en el presente documento comprenden al menos una región variable de cadena pesada que comprende una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 seleccionadas del grupo que consiste en: una CDRH1 que no difiere en más de un sustitución, inserción o supresión de amino de una CDRH1 como se muestra en la Tabla 3; una CDRH2 que no difiere en más de tres, dos o una sustitución, supresión y/o inserción de aminoácidos de una CDRH2 como se muestra en la Tabla 3; una CDRH3 que no difiere en más de tres, dos o una sustitución, supresión y/o inserción de aminoácidos de una CDRH3 como se muestra en la Tabla 3; y que comprende al menos una región variable de cadena ligera que comprende una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 seleccionadas del grupo que consiste en: una CDRL1 que no difiere en más de tres, dos o una sustitución, supresión, inserción y/o supresión de aminoácidos de una CDRL1 como se muestra en la Tabla 3; una CDRL2 que no difiere en más de una sustitución, inserción o supresión de aminoácidos de una CDRL2 como se muestra en la Tabla 3; una CDRL3 que no difiere en más de una sustitución, inserción o supresión de aminoácidos de una CDRL3 como se muestra en la Tabla 3. También se describen en este documento proteínas de unión al antígeno aisladas que comprenden: una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 94, 97, 100, y

103; una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 95, 98, 101, 104, 107 y 110; una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 96, 99, 102 y 105; una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 65, 68, 71 y 74; una CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 66, 69, 72, 75 y 78; y una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 67, 70 y 73. También se describen en este documento proteínas de unión al antígeno aisladas que comprenden: una CDRH1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 106, 112 y 115; una CDRH2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 113, 118, 120, 121, y 122; una CDRH3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 108, 114, 117 y 119; una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 77, 83, 85, 86, 87, 88, 89 y 90; una CDRL2 es SEQ ID NO: 81; y una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 79, 82 y 84. También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada que comprende al menos una región variable de cadena pesada y al menos una región variable de cadena ligera. También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada como se ha descrito anteriormente que comprende al menos dos regiones variables de cadena pesada y al menos dos regiones variables de cadena ligera. En una realización, la proteína de unión al antígeno se acopla a un grupo marcador.

También se describen en este documento proteínas de unión al antígeno aisladas que unen IL-23 seleccionadas del grupo que consiste en a) una proteína de unión al antígeno que tiene CDRH1 de SEQ ID NO:129, CDRH2 de SEQ ID NO:132, CDRH3 de SEQ ID NO:136, y CDRL1 de SEQ ID NO:123, CDRL2 de SEQ ID NO:81, y CDRL3 de SEQ ID NO: 76; b) una proteína de unión al antígeno que tiene CDRH1 de SEQ ID NO:131, CDRH2 de SEQ ID NO: 134, CDRH3 de SEQ ID NO:137 y CDRL1 de SEQ ID NO:124, CDRL2 de SEQ ID NO:126 y CDRL3 de SEQ ID NO:128; c) a) una proteína de unión al antígeno que tiene CDRH1 de SEQ ID NO:130, CDRH2 de SEQ ID NO:133, CDRH3 de SEQ ID NO:99 y CDRL1 de SEQ ID NO:68, CDRL2 de SEQ ID NO:69, y CDRL3 de SEQ ID NO:67; y d) una proteína de unión al antígeno que tiene CDRH1 SEQ ID NO:91, CDRH2 SEQ ID NO: 135, CDRH3 SEQ ID NO:138 y CDRL1 SEQ ID NO:125, CDRL2 SEQ ID NO:127, y CDRL3 SEQ ID NO:64.

También se describen en este documento proteínas de unión al antígeno aisladas que unen IL-23 que comprende al menos una región variable de cadena pesada y al menos una región variable de cadena ligera, seleccionadas del grupo que consiste en: una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-65 y 99-110 de SEQ ID NO:34 y región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-66 y 99-110 de SEQ ID NO:36; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 23-36, 52-62 y 97-105 de SEQ ID NO:4 ; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-66 y 99-114 de SEQ ID NO:38; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 23-34, 50-61 y 94-106 de SEQ ID NO:7; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-66 y 99-114 de SEQ ID NO:40; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 94-106 de SEQ ID NO:9; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-66 y 99-114 de SEQ ID NO:42; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 23-34, 50-61 y 94-106 de SEQ ID NO:11; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-65 y 98-107 de SEQ ID NO:44; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:13; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ ID NO:48; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:17; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-67 y 101-109 de SEQ ID NO:50; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:19; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-35, 50-65 y 98-107 de SEQ ID NO: 52; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 98-107 de SEQ ID NO:21; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ ID NO:54; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:23; una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-67 y 100-109 de SEQ ID NO:56; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:25; y una región variable de cadena pesada que comprende residuos de aminoácidos 31-37, 52-57 y 100-109 de SEQ ID NO:58; y una región variable de cadena ligera que comprende residuos de aminoácidos 24-34, 50-56 y 89-97 de SEQ ID NO:27.

En este documento se describe una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 que comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en donde la secuencia de región variable de cadena pesada no difiere más de 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones, adiciones y/o supresiones de una secuencia de región variable de cadena pesada como se muestra en la Tabla 2; y en donde la región variable de cadena ligera secuencia difiere por no más de 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones, adiciones y/o supresiones de una región variable de cadena ligera secuencia como se muestra en la Tabla 1.

También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 seleccionada del grupo que consiste en a) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:140 y una región variable de cadena

ligera de SEQ ID NO: 30; b) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:141 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:61; c) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:142 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:4; y d) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:143 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:139.

- 5 También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de la secuencia con SEQ ID NO:31, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56 y 58; y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90% de identidad de la secuencia con SEQ ID NO: 1, 4, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25 y 27. También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada que comprende una región variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 44, 48, 50, 52, 54, 56, y 58 y una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:13, 17, 19, 21, 23, 25, y 27. También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada que comprende una región variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 34, 36, 38, 40 y 42, y una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 4, 7, 9 y 11.

- En este documento se describe una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23, que comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en: a) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:34 o 36 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:4; b) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:38 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 7; c) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:40 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:9; d) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:42 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 11; e) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:44 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:13; f) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:48 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:17; g) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:50 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 19; h) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:52 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:21; i) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:54 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:23; j) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:56 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:25; y k) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:58 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:27.

- 30 También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 humana, en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana consiste de contactos de residuos 30, 31, 32, 49, 50, 52, 53, 56, 92 y 94 de SEQ ID NO:15, en donde los contactos de residuos tienen un valor de diferencia mayor o igual que 10 \AA^2 como se determina por el área superficial expuesta al solvente. Los contactos de residuos pueden comprender residuos 31-35, 54, 58-60, 66, y 101-105 de SEQ ID NO:46.

- 35 También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 humana, en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana consiste de contactos de residuos 31-34, 51, 52, 55, 68, 93 y 98 de SEQ ID NO:1, en donde los contactos de residuos tienen un valor de diferencia mayor o igual que 10 \AA^2 como se determina por el área superficial expuesta al solvente. Los contactos de residuos pueden comprender los residuos 1, 26, 28, 31, 32, 52, 53, 59, 76, 101, 102 y 104-108 de SEQ ID NO:31.

- También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 humana, en donde cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno es 5 \AA o menos de los residuos 32-35, 54, 58-60, 66 y 101-105 de SEQ ID NO:46, como se determina por cristalografía de rayos X. La proteína de unión al antígeno puede ser 5 \AA o menos de los residuos 31-35, 54, 56, 58-60, 66 y 101-105 de SEQ ID NO:46.

- También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 humana, en donde cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno es 5 \AA o menos de los residuos 30-32, 49, 52, 53, 91-94 y 96 de SEQ ID NO:15, como se determina por cristalografía de rayos X.

- 50 La proteína de unión al antígeno puede ser 5 \AA o menos de los residuos 30-32, 49, 50, 52, 53, 56, 91-94 y 96 de SEQ ID NO:15.

También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 humana, en donde cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno es 5 \AA o menos de los residuos 26-28, 31, 53, 59, 102 y 104-108 de SEQ ID NO:31, como se determina por cristalografía de

rayos X. La proteína de unión al antígeno puede ser 5 Å o menos de los residuos 1, 26-28, 30-32, 52, 53, 59, 100, y 102-108 de SEQ ID NO:31.

5 También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 humana, en donde cuando dicha proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, dicha proteína de unión al antígeno es 5 Å o menos de los residuos 31-34, 51, 52, 55, 68 y 93 de SEQ ID NO:1 como se determina por cristalografía de rayos X. La proteína de unión al antígeno puede ser 5 Å o menos de los residuos 29, 31-34, 51, 52, 55, 68, 93 y 100 de SEQ ID NO:1.

10 La proteína de unión al antígeno de la invención es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo multiespecífico, o un fragmento del anticuerpo del mismo. En otra realización el fragmento del anticuerpo es un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un diacuerpo, o una molécula del anticuerpo de cadena sencilla. En incluso otra realización la proteína de unión al antígeno es un anticuerpo humano. En aún otra realización la proteína de unión al antígeno es un anticuerpo monoclonal. En otra realización la proteína de unión al antígeno es del tipo IgG1-, IgG2-IgG3- o IgG4. En incluso otra realización la proteína de unión al antígeno es del tipo IgG1- o IgG2.

15 También se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una proteína de unión al antígeno como se reivindica, en donde el ácido nucleico comprende la SEQ ID NO:32 del ácido nucleico de la región variable de cadena pesada y la SEQ ID NO:2 del ácido nucleico de la región variable de cadena ligera, o la SEQ ID NO:47 del ácido nucleico de la región variable de cadena pesada y la SEQ ID NO:16 del ácido nucleico de la región variable de cadena ligera. También se describe en este documento una molécula de ácido nucleico aislada en donde al
20 menos una región variable de cadena pesada se codifica por una molécula de ácido nucleico aislada seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 35, 37, 39, 41, 43, 45, 49, 51, 53, 55, 57, 59 y 152 y al menos una región variable de cadena ligera se codifica por una molécula de ácido nucleico aislada seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 5, 6, 8, 10, 12, 14, 18, 20, 22, 24, 26, y 28. En otra realización se proporciona una
25 molécula de ácido nucleico que codifica una proteína de unión al antígeno como se reivindica, en donde la molécula de ácido nucleico se une operativamente a una secuencia control. En otra realización se proporciona un vector que comprende una molécula de ácido nucleico como se reivindica. En incluso otra realización se proporciona una célula huésped que comprende la molécula de ácido nucleico como se reivindica. En otra realización se proporciona una célula huésped que comprende el vector reivindicado. En incluso otra realización el polinucleótido aislado es
30 suficiente para uso como una sonda de hibridación, cebador de PCR o cebador de secuenciación que es un fragmento de la molécula de ácido nucleico como se describe anteriormente o su complemento.

También se proporciona un método para fabricar la proteína de unión al antígeno como se reivindica, que comprende la etapa de preparación de dicha proteína de unión al antígeno a partir de una célula huésped que secreta dicha proteína de unión al antígeno.

35 También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 humana, en donde el parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana consiste de un contacto de residuo dentro de los residuos 46-58, un contacto de residuo dentro de los residuos 112-120, y un contacto de residuo dentro de los residuos 155-163 de la subunidad IL-23 p19 humana como se describe en SEQ ID NO:145, en donde el contacto de residuo tiene un valor de diferencia mayor o igual a 10Å² como se determina por el
40 área superficial expuesta al solvente. El parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana pueden comprender uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce o trece contactos de residuos dentro de los residuos 46-58, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez contactos de residuos dentro de los residuos 112-120, y uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve
45 contactos de residuos dentro de los residuos 155-163 de la subunidad IL-23 p19 humana como se describe en SEQ ID NO:145. El parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana puede comprender uno, dos, tres, cuatro o cinco contactos de residuos dentro de los residuos 121-125 de la subunidad de IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147. El parche cubierto formado cuando la
50 proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana pueden comprender los contactos de residuos 46, 47, 49, 50, 53, 112-116, 118, 120, 155, 156, 159, 160, y 163 de SEQ ID NO:145. El parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana puede comprender contactos de residuos 46, 47, 49, 50, 53, 112-118, 120, 155, 156, 159, 160, y 163 de SEQ ID NO:145. El parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana puede comprender residuos 46, 47, 49, 50, 53-55, 57, 58, 112-116, 118-120, 155, 156, 159, 160, 162 y 163 de SEQ ID NO:145. El parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se
55 une a IL-23 humana puede comprender contacto de residuo 122 de la subunidad de IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147. El parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana puede comprender contactos de residuos 122 y 124 de la subunidad de IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147. El parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana

puede comprender contacto de residuo 121-123 y 125 de la subunidad de IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147. El parche cubierto formado cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana puede comprender contacto de residuo 121-123, 125 y 283 de la subunidad de IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147.

5 También se describe en este documento una proteína de unión al antígeno aislada, que une IL-23 humana, en donde cuando dicha proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana dicha proteína de unión al antígeno es 5Å o menos de un residuo dentro de los residuos 46-58, de un residuo dentro de los residuos 112-123, y de un residuo dentro de los residuos 155-163 de la subunidad IL-23p19 humana como se describe en SEQ ID NO:145, como se determina por cristalografía de rayos X. Cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno puede ser 5 Å o menos de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce o trece residuos dentro de los residuos 46-58, de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez, residuos dentro de los residuos 112-123, y de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve residuos dentro de los residuos 155-163 de la subunidad IL-23 p19 humana como se describe en SEQ ID NO:145. Cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno puede ser 5Å o menos de los residuos 46-50, 113-116, 120, 156, 159, 160 y 163 de SEQ ID NO:145. Cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno puede ser 5Å o menos de los residuos 46-50, 112-120, 156, 159, 160 y 163 de SEQ ID NO:145. Cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno puede ser 5Å o menos de los residuos 46-50, 53, 112-120, 156, 159, 160 y 163 de SEQ ID NO:145. Cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno puede ser 5Å o menos de los residuos 46-50, 53-55, 58, 113-116, 120, 121, 156, 159, 160, 162 y 163 de SEQ ID NO:145. Cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno puede ser 5Å o menos de los residuos 46-51, 53-55, 57, 58, 112-116, 118-121, 123, 155, 156, 159, 160, 162 y 163 de SEQ ID NO:145. Cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno puede ser 5Å o menos de un residuo dentro de los residuos 121-125, de la subunidad de IL-23p40 humana como se describe en SEQ ID NO:147, como se determina por cristalografía de rayos X. Cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, dicha proteína de unión al antígeno puede ser 5Å o menos de los residuos 122 y 124 de SEQ ID NO:147. Cuando la proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana, la proteína de unión al antígeno puede ser 5Å o menos de los residuos 121-123 y 125 de SEQ ID NO:147.

30 También se proporciona una proteína de unión al antígeno aislada como se reivindica, en donde la proteína de unión al antígeno tiene al menos una propiedad seleccionada del grupo que consiste en; a) reducir la actividad de IL-23 humana en un ensayo de STAT-luciferasa; b) reducir la producción de una citoquina proinflamatoria; c) tener una velocidad de Koff de $\leq 5 \times 10^{-6}$ 1/s; y d) tener una IC50 de ≤ 400 pM.

35 Se proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos una proteína de unión al antígeno como se reivindica y excipiente farmacéuticamente aceptable. En una realización se proporciona una composición farmacéutica que comprende además un grupo marcador o un grupo efector. En incluso otra realización se proporciona una composición farmacéutica en donde el grupo marcador se selecciona del grupo que consiste en marcadores isotópicos, marcadores magnéticos, unidades estructurales activas redox, tintes ópticos, grupos biotinilados y epítomos polipéptidos predeterminados reconocidos por un indicador secundario. En incluso otra realización se proporciona una composición farmacéutica en donde el grupo efector se selecciona del grupo que consiste en un radioisótopo, radionúclido, una toxina, un grupo terapéutico y un grupo quimioterapéutico.

40 También se proporciona una proteína de unión al antígeno como se reivindica para uso en el tratamiento o prevención de una condición asociada con IL-23 en un paciente, en donde la condición se selecciona del grupo que consiste en un trastorno inflamatorio, un trastorno reumático, un trastorno autoinmune, un trastorno oncológico y un trastorno gastrointestinal, o esclerosis múltiple, artritis reumatoide, cáncer, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso sistémico, artritis psoriásica, miocarditis autoinmune; diabetes tipo 1 y espondilitis anquilosante. En aún otra realización del uso médico, la proteína de unión al antígeno aislada se administra sola o como terapia de combinación

50 También se proporciona una proteína de unión al antígeno como se reivindica para su uso en terapia en donde dicha proteína de unión al antígeno reduce la actividad de IL-23 en un paciente y una proteína de unión al antígeno como se reivindica para uso, en donde dicha actividad de IL-23 induce la producción de una citoquina proinflamatoria.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1A: Resultados del ensayo indicador de STAT-luciferasa utilizando IL-23 humana recombinante. Todos los anticuerpos inhibieron completamente la IL-23 humana recombinante

Figura 1B: Resultados del ensayo indicador STAT-luciferasa utilizando IL-23 humana nativa. Sólo la mitad de los anticuerpos que inhiben completamente la IL-23 humana recombinante fueron capaces de inhibir completamente la IL-23 humana nativa

Descripción detallada

5 La presente invención proporciona composiciones y usos médicos relacionados con proteínas de unión al antígeno de IL-23, incluyendo moléculas que antagonizan la IL-23, tales como anticuerpos anti-IL-23, fragmentos de los anticuerpos y derivados de los anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos anti-IL-23 antagonistas, fragmentos de los anticuerpos o derivados de los anticuerpos. También se proporcionan polinucleótidos y derivados y fragmentos de los mismos que comprenden una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína de unión al antígeno como los plásmidos y vectores reivindicados que comprenden dichos ácidos nucleicos y células o líneas celulares que comprenden tales polinucleótidos y/o vectores y plásmidos. También se proporciona un método para fabricar, las proteínas de unión al antígeno, como se reivindica y uso médico para tratar una afección mediada por IL-23, y para antagonizar una actividad biológica de IL-23, in vivo o in vitro.

15 A menos que se defina de otro modo en este documento, los términos científicos y técnicos utilizados en relación con la presente invención tendrán los significados que comúnmente son entendidos por los expertos en la técnica. Además, a menos que lo exija el contexto, los términos singulares incluirán pluralidades y los términos plurales incluirán lo singular. Generalmente, las nomenclaturas utilizadas en relación con, y las técnicas de cultivo de células y tejidos, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química de proteínas y ácidos nucleicos e hibridación descritas en este documento son las bien conocidas y comúnmente usadas en la técnica. Los métodos y técnicas de la presente invención se realizan generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describen en diversas referencias generales y más específicas que se citan y discuten a lo largo de la presente memoria descriptiva a menos que se indique lo contrario. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2001) and Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates (1992), and Harlow and Lane Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990). Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante, tal como se realiza comúnmente en la técnica o como se describe en este documento. La terminología utilizada en relación con los procedimientos y técnicas de laboratorio de la química analítica, la química orgánica sintética y la química medicinal y farmacéutica descrita en el presente documento son las bien conocidas y comúnmente usadas en la técnica. Las técnicas estándar pueden ser utilizadas para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación y administración, y tratamiento de pacientes.

35 Las secuencias de polinucleótidos y proteínas de la subunidad p19 de la IL-23 humana (SEQ ID NOs: 144 y 145), la subunidad p40 compartida (SEQ ID NOs: 146 y 147), las subunidades heterodiméricas del receptor IL-23 humano IL-12R β 1 (SEQ ID NO: 150 y 151) e IL-23R (SEQ ID NO: 148 y 149), son conocidos en la técnica, véase, por ejemplo, los números de registro GenBank AB030000; M65272, NM_005535, NM_144701, al igual que las de otras especies de mamíferos. Se han descrito o están disponibles a partir de fuentes comerciales proteínas recombinantes del receptor IL-23 e IL-23, incluyendo proteínas de cadena sencilla y Fc, así como células que expresan el receptor de IL-23. (Véase, por ejemplo, Oppmann et al., Immunity, 2000, 13: 713-715; R&D Systems, Minneapolis, Minnesota; United States Biological, Swampscott, Massachusetts; Publicación WIPO No. WO 2007/076524). La IL-23 humana nativa se puede obtener a partir de células humanas tales como células dendríticas utilizando métodos conocidos en la técnica incluyendo los descritos en este documento.

45 La IL-23 es una citoquina heterodimérica compuesta por una subunidad p19 única que está unida covalentemente a una subunidad p40 compartida. La subunidad p19 comprende cuatro α -hélices, "A", "B", "C" y "D" en un motivo arriba-abajo-abajo unido por tres bucles intra-hélice entre las hélices A y B, entre las hélices B y C y entre las hélices C y D, véase Oppmann et al., Immunity, 2000, 13: 713-715 y Beyer, et al., J Mol Biol, 2008, 382(4): 942-55. Se cree que las hélices A y D de 4 citoquinas de haz helicoidal están implicadas con la unión al receptor. La subunidad p40 comprende tres dominios sándwich beta-sheet, D1, D2 y D3 (Lupardus and Garcia, J. Mol. Biol., 2008, 382:931-941).

50 El término "polinucleótido" incluye tanto ácidos nucleicos de cadena sencilla como de cadena doble e incluye ADN genómico, ARN, ARNm, ADNc u origen sintético o alguna combinación de los mismos que no está asociada con secuencias normalmente encontradas en la naturaleza. Los polinucleótidos aislados que comprenden secuencias especificadas pueden incluir, además de las secuencias especificadas, secuencias de codificación para hasta diez o incluso hasta veinte otras proteínas o porciones de las mismas, o pueden incluir secuencias reguladoras unidas operativamente que controlan la expresión de la región codificante de las secuencias de ácido nucleico citadas, y/o pueden incluir secuencias de vectores. Los nucleótidos que comprenden el polinucleótido pueden ser ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos o una forma modificada de cualquiera de los dos tipos de nucleótidos. Las modificaciones incluyen modificaciones de bases tales como bromouridina y derivados de inosina, modificaciones de

ribosa tales como 2',3'-didesoxirribosa, y modificaciones de enlace internucleotídico tales como fosforotioato, fosforoditioato, fosforoselenoato, fosforodiselenoato, fosforoilitioato, fosforaniladato y fosforoamidato.

5 El término "oligonucleótido" significa un polinucleótido que comprende 100 nucleótidos o menos. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos tienen una longitud de 10 a 60 bases. En otras realizaciones, los oligonucleótidos tienen 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 a 40 nucleótidos de longitud. Los oligonucleótidos pueden ser monocatenarios o bicatenarios, por ejemplo, para uso en la construcción de un gen mutante. Los oligonucleótidos pueden ser oligonucleótidos sentido o antisentido. Un oligonucleótido puede incluir un marcador detectable, tal como un radiomarcador, un marcador fluorescente, un hapteno o un marcador antigénico, para ensayos de detección. Los oligonucleótidos se pueden utilizar, por ejemplo, como cebadores de PCR, cebadores de clonación o sondas de hibridación.

10 Los términos "polipéptido" o "proteína" significan una macromolécula que tiene la secuencia de aminoácidos de una proteína nativa, es decir, una proteína producida por una célula natural y no recombinante; o es producida por una célula genéticamente modificada o recombinante, y comprende moléculas que tienen la secuencia de aminoácidos de la proteína nativa, o moléculas que tienen una o más supresiones de, inserciones a, y/o sustituciones de los residuos de aminoácidos de la secuencia nativa. El término también incluye polímeros de aminoácidos en los que uno o más aminoácidos son análogos químicos de un correspondiente aminoácido y polímeros naturales. Los términos "polipéptido" y "proteína" abarcan proteínas de unión al antígeno de IL-23 (tales como anticuerpos) y secuencias que tienen una o más supresiones de, adiciones a, y/o sustituciones de los residuos de aminoácidos de la secuencia de proteína de unión al antígeno. El término "fragmento de polipéptido" se refiere a un polipéptido que tiene una supresión amino terminal, una supresión carboxilo terminal y/o una supresión interna en comparación con la proteína nativa de longitud completa. Dichos fragmentos pueden contener también aminoácidos modificados en comparación con la proteína nativa. En ciertas realizaciones, los fragmentos tienen de aproximadamente cinco a 500 aminoácidos de longitud. Por ejemplo, los fragmentos pueden tener al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 50, 70, 100, 110, 150, 200, 250, 300, 350, 400 o 450 aminoácidos de longitud. Los fragmentos de polipéptidos útiles incluyen fragmentos del anticuerpo inmunológicamente funcional, incluyendo dominios de unión. En el caso de una proteína de unión al antígeno de IL-23, tal como un anticuerpo, los fragmentos útiles incluyen, pero no se limitan a una o más regiones CDR, un dominio variable de una cadena pesada o ligera, una porción de una cadena del anticuerpo, una porción de una región variable que incluye menos de tres CDR, y similares.

30 "Aminoácido" incluye su significado normal en la técnica. Los veinte aminoácidos de origen natural y sus abreviaturas siguen el uso convencional. Véase, Immunology-A Synthesis, 2nd Edition, (E. S. Golub and D. R. Gren, eds.), Sinauer Associates: Sunderland, Mass. (1991). Los estereoisómeros (por ejemplo, D-aminoácidos) de los veinte aminoácidos convencionales, aminoácidos no naturales tales como aminoácidos [alfa]-, [alfa]-disustituidos, aminoácidos N-alquilo y otros aminoácidos no convencionales también pueden ser componentes apropiados para polipéptidos. Ejemplos de aminoácidos no convencionales incluyen: 4-hidroxiprolina, [gamma]-carboxiglutamato, [épsilon]-N,N,N-trimetilisina, [épsilon]-N-acetil lisina, O-fosfoferina, N-acetilserina, N-formilmietionina, 3-metilhistidina, 5-hidroxilisina, [sigma]-N-metilarginina y otros aminoácidos e iminoácidos similares (por ejemplo, 4-hidroxiprolina). En la notación de polipéptido utilizada en este documento, la dirección de la izquierda es la dirección del terminal amino y la dirección de la derecha es la dirección del terminal carboxilo, de acuerdo con el uso y la convención estándar.

40 El término "proteína aislada" se refiere a una proteína, tal como una proteína de unión al antígeno (un ejemplo de la cual podría ser un anticuerpo), que se purifica a partir de proteínas o polipéptidos u otros contaminantes que podrían interferir con sus propiedades terapéuticas, de diagnóstico, profilácticas, de investigación u otro uso. Como se utiliza en este documento, "sustancialmente puro" significa que la especie de molécula descrita es la especie predominante presente, es decir, en una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la misma mezcla. En ciertas realizaciones, una molécula sustancialmente pura es una composición en donde la especie objeto comprende al menos el 50% (sobre una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes. En otras realizaciones, una composición sustancialmente pura comprenderá al menos 80%, 85%, 90%, 95%, o 99% de todas las especies macromoleculares presentes en la composición. En ciertas realizaciones, una sustancia esencialmente homogénea se ha purificado hasta un grado tal que las especies contaminantes no pueden ser detectadas en la composición por métodos de detección convencionales y por lo tanto la composición consiste en una única especie macromolecular detectable.

55 Una "variante" de un polipéptido (por ejemplo, una proteína de unión al antígeno tal como un anticuerpo) comprende una secuencia de aminoácidos en donde uno o más residuos de aminoácidos se insertan en, se suprimen de y/o se sustituyen en la secuencia de aminoácidos relativa a otra secuencia de polipéptidos. Las variantes incluyen proteínas de fusión. Un "derivado" de un polipéptido es un polipéptido que se ha modificado químicamente de alguna manera distinta de las variantes de inserción, supresión o sustitución, por ejemplo, mediante la conjugación con otra unidad estructural química.

Los términos "natural" o "nativo" como se utilizan a lo largo de la memoria descriptiva en relación con materiales biológicos tales como polipéptidos, ácidos nucleicos, células huésped y similares, se refieren a materiales que se encuentran en la naturaleza, tales como IL-23 humana nativa. En ciertos aspectos, se proporcionan proteínas de unión al antígeno recombinantes que se unen a IL-23 nativa. En este contexto, una "proteína recombinante" es una proteína fabricada utilizando técnicas recombinantes, esto es, a través de la expresión de un ácido nucleico recombinante como se describe en este documento. Los métodos y técnicas para la producción de proteínas recombinantes son bien conocidos en la técnica.

El término "anticuerpo" se refiere a una inmunoglobulina intacta de cualquier isotipo o un fragmento del mismo que pueda competir con el anticuerpo intacto para la unión específica al antígeno diana e incluye, por ejemplo, anticuerpos quimérico, humanizado, completamente humano y biespecíficos. Un anticuerpo como tal es una especie de una proteína de unión al antígeno. A menos que se indique otra cosa, el término "anticuerpo" incluye, además de los anticuerpos que comprenden dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas ligeras de longitud completa, derivados, variantes, fragmentos y muteínas de los mismos, ejemplos de los cuales se describen a continuación. Un anticuerpo intacto comprenderá generalmente al menos dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas ligeras de longitud completa, pero en algunos casos puede incluir menos cadenas, tales como anticuerpos naturales en camélidos que pueden comprender solamente cadenas pesadas. Los anticuerpos se pueden derivar únicamente de una única fuente, o pueden ser "quiméricos", es decir, se pueden derivar diferentes porciones del anticuerpo a partir de dos anticuerpos diferentes como se describe más adelante. Las proteínas de unión al antígeno, anticuerpos o fragmentos de unión se pueden producir en hibridomas, mediante técnicas de ADN recombinante, o por división enzimática o química de los anticuerpos intactos.

El término "fragmento funcional" (o simplemente "fragmento") de un anticuerpo o cadena de inmunoglobulina (cadena pesada o ligera), tal como se utiliza en este documento, es una proteína de unión al antígeno que comprende una porción (independientemente de cómo se obtiene o sintetiza esa porción) de un anticuerpo que carece de al menos algunos de los aminoácidos presentes en una cadena de longitud completa pero que es capaz de unirse específicamente a un antígeno. Tales fragmentos son biológicamente activos porque se unen específicamente al antígeno diana y pueden competir con otras proteínas de unión al antígeno, incluyendo anticuerpos intactos, para la unión específica a un epítipo dado. En un aspecto, tal fragmento conservará al menos una CDR presente en la cadena ligera o pesada de longitud completa, y en algunas realizaciones comprenderá una única cadena pesada y/o cadena ligera o parte de la misma. Estos fragmentos biológicamente activos se pueden producir mediante técnicas de ADN recombinante, o se pueden producir por escisión enzimática o química de proteínas de unión al antígeno, incluyendo anticuerpos intactos. Los fragmentos incluyen, pero no se limitan a, fragmentos inmunológicamente funcionales tales como Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos de dominio y anticuerpos de cadena única, y se pueden derivar de cualquier fuente de mamífero, incluyendo, pero sin limitarse a humano, ratón, rata, camélido o conejo. Se contempla además que una porción funcional de las proteínas de unión al antígeno descritas en este documento, por ejemplo, una o más CDR, podría unirse covalentemente a una segunda proteína o a una molécula pequeña para crear un agente terapéutico dirigido a un objetivo particular en el cuerpo, que poseen propiedades terapéuticas bifuncionales, o que tienen una semivida en suero prolongada.

El término "competir" cuando se utiliza en el contexto de proteínas de unión al antígeno (por ejemplo, proteínas neutralizantes de unión al antígeno o anticuerpos neutralizantes) significa la competencia entre las proteínas de unión al antígeno como se determina mediante un ensayo en el cual la proteína de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpo o fragmento inmunológicamente funcional del mismo) bajo ensayo previene o inhibe la unión específica de una proteína de unión al antígeno de referencia (por ejemplo, un ligando o un anticuerpo de referencia) a un antígeno común (por ejemplo, una proteína IL-23 o un fragmento de la misma). Se pueden utilizar numerosos tipos de ensayos de unión competitiva, por ejemplo: radioinmunoensayo directo o indirecto en fase sólida (RIA), inmunoensayo enzimático directo o indirecto en fase sólida (EIA), ensayo de competición en sándwich (véase, por ejemplo, Stahli et al., 1983, *Methods in Enzymology* 92:242-253); EIA de biotina-avidina directa en fase sólida (véase, por ejemplo, Kirkland et al., 1986, *J. Immunol.* 137:3614-3619) ensayo de marcación directa en fase sólida, ensayos en sándwich marcación directa en fase sólida (véase, por ejemplo, Harlow and Lane, 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); RIA de marcación directa en fase sólida utilizando el marcador I-125 (véase, por ejemplo, Morel et al., 1988, *Molec. Immunol.* 25:7-15); EIA de biotina-avidina directa en fase sólida (véase, por ejemplo, Cheung, et al., 1990, *Virology* 176:546-552); y RIA marcación directamente (Moldenhauer et al., 1990, *Scand. J. Immunol.*, 32: 77-82). Por lo general, dicho ensayo implica el uso de antígeno purificado unido a una superficie sólida o células que portan cualquiera de estas, una proteína de unión al antígeno de prueba no marcada y una proteína de unión al antígeno de referencia marcada.

La inhibición competitiva se mide mediante la determinación de la cantidad de marcador unido a la superficie sólida o células en presencia de la proteína de unión al antígeno de prueba. Normalmente, la proteína de unión al antígeno de prueba está presente en exceso. Las proteínas de unión al antígeno identificadas por el ensayo de competición (proteínas de unión al antígeno competidoras) incluyen proteínas de unión al antígeno que se unen al mismo epítipo que las proteínas de unión al antígeno de referencia y las proteínas de unión al antígeno que se unen a un epítipo

adyacente suficientemente proximal al epítipo unido por la proteína de unión al antígeno de referencia para impedimento estérico. Generalmente, cuando una proteína competidora de unión al antígeno está presente en exceso, inhibirá la unión específica de una proteína de unión al antígeno de referencia a un antígeno común al menos en un 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% o 75%. En algún caso, la unión se inhibe al menos en un 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más.

El término "epítipo" o "determinante antigénico" se refiere a un sitio sobre un antígeno al que se une una proteína de unión al antígeno. Los epítipos se pueden formar tanto a partir de aminoácidos contiguos como de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos por el plegamiento terciario de una proteína. Los epítipos formados a partir de aminoácidos contiguos son por lo general retenidos por exposición a solventes desnaturalizantes, mientras que los epítipos formados por plegamiento terciario se pierden por lo general en el tratamiento con solventes desnaturalizantes. Los determinantes de epítipo pueden incluir agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, grupos fosforilo o sulfonilo, y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características de carga específicas. Un epítipo incluye por lo general al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35 aminoácidos en una conformación espacial única. Los epítipos se pueden determinar utilizando métodos conocidos en la técnica.

Proteínas de unión de antígeno IL-23

Una "proteína de unión al antígeno" como se utiliza en este documento significa una proteína que se une específicamente a un antígeno diana especificado; el antígeno como se proporciona en este documento es IL-23, particularmente IL-23 humana, incluyendo IL-23 humana nativa. Las proteínas de unión al antígeno, como se proporcionan en este documento, interactúan con al menos una porción de la única subunidad p19 de IL-23, que se une de forma detectable a IL-23; pero no se unen con ninguna significación a IL-12 (por ejemplo, las subunidades p40 y/o p35 de IL-12), así "IL-12 de reserva". Como consecuencia, las proteínas de unión al antígeno proporcionadas en este documento son capaces de impactar la actividad de IL-23 sin los riesgos potenciales de que pudiera incurrir la inhibición de la IL-12 o la subunidad p40 compartida. Las proteínas de unión al antígeno pueden impactar la capacidad de IL-23 de interactuar con su receptor, por ejemplo, impactando la unión al receptor, tal como interfiriendo con la asociación del receptor. En particular, tales proteínas de unión al antígeno reducen total o parcialmente, inhiben, interfieren con o modulan una o más actividades biológicas de IL-23. Dicha inhibición o neutralización interrumpe una respuesta biológica en la presencia de la proteína de unión al antígeno en comparación con la respuesta en ausencia de la proteína de unión al antígeno y se puede determinar utilizando ensayos conocidos en la técnica y descritos en este documento. Las proteínas de unión al antígeno proporcionadas en este documento inhiben la producción de citoquinas proinflamatorias inducidas por IL-23, por ejemplo, producción de IL-22 inducida por IL-23 en células de sangre entera y expresión de IFN γ inducida por IL-23 en NK y células de sangre total. La reducción de la actividad biológica puede ser de aproximadamente 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más.

Una proteína de unión al antígeno puede comprender una porción que se une a un antígeno y, opcionalmente, una porción de andamio o marco que permite que la porción de unión al antígeno adopte una conformación que promueva la unión de la proteína de unión al antígeno con el antígeno. Ejemplos de proteínas de unión al antígeno incluyen anticuerpos, fragmentos del anticuerpo (por ejemplo, una porción de unión al antígeno de un anticuerpo), derivados de los anticuerpos y análogos de los anticuerpos. La proteína de unión al antígeno puede comprender un andamio de proteína alternativo o un andamio artificial con CDR injertados o derivados de CDR. Dichos andamios incluyen, pero no se limitan a, andamios derivados de los anticuerpos que comprenden mutaciones introducidas, por ejemplo, para estabilizar la estructura tridimensional de la proteína de unión al antígeno, así como andamios completamente sintéticos que comprenden, por ejemplo, un polímero biocompatible. Véase, por ejemplo, Korndorfer et al., *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, (2003) Volumen 53, Número 1:121-129; Roque et al., *Biotechnol. Prog.*, 2004, 20:639-654. Además, se pueden utilizar miméticos de los anticuerpos peptídicos ("PAM"), así como andamios basados en miméticos de los anticuerpos que utilizan componentes de fibronectina como un andamio.

Ciertas proteínas de unión al antígeno descritas en este documento son anticuerpos o se derivan de los anticuerpos. Tales proteínas de unión al antígeno incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos biespecíficos, minicuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos sintéticos, miméticos de los anticuerpos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, fusiones de los anticuerpos, conjugados de los anticuerpos, anticuerpos de cadena única y fragmentos de los mismos, respectivamente. En algunos casos, la proteína de unión al antígeno es un fragmento inmunológico de un anticuerpo (por ejemplo, un Fab, un Fab', un F(ab')₂ o un scFv). Las diferentes estructuras se describen y definen adicionalmente en este documento.

Ciertas proteínas de unión al antígeno pueden comprender una o más CDR tal como se describe en este documento (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más CDR). En algunos casos, la proteína de unión al antígeno comprende (a) una estructura de polipéptido y (b) una o más CDR que se insertan en y/o se unen a la estructura de polipéptido. La

estructura del polipéptido puede tomar una variedad de formas diferentes. Por ejemplo, puede ser, o comprender, el marco de un anticuerpo natural, o fragmento o variante del mismo, o puede ser de naturaleza completamente sintética. A continuación, se describen con más detalle ejemplos de diversas estructuras de polipéptidos.

5 Se dice que una proteína de unión al antígeno de la invención "une específicamente" su antígeno diana cuando la constante de equilibrio de disociación (KD) es $\leq 10^{-8}$ M. La proteína de unión al antígeno se une específicamente al antígeno con "alta afinidad" KD es $\leq 5 \times 10^{-9}$ M y con "afinidad muy alta" cuando la KD es $\leq 5 \times 10^{-10}$ M. En una realización la proteína de unión al antígeno se unirá a la IL-23 humana con una KD de $\leq 5 \times 10^{-12}$ M y, en otra realización, se unirá con una KD $\leq 5 \times 10^{-13}$ M. En otra realización de la invención, la proteína de unión al antígeno tiene una KD de $\leq 5 \times 10^{-12}$ M y una Koff de aproximadamente $\leq 5 \times 10^{-6}$ 1/s. En otra realización, la Koff es $\leq 5 \times 10^{-7}$ 1/s.

10 Otro aspecto proporciona una proteína de unión al antígeno que tiene una semivida de al menos un día in vitro o in vivo (por ejemplo, cuando se administra a un sujeto humano). En una realización, la proteína de unión al antígeno tiene una semivida de al menos tres días. En otra realización, el anticuerpo o porción de la misma tiene una semivida de cuatro días o más. En otra realización, el anticuerpo o parte del mismo tiene una semivida de ocho días o más. En otra realización, el anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo es derivado o modificado de manera que tiene una semivida más larga en comparación con el anticuerpo no derivado o no modificado. En otra realización, la proteína de unión al antígeno contiene mutaciones puntuales para aumentar la semivida del suero, tal como se describe en la Publicación de la OMPI No. WO 00/09560.

15 En las realizaciones donde la proteína de unión al antígeno se utiliza para aplicaciones terapéuticas, una proteína de unión al antígeno puede reducir, inhibir, interferir con o modular una o más actividades biológicas de IL-23, induciendo la producción de citoquinas proinflamatorias. La IL-23 tiene muchos efectos biológicos distintos, que pueden medirse en muchos ensayos diferentes en diferentes tipos de células; ejemplos de tales ensayos y conocidos y se proporcionan en este documento.

20 Algunas de las proteínas de unión al antígeno que se proporcionan tienen la estructura por lo general asociada con anticuerpos naturales. Las unidades estructurales de estos anticuerpos comprenden por lo general uno o más tetrámeros, cada uno compuesto por dos dúplex idénticos de cadenas de polipéptidos, aunque algunas especies de mamíferos también producen anticuerpos que tienen solamente una única cadena pesada. En un anticuerpo típico, cada par o dúplex incluye una cadena "ligera" de longitud completa (en ciertas realizaciones, aproximadamente 25 kDa) y una cadena "pesada" de longitud completa (en ciertas realizaciones, aproximadamente 50-70 kDa). Cada cadena de inmunoglobulina individual está compuesta de varios "dominios de inmunoglobulina", cada uno consistente de aproximadamente 90 a 110 aminoácidos y expresando un patrón de plegado característico. Estos dominios son las unidades básicas de las que están compuestos los polipéptidos de los anticuerpos. La porción amino-terminal de cada cadena incluye por lo general una región variable que es responsable del reconocimiento del antígeno. La parte carboxi-terminal está más conservada evolutivamente que el otro extremo de la cadena y se denomina "región constante" o región "C". Las cadenas ligeras humanas generalmente se clasifican como cadenas ligeras kappa y lambda, y cada una de ellas contiene una región variable y un dominio constante (CL1).z Las cadenas pesadas se clasifican por lo general como cadenas mu, delta, gamma, alfa o épsilon, y estas definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, respectivamente. IgG tiene varios subtipos, incluyendo, pero no limitado a, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Los subtipos IgM incluyen IgM1 e IgM2. Los subtipos de IgA incluyen IgA1 e IgA2. En humanos, los isotipos IgA e IgD contienen cuatro cadenas pesadas y cuatro cadenas ligeras; los isotipos IgG e IgE contienen dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras; y el isotipo IgM contiene cinco cadenas pesadas y cinco cadenas ligeras. La región constante de cadena pesada (CH) comprende por lo general uno o más dominios que pueden ser responsables de la función efectora. El número de dominios de regiones constantes de cadena pesada dependerá del isotipo. Las cadenas pesadas de IgG, por ejemplo, contienen cada una tres dominios de región CH conocidas como CH1, CH2 y CH3. Los anticuerpos que se proporcionan pueden tener cualquiera de estos isotipos y subtipos, por ejemplo, la proteína de unión al antígeno de IL-23 es del subtipo IgG1, IgG2 o IgG4. Si se desea una IgG4, también se puede desear introducir una mutación puntual (CPSCP-> CPPCP) en la región bisagra como se describe en Bloom et al., 1997, Protein Science 6:407) para aliviar una tendencia a formar enlaces disulfuro de cadena intra-H que pueden conducir a la heterogeneidad en los anticuerpos IgG4. Los anticuerpos proporcionados en este documento que son de un tipo pueden cambiarse a un tipo diferente utilizando métodos de conmutación de subclase. Véase, por ejemplo, Lantto et al., 2002, Methods Mol. Biol. 178: 303-316.

25 En cadenas ligeras y pesadas de longitud completa, las regiones variables y constantes se unen por una región "J" de aproximadamente doce o más aminoácidos, incluyendo la cadena pesada también una región "D" de aproximadamente diez aminoácidos más. Véase, por ejemplo, Fundamental Immunology, 2nd ed., Ch. 7 (Paul, W., ed.) 1989, New York: Raven Press. Las regiones variables de cada par de cadena ligera/pesada forman por lo general el sitio de unión al antígeno.

Regiones variables descritas y/o reivindicadas

- 5 Diversas regiones variables (o dominios) de cadena pesada y de cadena ligera descritas y/o reivindicadas en este documento están representadas en las Tablas 1 y 2. Cada una de estas regiones variables puede estar unida, por ejemplo, a regiones constantes de cadena pesada y ligera descritas anteriormente. Además, cada una de las secuencias de cadena pesada y ligera así generadas se pueden combinar para formar una estructura completa de proteína de unión al antígeno.
- 10 Las proteínas descritas y/o reivindicadas en el presente documento son proteínas de unión al antígeno que contienen al menos una región variable de cadena pesada (VH) seleccionada del grupo que consiste en VH1, VH2, VH3, VH4, VH5, VH6, VH7, VH8, VH9, VH10, VH11, VH12, VH13, VH14, VH15 y VH16 y/o al menos una región variable de cadena ligera (VL) seleccionadas del grupo que consiste en VL1, VL2, VL3, VL4, VL5, VL6, VL7, VL8, VL9, VL10, VL11, VL12, VL13, VL14, VL15, y VL16 como se muestra en las Tablas 1 y 2, a continuación.
- 15 Cada una de las regiones variables de la cadena pesada enumeradas en la Tabla 2 se puede combinar con cualquiera de las regiones variables de la cadena ligera mostradas en la Tabla 1, para formar una proteína de unión al antígeno. En algunos casos, la proteína de unión al antígeno incluye al menos una región variable de cadena pesada y/o una región variable de cadena ligera de las enumeradas en las Tablas 1 y 2. En algunos casos, la proteína de unión al antígeno incluye al menos dos regiones variables de cadena pesada diferentes y/o regiones variables de cadena ligera de las enumeradas en las Tablas 1 y 2. Las diversas combinaciones de regiones variables de cadena pesada pueden combinarse con cualquiera de las diversas combinaciones de regiones variables de cadena ligera.
- 20 En otros casos, la proteína de unión al antígeno contiene dos regiones variables idénticas de cadena ligera y/o dos regiones variables de cadena pesada idénticas. Como ejemplo, la proteína de unión al antígeno puede ser un anticuerpo o fragmento inmunológicamente funcional que comprende dos regiones variables de cadena ligera y dos regiones variables de cadena pesada en combinaciones de pares de regiones variables de cadena ligera y pares de regiones variables de cadena pesada enumeradas en las Tablas 1 y 2. Ejemplos de tales proteínas de unión al antígeno que comprenden dos regiones variables de cadena pesada y cadena ligera idénticas incluyen: Anticuerpo A VH14/VL14; Anticuerpo B VH9/VL9; Anticuerpo C VH10/VL10; Anticuerpo D VH15/VL15; Anticuerpo E VH1/VL1, Anticuerpo F VH11/VL11; Anticuerpo G VH12/VL12; Anticuerpo H VH13/VL13; Anticuerpo I VH8/VL8; Anticuerpo J VH3/VL3; Anticuerpo K VH7/VL7; Anticuerpo L VH4/VL4; Anticuerpo M VH5/VL5 y Anticuerpo N VH6/VL6.
- 25 Algunas proteínas de unión al antígeno que se describen comprenden una región variable de cadena pesada y/o una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia de una región variable de cadena pesada y/o una región variable de cadena ligera seleccionada de las Tablas 1 y 2 a sólo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 residuos de aminoácidos, en donde cada una de tales diferencias de secuencia es independientemente una supresión, Inserción o sustitución de un aminoácido. Las regiones variables de la cadena ligera y pesada, en algunas proteínas de unión al antígeno, comprenden secuencias de aminoácidos que tienen al menos el 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con las secuencias de aminoácidos proporcionadas en los Tablas 1 y 2. Todavía otras proteínas de unión al antígeno, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos inmunológicamente funcionales, también incluyen formas de región de cadena pesada variante y/o formas de región de cadena ligera variante como se describe en este documento.
- 30
- 35
- 40 El término "identidad" se refiere a una relación entre las secuencias de dos o más moléculas de polipéptidos o dos o más polinucleótidos, como se determina alineando y comparando las secuencias. "Porcentaje de identidad" significa el porcentaje de residuos idénticos entre los aminoácidos o nucleótidos en las moléculas comparadas y se calcula basándose en el tamaño de la más pequeña de las moléculas que se comparan.

TABLA 1
Secuencias de región de cadena ligera variante de ejemplo

| | FR1 | CDRL1 | FR2 | CDRL2 | FR3 | CDRL3 | FR4 |
|-------------------|--|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| V _L 1 | QSVLTQPPSVSGAPGQQRVTISCTGSSSNTGAGYDVHWYQQVPGTAPKLLIYGSGNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGWFVGGGTRLTVL | | | | | | |
| SEQ ID NO:1 | | | | | | | |
| V _L 2 | QSVLTQPPSVSGAPGQQRVTISCTGSSSNTGAGYDVHWYQQVPGTAPKLLIYGSGNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGWFVGGGTRLTVL | | | | | | |
| SEQ ID NO:3 | | | | | | | |
| V _L 3 | QAVLTQPPSSLSASPGASASLTC TLRS GINVGTYRIYIYYQQKPGSPPYLLR YKSDSDKQQG SGVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYC MIWHSSASV FGGGKLTVL | | | | | | |
| SEQ ID NO:4 | | | | | | | |
| V _L 4 | QAVLTQPPSSLSASPGASASLTC TLRS GINVGTYRIYIYYQQKPGSPPYLLR YKSDSDKQQG SGVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYC MIWHSSASV FGGGKLTVL | | | | | | |
| SEQ ID NO:4 | | | | | | | |
| V _L 5 | QPVLTPSSSASLGASVTLTC TLNS GYSYKVDWYQQRPKGKPRFVMRV GTGGVGS KGGIPDRFVLSGLNRYLTIKNIQEEDESDYHC GADHGS GNFVYVFGTGKVTVL | | | | | | |
| SEQ ID NO:7 | | | | | | | |
| V _L 6 | QPVLTPSSSASLGASVTLTC TLNS GYSYKVDWYQQRPKGKPRFVMRV GTGGVGS KGGIPDRFVLSGLNRYLTIKNIQEEDESDYHC GADHGS GNFVYVFGTGKVTVL | | | | | | |
| SEQ ID NO:9 | | | | | | | |
| V _L 7 | QPELTQPPSASLGASVTLTC TLNS GYSYKVDWYQRLRPGKPRFVMRV GTGGVGS KGGIPDRFVLSGLNRYLTIKNIQEEDESDYHC GADHGS GNFVYVFGTGKVTVL | | | | | | |
| SEQ ID NO:11 | | | | | | | |
| V _L 8 | DIQLTPSSSVSASVGDRVTITC CRAS QGIAGWLAWYQQKPGKAPKLLIYA AAS LQSGVPSRFSGSGSGDFTLTISLQPEDFATYYC QQADS FPPTFGGGTKVEIK | | | | | | |
| SEQ ID NO:13 | | | | | | | |
| V _L 9 | DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC CRAS QVISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA AAS LQSGVPSRFSGSGSGDFTLTISLQPEDFATYYC QQANS FPPTFGPGTKVDFK | | | | | | |
| SEQ ID NO:15 | | | | | | | |
| V _L 10 | DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC CRAS QGSWFAWYQQKPGKAPKLLIYA AAS LQSGVPSRFSGSGSGDFTLTISLQPEDFATYYC QQANS FPPTFGPGTKVDIK | | | | | | |
| SEQ ID NO:17 | | | | | | | |
| V _L 11 | DSQMTQSPSSVSASVGDRVTITC CRAS QGISWFAWYQQKPGQAPNLLIYA AAS LQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC QQANS FPPTFGPGTKVDIK | | | | | | |
| SEQ ID NO:19 | | | | | | | |
| V _L 12 | DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC CRAG QVISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA AAS LQSGVPSRFSGSGSGDFTLTISLQPDDFATYYC QQATS FPLTFGGGTKVEIK | | | | | | |
| SEQ ID NO:21 | | | | | | | |
| V _L 13 | DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC CRAS QGFSGWLAWYQQKPGKAPKLLIYA AAS LQSGVPSRFSGSGSGDFTLTISLQPEDFATYYC QQANS FPPTFGPGTKVDIK | | | | | | |
| SEQ ID NO:23 | | | | | | | |
| V _L 14 | DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITC CRAS QVISSWFAWYQQKPGKAPNLLIYA AAS LQSGVPSRFSGSGSGDFTLTISLQPADFATYYC QQANS FPPTFGPGTKVDK | | | | | | |
| SEQ ID NO:25 | | | | | | | |
| V _L 15 | DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC CRAS QGSWFAWYQQKPGKAPKLLIYA AAS LQSGVPSRFSGSGSGDFTLTISLQPEDFATYYC QQANS FPPTFGPGTKVDIK | | | | | | |
| SEQ ID NO:27 | | | | | | | |
| V _L 16 | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC CRAS QGI RND LGWYQQKPGKAPKRLIYA AAS LQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYC LQHNS YPPFTFGGKVEIE | | | | | | |
| SEQ ID NO:29 | | | | | | | |

TABLA 2
Secuencias de región de cadena pesada variante de ejemplo

| | FR1 | CDRH1 | FR2 | CDRH2 | FR3 | CDRH3 | FR4 |
|-------------------|----------------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------|------------|-------------------|
| V _H 1 | QVQLVESGGGVVQPGKSLRSLRSCAASGFTFS | SYGMHWVRQAPGKLEWVA | VIWYDGSN | YIADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN | SLRAEDTAVYYCAR | DRGYTSSWY | DAFDWVGQGTMTVSS |
| V _H 2 | QVQLVESGGGVVQPGKSLRSLRSCAASGFTFS | SYGMHWVRQAPGKLEWVA | VIWYDGSN | YIADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN | SLRAEDTAVYYCAR | DRGYTSSWY | DAFDWVGQGTMTVSS |
| V _H 3 | QVQLVESGGGVVQPGKSLRSLRSCAASGFTFS | SYGMHWVRQAPGKLEWVA | VISFDGSLK | YIADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN | SLRAEDTAVYYCAR | ERTTSLSGSY | FDWVGQGTMTVSS |
| V _H 4 | QVQLVESGGGVVQPGKSLRSLRSCAASGFTFS | SYAMHWVRQAPGKLEWV | SVSHDGSIK | YIADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN | SLRAEDTAVYYCAR | ERTTSLSGSY | FDWVGQGTMTVSS |
| V _H 5 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLRSCAASGFTFS | SYSMWVRQAPGKLEWV | YISSRSSTI | YIADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN | SLRDEDTAVYYCARR | IAAGGFHY | YALDWDWVGQGTMTVSS |
| V _H 6 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLRSCAASGFTFS | SYSMWVRQAPGKLEWV | YISSSSSTR | YHADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN | SLRDEDTAVYYCARR | IAAGPWG | YIYAMDWVGQGTMTVSS |
| V _H 7 | EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLRSCVSGFTFS | SFPMWVRQAPGKLEWV | YISSRSSTI | YIADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMN | SLRDEDTAVYYCARR | IAAGPWG | YIYAMDWVGQGTMTVSS |
| V _H 8 | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSIS | TYWVWIRQHPGKLEWIGL | YIYSGSTN | YIYNSLKRVTISVDTSKNQFSLK | LSVTAADTAVYYCAR | DRGYIYGV | DWVGQGTMTVSS |
| V _H 9 | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSIS | SGGYWVWIRQHPGKLEWIG | HIHYSGNT | YIYNSLKRVTISVDTSKNQFSLK | LSVTAADTAVYYCAK | NRGFYIYGV | DWVGQGTMTVSS |
| V _H 10 | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSIS | SGGYWVWIRQHPGKLEWIG | YIYSGSTN | YIYNSLKRVTISVDTSKNQFSLK | LSVTAADTAVYYCAR | DRGHYIYGV | DWVGQGTMTVSS |
| V _H 11 | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSIS | SGGYWVWIRQHPGKLEWIG | YIYSGSTN | YIYNSLKRVTISVDTSKNQFSLK | LSVTAADTAVYYCAR | DRGHYIYGV | DWVGQGTMTVSS |
| V _H 12 | QVQLQESGPRLVKPSSETLSLCTVSGDSIS | SYFVWVWIRQHPGKLEWIG | YIYSGSTN | YIYNSLKRVTISVDTSKNQFSLK | LSVTAADTAVYYCTR | DRGSYIYGV | DWVGQGTMTVSS |
| V _H 13 | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSIS | SGGYWVWIRQHPGKLEWIG | YIYSGSTN | YIYNSLKRVTISVDTSKNQFSLK | LSVTAADTAVYYCAR | NRGYIYGV | DWVGQGTMTVSS |
| V _H 14 | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSIS | SGGYWVWIRQHPGKLEWIG | YIYSGSTN | YIYNSLKRVTISVDTSKNQFSLK | LSVTAADTAVYYCAK | NRGFYIYGV | DWVGQGTMTVSS |
| V _H 15 | QVQLQESGPGLVKPSSETLSLCTVSGGSIS | SGGYWVWIRQHPGKLEWIG | YIYSGSTN | YIYNSLKRVTISVDTSKNQFSLK | LSVTAADTAVYYCAR | DRGHYIYGV | DWVGQGTMTVSS |
| V _H 16 | QVQLVESGGGVVQPGKSLRSLRSCAASGFTFS | SYGMHWVRQAPGKLEWVA | VIWYDGSN | YIADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMN | SLRAEDTAVYYCARE | NTVIYIYGV | DWVGQGTMTVSS |
| V _L 16 | DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQGI | RNDLGYWYQKPKAPKRLIYA | AASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTL | TISSLPEDFATYYCLQ | HNSYPPTFGQGT | KVEIE | |

- Para estos cálculos, las brechas en alineaciones (si las hay) deben ser abordadas por un modelo matemático o programa informático particular (esto es, un "algoritmo"). Los métodos que se pueden utilizar para calcular la identidad de los ácidos nucleicos o polipéptidos alineados incluyen los descritos en Computational Molecular Biology, (Lesk, A. M., ed.), 1988, New York: Oxford University Press; Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith, D. W., ed.), 1993, New York: Academic Press; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.), 1994, New Jersey: Humana Press; von Heinje, G., 1987, Sequence Analysis in Molecular Biology, New York: Academic Press; Sequence Analysis Primer, (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; y Carillo et al., 1988, SIAM J. Applied Math. 48:1073.
- 5
- 10 Al calcular el porcentaje de identidad, las secuencias que se comparan están alineadas de una manera que da la coincidencia más grande entre las secuencias. El programa informático utilizado para determinar el porcentaje de identidad es el paquete de programas GCG, que incluye GAP (Devereux et al., 1984, Nucl. Acid Res. 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI). El algoritmo de ordenador GAP se utiliza para alinear los dos polipéptidos o polinucleótidos para los que se ha de determinar el porcentaje de identidad de secuencia. Las secuencias están alineadas para la adaptación óptima de su respectivo aminoácido o nucleótido (el "intervalo coincidente", según lo determinado por el algoritmo). Una penalización de apertura de brecha (que se calcula como 3x la diagonal media, en donde la "diagonal media" es la media de la diagonal de la matriz de comparación que se utiliza, la "diagonal" es la puntuación o el número asignado a cada aminoácido perfecto partido por la matriz de comparación particular) y una penalización de extensión de brecha (que normalmente es 1/10 veces la penalización de apertura de espacio), así como una matriz de comparación tal como PAM 250 o BLOSUM 62 se utilizan junto con el algoritmo. En ciertas realizaciones, también es utilizada por el algoritmo una matriz de comparación estándar (véase Dayhoff et al., 1978, Atlas of Protein Sequence and Structure 5:345-352 para la matriz de comparación PAM 250, Henikoff et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:10915-10919 para la matriz de comparación BLOSUM 62).
- 15
- 20
- 25 Los parámetros recomendados para determinar el porcentaje de identidad de polipéptidos o secuencias de nucleótidos utilizando el programa GAP son los siguientes: Algoritmo: Needleman et al., 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453; Matriz de comparación: BLOSUM 62 de Henikoff et al., 1992, supra; penalización de la brecha: 12 (pero sin penalización para las brechas finales), penalización de la longitud de la brecha: 4, umbral de similitud: 0. Ciertos

- 5 esquemas de alineación para alinear dos secuencias de aminoácidos pueden resultar en coincidencia sólo de una región corta de las dos secuencias y esta pequeña región alineada puede tener identidad de secuencia muy alta a pesar de que no hay relación significativa entre las dos secuencias de longitud completa. Por consiguiente, el método de alineación seleccionado (programa GAP) se puede ajustar si se desea para dar como resultado una alineación que abarca por lo menos 50 aminoácidos contiguos del polipéptido diana.
- Las regiones variables de cadena pesada y ligera descritas en este documento incluyen secuencias de consenso derivadas de grupos de proteínas de unión al antígeno relacionadas. Las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadena pesada y ligera se analizaron en cuanto a similitudes. Cuatro grupos surgieron, un grupo que tiene la región variable kappa de cadena ligera, (V_{H9}/V_{L9}, V_{H10}/V_{L10}, V_{H11}/V_{L11}, V_{H13}/V_{L13}, V_{H14}/V_{L14} y V_{H15}/V_{L15}) y tres grupos que tienen regiones variables lambda de cadena ligera: grupo lambda 1 (V_{H5}/V_{L5}, V_{H6}/V_{L6} y V_{H7}/V_{L7}), grupo lambda 2 (V_{H3}/V_{L3} y V_{H4}/V_{L4}), y grupo lambda 3 (V_{H1}/V_{L1} y V_{H2}/V_{L2}). Las líneas germinales de cadena ligera representadas incluyen VK1/A30 y VK1/L19. Las líneas germinales de cadena ligera lambda representadas incluyen VL1/1e, VL3/3p, VL5/5c y VL9/9a. Las líneas germinales de cadena pesada representadas incluyen VH3/3-30, VH3/3-30,3, VH3/3-33, VH3/3-48, VH4/4-31 y VH4/4-59. Como se utiliza en este documento, una "secuencia de consenso" se refiere a secuencias de aminoácidos que tienen aminoácidos conservadas comunes entre un número de secuencias y aminoácidos variables que varían dentro de las secuencias de aminoácidos dadas. Las secuencias de consenso se pueden determinar utilizando análisis filogenéticos estándar de las regiones variables de cadena ligera y pesada correspondientes a las proteínas de unión al antígeno de IL-23 descritas en este documento.
- 20 La secuencia de consenso de la región variable de cadena ligera para el grupo kappa es DX₁QX₂TQSPSSVSASVGDVRTITCRASQGX₃X₄SX₅WX₆AWYQQKPGX₇APX₈LLIYAASSLQSGVPSR FS GSX₉SGTX₁₀FTLTISSLQPX₁₁DFATYX₁₂CQQANSFPFTFGPGTKVDX₁₃K (SEQ ID NO:30) cuando X₁ se selecciona de I o S; X₂ se selecciona de M o L; X₃ se selecciona de G o V y X₄ se selecciona de S, F o I; X₅ se selecciona de S o G; X₆ se selecciona de F o L; X₇ se selecciona de K o Q; X₈ se selecciona de K, N o S; X₉ se selecciona de G o V; X₁₀ se selecciona de D o E, X₁₁ se selecciona de E o A; X₁₂ se selecciona de Y o F; y X₁₃ se selecciona de I, V o F.
- 25 La secuencia de consenso de la región variable de cadena ligera para el grupo lambda 1 es QPX₁LTQPPSASASLGASVTLTCTLX₂SGYSDYKVDWYQX₃RPGKGPFRVVRVGTGGX₄VGSKGX₅GI PDRFSVLGSLNRX₆LTIKNIQEEDESDYHCGADHGSX₇NFVYVFGTGKVTVL (SEQ ID NO:61) cuando X₁ se selecciona de V o E; X₂ se selecciona de N o S; X₃ se selecciona de Q o L y X₄ se selecciona de I o T; X₅ se selecciona de D o E; X₆ se selecciona de y o S; y X₇ se selecciona de S o N.
- 30 La secuencia de consenso de la región variable de cadena ligera para el grupo lambda 3 es QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNX₁GAGYDVHWYQQX₂PGTAPKLLIYGX₃NRPSGVPDRF SG SKSGTSASLAITGLQAEDEADYQCYSYDSSLSGWVFGGTX₄RLTVL (SEQ ID NO:139) cuando X₁ se selecciona de T o I; X₂ se selecciona de V o L; X₃ se selecciona de G o N y X₄ se selecciona de R o K.
- 35 La secuencia de consenso de la región variable de cadena pesada para el grupo kappa es QVQLQESGPGLVKPSQTLTCTVSGGSIX₁SGGYW₂WIRQHPGKGLEWIX₃IX₄YSGX₅X₆YYNP SLK SRX₇TX₈SVDTSX₉NQFSLX₁₀LSSVTAADTAVYYCAX₁₁X₁₂RGX₁₃YGMVWQGGTTVTVSS (SEQ ID NO:140) cuando X₁ se selecciona de N o S; X₂ se selecciona de S o T; X₃ se selecciona de Y o H y X₄ se selecciona de Y o H; X₅ se selecciona de S o N; X₆ se selecciona de S o T; X₇ se selecciona de V o I; X₈ se selecciona de I o M; X₉ se selecciona de K o Q; X₁₀ se selecciona de K o S, X₁₁ se selecciona de R o K; X₁₂ se selecciona de D o N; y X₁₃ se selecciona de H, F o Y.
- 40 La secuencia de consenso de la región variable de cadena pesada para el grupo lambda 1 es EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCX₁X₂SGFTFSX₃X₄SMNWVRQAPGKGLEWVSYISSX₅SSTX₆YX₇AD SV KGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARRIAAAGX₈X₉X₁₀YYYAX₁₁DVWGQGGTTVTVSS (SEQ ID NO:141) cuando X₁ se selecciona de A o V; X₂ se selecciona de A o V; X₃ se selecciona de T o S y X₄ se selecciona de Y o F; X₅ se selecciona de S o R; X₆ se selecciona de R o I; X₇ se selecciona de H, y o I; X₈ se selecciona de P o G; X₉ se selecciona de W o F; X₁₀ se selecciona de G o H y X₁₁ se selecciona de M o L.
- 45 La secuencia de consenso de la región variable de cadena pesada para el grupo lambda 2 es QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYX₁MHWVRQAPGKLEWX₂X₃VISX₄DGSX₅KYYAD SV KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERTTSLGSYFDYWGQGGTLTVSS (SEQ ID NO:142) cuando X₁ se selecciona de G o A; X₂ se selecciona de V o L; X₃ se selecciona de A o S y X₄ se selecciona de F o H y X₅ se selecciona de L o I.
- 50 La secuencia de consenso de la región variable de cadena pesada para el grupo lambda 3 es QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKLEWVAVIWDGNSX₁YYADSV KG

RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGYX₂SSWYPDAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 143) cuando X₁ se selecciona de E o K y X₂ se selecciona de T o S.

Regiones determinantes de la complementariedad

5 Las regiones determinantes de la complementariedad o "CDR" están incrustadas dentro de un marco en las regiones variables de cadena pesada y ligera donde constituyen las regiones responsables de la unión y el reconocimiento del antígeno. Los dominios variables de las cadenas de inmunoglobulina de la misma especie, por ejemplo, exhiben generalmente una estructura global similar; que comprende regiones de marco (FR) relativamente conservadas unidas por regiones CDR hipervariables. Una proteína de unión al antígeno puede tener 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más CDR. 10 Las regiones variables discutidas anteriormente, por ejemplo, comprenden por lo general tres CDR. Las CDR de regiones variables de cadena pesada y regiones variables de cadena ligera están por lo general alineadas por las regiones de marco para formar una estructura que se une específicamente a un antígeno diana (por ejemplo, IL-23). Desde las regiones N-terminal hasta C-terminal, las regiones variables de cadena ligera y pesada naturales se ajustan por lo general al siguiente orden de estos elementos: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Las regiones CDR y FR de dominios variables de cadenas ligeras de ejemplo y dominios variables de cadena pesada se subrayan en las Tablas 1 y 2. Se reconoce que los límites de las regiones CDR y FR pueden variar de los subrayados. Se han ideado sistemas de numeración para asignar números a aminoácidos que ocupan posiciones en cada uno de estos dominios. Las regiones que determinan la complementariedad y las regiones marco de una proteína de unión al antígeno dada se pueden identificar utilizando estos sistemas. Los sistemas de numeración están definidos en Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., US Dept. of Health and 20 Human Services, PHS, NIH, NIH Publication No. 91-3242, 1991, o Chothia & Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al., 1989, Nature 342:878-883. Otros sistemas de numeración para los aminoácidos en las cadenas de inmunoglobulina incluyen IMGT® (el sistema de información internacional ImMunoGeneTics, Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol., 2005, 29: 185-203); y AHo (Honegger and Pluckthun, J. Mol. Biol. 2001, 309(3):657-670). Las CDR proporcionadas en este documento pueden no sólo usarse para definir el dominio de unión al antígeno de una estructura del anticuerpo tradicional, sino que pueden estar incrustadas en una diversidad de otras estructuras de polipéptidos, como se describe en este documento. 25

Las proteínas de unión al antígeno descritas en este documento son polipéptidos en los que una o más CDR pueden ser injertadas, insertadas, incrustadas y/o unidas. Una proteína de unión al antígeno puede tener, por ejemplo, una CDR1 de cadena pesada ("CDRH1") y/o una CDR2 de cadena pesada ("CDRH2") y/o una CDR3 de cadena pesada ("CDRH3") y/o una CDR1 de cadena ligera ("CDRL1") y/o CDR2 de cadena ligera ("CDRL2") y/o CDR3 de cadena ligera ("CDRL3"). Algunas proteínas de unión al antígeno incluyen tanto una CDRH3 como una CDRL3. Las realizaciones específicas utilizan generalmente combinaciones de CDR que no son repetitivas, por ejemplo, las proteínas de unión al antígeno generalmente no se hacen con dos regiones CDRH2 en una región de cadena pesada variable, etc. 30

Las proteínas de unión al antígeno pueden comprender una o más secuencias de aminoácidos que son idénticas a o que difieren de las secuencias de aminoácidos de una o más de las CDR presentadas en la Tabla 3 a sólo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 residuos de aminoácidos, en donde cada una de tales diferencias de secuencia es independientemente ya sea una supresión, inserción o sustitución de un aminoácido. Las CDR en algunas proteínas de unión al antígeno comprenden secuencias de aminoácidos que tienen al menos el 80%, 85%, 90%, 91%, 92, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99 % de identidad de la secuencia con respecto a la secuencia de CDR enumerada en la Tabla 3. En algunas proteínas de unión al antígeno, las CDR están incrustadas en una región de "marco", que orienta la(s) CDR(s) de tal manera que se alcancen las propiedades de unión al antígeno propias de la CDR. 40

Tabla 3

| Secuencias CDRH y CDRL de ejemplo | | |
|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Secuencias CDRL de ejemplo | | |
| CDRL1 | CDRL2 | CDRL3 |
| TGSSSNTGAGYDVH SEQ ID NO:62 | GSGNRPS SEQ ID NO:63 | QSYDSSLSGWV SEQ ID NO: 64 |
| TGSSSNIGAGYDVH SEQ ID NO:65 | GSNRPS SEQ ID NO:66 | MIWHSSASV SEQ ID NO:67 |
| TLRSGINVGTYRIY SEQ ID NO:68 | YKSDSDKQGS SEQ ID NO:69 | GADHGSGSNFVYV SEQ ID NO:70 |

ES 2 613 236 T3

| | | |
|----------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| TLNSGYSDYKV SEQ ID NO:71 | VTGGIVGSKGD SEQ ID NO:72 | GADHGSGNNFVYV SEQ ID NO:73 |
| TLSSGYSDYKV SEQ ID NO:74 | VTGGIVGSKGE SEQ ID NO:75 | QQANSFPFT SEQ ID NO:76 |
| RASQGFSGWLA SEQ ID NO:77 | VTGGTVGSKGE SEQ ID NO:78 | QQATSFPLT SEQ ID NO:79 |
| RASQVISSWLA SEQ ID NO:80 | AASSLQS SEQ ID NO:81 | QQADSFPT SEQ ID NO:82 |
| RASQVISSWFA SEQ ID NO:83 | | LQHNSYPPT SEQ ID NO:84 |
| RASQGSSSWFA SEQ ID NO:85 | | |
| RASQGISSWFA SEQ ID NO:86 | | |
| RAGQVISSWLA SEQ ID NO:87 | | |
| RASQGIAGWLA SEQ ID NO:88 | | |
| RASQGIRNDLG SEQ ID NO:89 | | |
| Secuencias CDRH de ejemplo | | |
| CDRH1 | CDRH2 | CDRH3 |
| SYGMH SEQ ID NO:91 | VIWYDGSNEYADSVKG SEQ ID NO:92 | DRGYTSSWYPDAFDI SEQ ID NO:93 |
| SYAMH SEQ ID NO:94 | VIWYDGSNKYYADSVKG SEQ ID NO:95 | DRGYSSSWYPDAFDI SEQ ID NO:96 |
| TYSMN SEQ ID NO:97 | VISFDGSLKYYADSVKG SEQ ID NO:98 | ERTTLSGSYFDY SEQ ID NO:99 |
| YSMNM SEQ ID NO:100 | VISHDGSIKYYADSVKG SEQ ID NO:101 | RIAAAGGFHYYYALDV SEQ ID NO:102 |
| SFSMN SEQ ID NO:103 | YISSRSSTIYADSVKG SEQ ID NO:104 | RIAAAGPWGYYYAMDV SEQ ID NO:105 |
| SGGYYWT SEQ ID NO:106 | YISSSSSTRYHADSVKG SEQ ID NO:107 | NRGYYYGMDV SEQ ID NO:108 |
| SGGYYWS SEQ ID NO:109 | YISSRSSTIYYADSVKG SEQ ID NO:110 | NRGFYYGMDV SEQ ID NO:111 |
| SYFWS SEQ ID NO:112 | YIYYSGNTYYNPSLKS SEQ ID NO:113 | DRGHYYGMDV SEQ ID NO:114 |
| TYYWS SEQ ID NO:115 | HIHYSGNTYYNPSLKS SEQ ID NO:116 | DRGSYYGSDY SEQ ID NO:117 |
| | YIYYSGSTYYNPSLKS SEQ ID NO:118 | DRGYYYGVDV SEQ ID NO: 119 |
| | YIYYSGSSYYNPSLKS SEQ ID NO:120 | ENTVTIYYNYGMDV SEQ ID NO:6 |
| | YIYYSGSTNYNPSLKS SEQ ID NO:121 | |
| | LIYTSGSTNYNPSLKS SEQ ID NO:122 | |

| | | |
|--|---------------------------------|--|
| | LIWYDGSNKYYADSVKG SEQ ID NO: 90 | |
|--|---------------------------------|--|

5 Se describen y/o reivindican en este documento las regiones CDR1 que comprenden los residuos de aminoácidos 23-34 de SEQ ID NOs: 7 y 11; residuos de aminoácidos 24-34 de SEQ ID NOs: 9, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 y 29; residuos de aminoácidos 23-36 de SEQ ID NOs: 1, 3 y 4; residuos de aminoácidos 31-35 de SEQ ID NOs: 31, 33, 34, 38, 40, 44, 52 y 60 y residuos de aminoácidos 31-37 o SEQ ID NOs: 46, 48, 50, 54, 56 y 58.

10 Las regiones de CDR2 se describen y/o se reivindican en este documento que comprenden los residuos de aminoácidos 50-56 de SEQ ID NOs: 9, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 y 29; residuos de aminoácidos 50-61 de SEQ ID NOs: 7 y 11; residuos de aminoácidos 52-62 de SEQ ID NO: 4; residuos de aminoácidos 50-65 de SEQ ID NOs: 31, 33, 44 y 52; residuos de aminoácidos 50-66 de SEQ ID NOs: 36, 38, 40, 42 y 60; residuos de aminoácidos 52-58 de SEQ ID NOs: 1 y 3 y residuos de aminoácidos 52-67 de SEQ ID NOs: 46, 48, 50, 54, 56 y 58.

15 Las regiones CDR3 que comprenden los residuos de aminoácidos 89-97 de SEQ ID NOs: 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 y 29; residuos de aminoácidos 91-101 de SEQ ID NOs: 1 y 3; residuos de aminoácidos 94-106 de SEQ ID NOs: 7, 9 y 11; residuos de aminoácidos 98-107 de SEQ ID NOs: 44 y 52; residuos de aminoácidos 97-105 de SEQ ID NO: 4; residuos de aminoácidos 99-110 de SEQ ID NOs: 34 y 36; residuos de aminoácidos 99-112 de SEQ ID NO: 112; residuos de aminoácidos 99-113 de SEQ ID NOs: 31 y 33; residuos de aminoácidos 99-114 de SEQ ID NOs: 38, 40 y 42; residuos de aminoácidos 100-109 de SEQ ID NOs: 46, 48, 54, 56 y 58; y residuos de aminoácidos 101-019 de SEQ ID NO: 50; también se describen y/o reivindican en este documento.

20 Las CDR descritas en este documento incluyen secuencias de consenso derivadas de grupos de secuencias relacionadas. Como se ha descrito anteriormente, se identificaron cuatro grupos de secuencias de regiones variables, un grupo kappa y tres grupos lambda. La secuencia de consenso CDRL1 del grupo kappa consiste en RASQX₁X₂SX₅WX₄A (SEQ ID NO: 123) donde X₁ se selecciona de G o V; X₂ se selecciona de I, F o S; X₃ se selecciona de S o G y X₄ se selecciona de F o L. La secuencia de consenso CDRL1 del grupo lambda 1 consiste en TLX₁SGYSDYKVD (SEQ ID NO: 124) en donde X₁ se selecciona de N o S. Las secuencias de consenso CDRL1 del grupo lambda 3 consiste en TGSSSNX₁GAGYDVH (SEQ ID NO: 125) en donde X₁ se selecciona entre I o T.

25 La secuencia de consenso CDRL2 del grupo lambda 1 consiste en VGTGGX₁VGSKGX₂ (SEQ ID NO: 126) en donde X₁ se selecciona entre I o T y X₂ se selecciona entre D o E. La secuencia de consenso CDRL2 del grupo lambda 3 consiste en GSX₁NRPS (SEQ ID NO: 127) en donde X₁ se selecciona entre N o G.

Las secuencias de consenso CDRL3 incluyen GADHGSGX₁NFVYV (SEQ ID NO: 128) en donde X₁ es S o N.

30 La secuencia de consenso CDRH1 del grupo kappa consiste en SGGYYWX₁ (SEQ ID NO: 129) en donde X₁ se selecciona entre S o T. La secuencia de consenso CDRH1 del grupo lambda 1 consiste en X₁X₂SMN (SEQ ID NO: 131) en donde X₁ se selecciona de S o T y X₂ se selecciona de Y o F. La secuencia de consenso CDRH1 del grupo lambda 2 consiste en SYX₁MH (SEQ ID NO: 130), en donde X₁ se selecciona entre G o A.

35 La secuencia de consenso CDRH2 del grupo kappa consiste en X₁IX₂YSGX₃X₄YYNPSLKS (SEQ ID NO: 132) en donde X₁ se selecciona de Y o H; X₂ se selecciona entre Y o H; X₃ se selecciona de S o N y X₄ se selecciona de T o S. La secuencia de consenso del grupo 1 de lambda consiste en YISSX₁SSTX₂YX₃ADSVKG (SEQ ID NO: 134) en donde X₁ se selecciona de R o S, X₂ se selecciona de I o R, X₃ se selecciona de I, H o Y. La secuencia de consenso del grupo lambda 2 consiste en VISX₁DGSX₂KYYADSVKG (seq id no:133) en donde X₁ es F o H y X₂ es L o T. La secuencia de consenso CDRH2 del grupo lambda 3 consiste en VIWYDGSNX₁YYADSVKG (SEQ ID NO: 135) en donde X₁ se selecciona de K o E.

40 La secuencia de consenso CDRH3 del grupo kappa consiste en X₁RGX₂YYGMDV (SEQ ID NO: 136) en donde X₁ se selecciona entre N o D y X₂ se selecciona de H, Y o F. La secuencia de consenso CDRH3 del grupo lambda 1 consiste en RIAAAGX₁X₂X₃YYYAX₄DV (SEQ ID NO: 137) donde X₁ se selecciona de G o P; X₂ se selecciona de F o W; X₃ se selecciona entre H o G y X₄ se selecciona entre L y M. La secuencia de consenso CDRH3 del grupo lambda 3 consiste en DRGYX₁SSWYPDAFDI (SEQ ID NO: 138) en donde X₁ se selecciona de S o T.

45 Anticuerpos monoclonales

Las proteínas de unión al antígeno que se proporcionan incluyen anticuerpos monoclonales que se unen a IL-23. Los anticuerpos monoclonales se pueden producir utilizando cualquier técnica conocida en la técnica, por ejemplo, inmortalizando células de bazo recolectadas del animal transgénico después de completar el programa de inmunización. Las células de bazo se pueden inmortalizar utilizando cualquier técnica conocida en la técnica, por

ejemplo, fusionándolas con células de mieloma para producir hibridomas. Las células de mieloma para uso en procedimientos de fusión que producen hibridomas son preferiblemente no productoras de los anticuerpos, tienen alta eficiencia de fusión y deficiencias enzimáticas que las hacen incapaces de crecer en ciertos medios selectivos que soportan el crecimiento de solamente las células fusionadas deseadas (hibridomas). Ejemplos de líneas celulares apropiadas para uso en fusiones de ratón incluyen Sp-20, P3-X63/Ag8, P3-X63-Ag8.653, NS1/1.Ag 4 1, Sp210-Ag14, FO, NSO/U, MPC-11, MPC11-X45-GTG 1.7 y S194/5XXO Bul; ejemplos de líneas celulares utilizadas en fusiones de rata incluyen R210.RCY3, Y3-Ag 1.2.3, IR983F y 4B210. Otras líneas celulares útiles para fusiones celulares son U-266, GM1500-GRG2, LICR-LON-HMy2 y UC729-6.

En algunos casos, se produce una línea celular de hibridoma mediante la inmunización de un animal (por ejemplo, un animal transgénico que tiene secuencias de inmunoglobulina humana) con un inmunógeno de IL-23; recolectar células de bazo del animal inmunizado; fusionar las células de bazo cosechadas a una línea celular de mieloma, generando así células de hibridoma; establecer líneas celulares de hibridoma a partir de las células de hibridoma e identificar una línea celular de hibridoma que produce un anticuerpo que se une a un polipéptido de IL-23 mientras se reserva IL-12. Tales líneas celulares de hibridoma, y anticuerpos monoclonales anti-IL-23 producidos por ellos, son aspectos de la presente divulgación.

Los anticuerpos monoclonales secretados por una línea celular de hibridoma se pueden purificar utilizando cualquier técnica conocida en la técnica. Los hibridomas o mAbs se pueden seleccionar adicionalmente para identificar mAbs con propiedades particulares, tales como la capacidad para inhibir la actividad inducida por IL-23.

Anticuerpos quiméricos y humanizados

También se proporcionan anticuerpos quiméricos y humanizados basados en las secuencias anteriores. Los anticuerpos monoclonales para uso como agentes terapéuticos se pueden modificar de diversas maneras antes de su uso. Un ejemplo es un anticuerpo quimérico, que es un anticuerpo compuesto de segmentos de proteína de diferentes anticuerpos que están unidos covalentemente para producir cadenas ligeras o pesadas de inmunoglobulina funcional o porciones inmunológicamente funcionales de los mismos. Generalmente, una porción de la cadena pesada y/o de la cadena ligera es idéntica u homóloga a una secuencia correspondiente en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenece a una clase o subclase particular de los anticuerpos, mientras que el resto de la cadena o cadenas es/son idéntico(s) u homólogo(s) a una secuencia correspondiente en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de los anticuerpos. Para métodos relacionados con anticuerpos quiméricos, véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No.4,816,567; y Morrison et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855. El injerto de CDR se describe, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 6,180,370, 5,693,762, 5,693,761, 5,585,089, y 5,530,101.

Un tipo útil del anticuerpo quimérico es un anticuerpo "humanizado". Generalmente, un anticuerpo humanizado se produce a partir de un anticuerpo monoclonal cultivado inicialmente en un animal no humano. Ciertos residuos de aminoácidos en este anticuerpo monoclonal, por lo general de porciones que no reconocen el antígeno del anticuerpo, se modifican para ser homólogos a los residuos correspondientes en un anticuerpo humano de isotipo correspondiente. La humanización puede llevarse a cabo, por ejemplo, utilizando diversos métodos sustituyendo al menos una porción de una región variable de roedor para las regiones correspondientes de un anticuerpo humano (véase, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,585,089, y No. 5,693,762; Jones et al., 1986, Nature 321:522-525; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-27; Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-1536),

En ciertas realizaciones, se pueden utilizar regiones constantes de especies distintas de las humanas junto con la región o regiones variables humanas para producir anticuerpos híbridos.

Anticuerpos completamente humanos

También se proporcionan anticuerpos totalmente humanos. Existen métodos para producir anticuerpos completamente humanos específicos para un antígeno dado sin exponer seres humanos al antígeno ("anticuerpos totalmente humanos"). Un medio específico proporcionado para implementar la producción de los anticuerpos completamente humanos es la "humanización" del sistema inmune humoral del ratón. La introducción de loci de inmunoglobulina humana (Ig) en ratones en los que los genes de Ig endógenos han sido inactivados es un medio para producir anticuerpos monoclonales (mAbs) completamente humanos en ratón, un animal que puede ser inmunizado con cualquier antígeno deseable. El uso de los anticuerpos totalmente humanos puede minimizar las respuestas inmunógenas y alérgicas que a veces pueden ser causadas por la administración de mAbs derivados a ratones o ratones a seres humanos como agentes terapéuticos.

Se pueden producir anticuerpos totalmente humanos mediante la inmunización de animales transgénicos (habitualmente ratones) que son capaces de producir un repertorio de los anticuerpos humanos en ausencia de

producción de inmunoglobulina endógena. Los antígenos para este fin tienen por lo general seis o más aminoácidos contiguos, y opcionalmente se conjugan a un portador, tal como un hapteno. Véase, por ejemplo, Jakobovits et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:2551-2555; Jakobovits et al., 1993, Nature 362:255-258; y Bruggermann et al., 1993, Year in Immunol. 7:33. En un ejemplo de dicho método, los animales transgénicos se producen incapacitando los loci de inmunoglobulina de ratón endógenos que codifican las cadenas de inmunoglobulina pesada y ligera de ratón e insertando en el genoma de ratón grandes fragmentos de ADN de genoma humano que contienen loci que codifican proteínas cadena pesada y ligera humana. Los animales parcialmente modificados, que tienen menos que el complemento completo de loci de inmunoglobulina humana, se cruzan entonces para obtener un animal que tenga todas las modificaciones del sistema inmune deseadas. Cuando se administra un inmunógeno, estos animales transgénicos producen anticuerpos que son inmunoespecíficos para el inmunógeno, pero tienen secuencias de aminoácidos humanas en lugar de murinas, incluyendo las regiones variables. Para más detalles de tales métodos, véase, por ejemplo, las Publicaciones de Patentes de WIPO WO96/33735 y WO94/02602. Métodos adicionales relacionados con ratones transgénicos para fabricar anticuerpos humanos se describen en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5,545,807; 6,713,610; 6,673,986; 6,162,963; 5,545,807; 6,300,129; 6,255,458; 5,877,397; 5,874,299 y 5,545,806; en Publicaciones de Patente WIPO WO91/10741, WO90/04036, y en EP 546073B1 y EP 546073A1.

Los ratones transgénicos descritos anteriormente contienen un minilocus del gen de la inmunoglobulina humana que codifica secuencias de inmunoglobulina de cadena pesadas ([mu] y [gamma]) y ligeras [kappa] humanas no reestructurada, junto con mutaciones dirigidas que inactivan los loci de cadena [mu] y [kappa] endógenas (Lonberg et al., 1994, Nature 368: 856-859). De acuerdo con lo anterior, los ratones exhiben una expresión reducida de IgM de ratón o [kappa] y en respuesta a la inmunización, y los transgenes humanos de cadena pesada y ligera introducidos sufren conmutación de clase y mutación somática para generar anticuerpos monoclonales IgG [kappa] humanos de alta afinidad (Lonberg *et al.*, *supra.*; Lonberg and Huszar, 1995, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93; Harding and Lonberg, 1995, Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546). La preparación de tales ratones se describe en detalle en Taylor et al., 1992, Nucleic Acids Research 20:6287-6295; Chen et al., 1993, International Immunology 5:647-656; Tuailon et al., 1994, J. Immunol. 152:2912-2920; Lonberg et al., 1994, Nature 368:856-859; Lonberg, 1994, Handbook of Exp. Pharmacology 113:49-101; Taylor et al., 1994, International Immunology 6:579-591; Lonberg and Huszar, 1995, Intern. Rev. Immunol. 13:65-93; Harding and Lonberg, 1995, Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546; Fishwild et al., 1996, Nature Biotechnology 14:845-85. Véase, además, la Patente de Estados No. 5,545,806; No. 5,569,825; No. 5,625,126; No. 5,633,425; No. 5,789,650; No. 5,877,397; No. 5,661,016; No. 5,814,318; No. 5,874,299; y No. 5,770,429; así como en la Patente de los Estados Unidos No. 5,545,807; Publicaciones WIPO Nos. WO 93/1227; WO 92/22646; y WO 92/03918. Las tecnologías utilizadas para producir anticuerpos humanos en estos ratones transgénicos se describen también en la Publicación WIPO No. WO 98/24893, y Mendez et al., 1997, Nature Genetics 15:146-156. Por ejemplo, las cepas de ratones transgénicos HCo7 y HCo12 se pueden utilizar para generar anticuerpos anti-IL-23.

Utilizando tecnología de hibridoma, se pueden producir mAbs humanos específicos de antígeno con la especificidad deseada y seleccionarse a partir de ratones transgénicos tales como los descritos anteriormente. Dichos anticuerpos se pueden clonar y expresar utilizando un vector apropiado y una célula huésped, o los anticuerpos pueden ser recolectados a partir de células de hibridoma cultivadas.

Los anticuerpos totalmente humanos también se pueden derivar de bibliotecas de expresión en fagos (tal como se describe en Hoogenboom et al., 1991, J. Mol. Biol. 227:381; Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581; Publicación WIPO No. WO 99/10494). Las técnicas de expresión en fagos imitan la selección inmune a través de la exhibición de repertorios de los anticuerpos en la superficie del bacteriófago filamentoso y la selección subsiguiente de fago por su unión a un antígeno de elección.

45 Proteínas de unión al antígeno bifuncional o biespecífica

Una proteína o anticuerpo de unión al antígeno "biespecífico", "doble-específico" o "bifuncional" es una proteína híbrido o anticuerpo de unión al antígeno, respectivamente, que tiene dos sitios de unión al antígeno diferentes, como una o más CDR o una o más regiones variables como se ha descrito anteriormente. En algunos casos son un anticuerpo híbrido artificial que tiene dos pares de cadenas pesadas/ligeras diferentes y dos sitios de unión diferentes. La proteína de unión al antígeno multiespecífica o "anticuerpo multiespecífico" es una proteína que se dirige a más de un antígeno o epítipo. Las proteínas y anticuerpos de unión al antígeno biespecíficos son una especie del anticuerpo de proteína de unión al antígeno multiespecíficas y se pueden producir mediante una variedad de métodos que incluyen, pero no se limitan a, la fusión de hibridomas o la unión de fragmentos Fab'. Véase, por ejemplo, Songsivilai and Lachmann, 1990, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321; Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148:1547-1553.

Fragmentos inmunológicos

Las proteínas de unión al antígeno también incluyen fragmentos inmunológicos de un anticuerpo (por ejemplo, un Fab, un Fab', un F(ab')₂, o un scFv). Un "fragmento Fab" comprende una cadena ligera (la región variable de cadena ligera (V_L) y su correspondiente dominio constante (C_L)) y una cadena pesada (la región variable de cadena pesada (V_H) y el primer dominio constante (C_{H1})). La cadena pesada de una molécula Fab no puede formar un enlace disulfuro con otra molécula de cadena pesada. Un "fragmento Fab" contiene una cadena ligera y una porción de una cadena pesada que también contiene la región entre los dominios C_{H1} y C_{H2}, de manera que se puede formar un enlace disulfuro entre cadenas entre las dos cadenas pesadas de dos fragmentos Fab' para formar una molécula F(ab')₂. Un "fragmento F(ab')₂" está así compuesto de dos fragmentos Fab' que se mantienen unidos por un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas. Un "fragmento Fv" consiste en la región de cadena ligera variable y la región de cadena pesada variable de un solo brazo de un anticuerpo. Los anticuerpos de cadena única "scFv" son moléculas de Fv en las que las regiones variables de cadena pesada y ligera han sido conectadas por un enlace flexible para formar una única cadena polipeptídica, que forma una región de unión al antígeno. Los anticuerpos de cadena única se discuten en detalle en la Publicación WIPO No. WO 88/01649, las Patentes de los Estados Unidos Nos. 4,946,778 y No. 5,260,203; Bird, 1988, Science 242:423; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:5879; Ward et al., 1989, Nature 334:544, de Graaf et al., 2002, Methods Mol Biol. 178:379-387; Kortt et al., 1997, Prot. Eng. 10:423; Kortt et al., 2001, Biomol. Eng. 18:95-108 y Kriangkum et al., 2001, Biomol. Eng. 18:31-40. Una región "Fc" contiene dos fragmentos de cadena pesada que comprenden los dominios C_{H1} y C_{H2} de un anticuerpo. Los dos fragmentos de cadena pesada se mantienen juntos por dos o más enlaces disulfuro y por interacciones hidrófobas de los dominios C_{H3}. También se incluyen anticuerpos de dominio, fragmentos de inmunoglobulina inmunológicamente funcionales que contienen solo la región variable de una cadena pesada o la región variable de una cadena ligera. En algunos casos, dos o más regiones V_H están unidas covalentemente con un enlace peptídico para crear un anticuerpo de dominio bivalente. Las dos regiones V_H de un anticuerpo de dominio bivalente se puede dirigir a los mismos o diferentes antígenos. Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes que comprenden dos cadenas de polipéptidos, en donde cada cadena polipeptídica comprende dominios V_H y V_L unidos por un enlace que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre dos dominios en la misma cadena, permitiendo así que cada dominio se empareje con un dominio complementario en otra cadena polipeptídica (véase, por ejemplo, Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-48, 1993 y Poljak et al., Structure 2:1121-23, 1994). De forma similar, los tricuerpos y tetracuerpos son anticuerpos que comprenden tres y cuatro cadenas de polipéptidos, respectivamente, y formando tres y cuatro sitios de unión al antígeno, respectivamente, que pueden ser iguales o diferentes. Los maxicuerpos comprenden scFvs bivalentes unidos covalentemente a la región Fc de IgG₁, (véase, por ejemplo, Fredericks et al, 2004, Protein Engineering, Design & Selection, 17:95-106; Powers et al., 2001, Journal of Immunological Methods, 251:123-135; Shu et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:7995-7999; Hayden et al., 1994, Therapeutic Immunology 1:3-15).

Otras diversas formas

También se proporcionan formas variantes de las proteínas de unión al antígeno descritas anteriormente, algunas de las proteínas de unión al antígeno que tienen, por ejemplo, una o más sustituciones de aminoácidos conservadoras en una o más de las cadenas pesadas o ligeras, regiones variables o CDR enumeradas en las Tablas 1 y 2.

Los aminoácidos de origen natural se pueden dividir en clases basadas en propiedades comunes de la cadena lateral: hidrofóbicas (norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile); hidrofílico neutro (Cys, Ser, Thr, Asn, Gln); ácido (Asp, Glu); básico (His, Lys, Arg); residuos que influyen en la orientación de la cadena (Gly, Pro); y aromáticos (Trp, Tyr, Phe).

Las sustituciones conservadoras de aminoácidos pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases con otro miembro de la misma clase. Las sustituciones de aminoácidos conservadoras pueden abarcar residuos de aminoácidos no naturales, que se incorporan por lo general por síntesis de péptidos químicos en lugar de por síntesis en sistemas biológicos. Estos incluyen peptidomiméticos y otras formas reversas o invertidas de unidades estructurales de aminoácidos. Tales modificaciones sustanciales en las características funcionales y/o bioquímicas de las proteínas de unión al antígeno descritas en este documento se pueden lograr creando sustituciones en la secuencia de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera que difieren significativamente en su efecto en mantener (a) la estructura del esqueleto molecular en el área de la sustitución, por ejemplo, como una conformación en forma de hoja o helicoidal, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana, o (c) el volumen de la cadena lateral

Las sustituciones no conservadoras pueden implicar el intercambio de un miembro de una de las clases anteriores para un miembro de otra clase. Dichos residuos sustituidos se pueden introducir en regiones del anticuerpo que son homólogas con anticuerpos humanos, o en las regiones no homólogas de la molécula.

Al realizar tales cambios, de acuerdo con ciertas realizaciones, se puede considerar el índice hidropático de aminoácidos. El perfil hidropático de una proteína se calcula asignando a cada aminoácido un valor numérico ("índice de hidropatía") y luego promediando repetidamente estos valores a lo largo de la cadena peptídica. A cada aminoácido se le ha asignado un índice hidropático en base a sus características de hidrofobicidad y carga. Son:

isoleucina (+4.5); valina (+4.2); leucina (+3.8); fenilalanina (+2.8); cisteína/cistina (+2.5); metionina (+1.9); alanina (+1.8); glicina (-0.4); treonina (-0.7); serina (-0.8); triptófano (-0.9); tirosina (-1.3); prolina (-1.6); histidina (-3.2); glutamato (-3.5); glutamina (-3.5); aspartato (-3.5); asparagina (-3.5); lisina (-3.9); y arginina (-4.5).

- 5 La importancia del perfil hidropático en conferir función biológica interactiva a una proteína se entiende en la técnica (véase, por ejemplo, Kyte et al., 1982, J. Mol. Biol. 157: 105-131). Se sabe que ciertos aminoácidos pueden sustituirse por otros aminoácidos que tienen un índice o puntuación hidropática similar y que conservan todavía una actividad biológica similar. Al realizar cambios basados en el índice hidropático, en ciertas realizaciones, se incluye la sustitución de aminoácidos cuyos índices hidropáticos están dentro de ± 2 . En algunos aspectos, los que están dentro de ± 1 se incluyen, y en otros aspectos, los que están dentro de ± 0.5 se incluyen.
- 10 También se entiende en la técnica que la sustitución de aminoácidos similares puede hacerse eficazmente sobre la base de la hidrofiliidad, en particular cuando la proteína o péptido biológicamente funcional creado de este modo está destinado a su uso en realizaciones inmunológicas, como en el presente caso. En ciertas realizaciones, la mayor hidrofiliidad media local de una proteína, de acuerdo con se rige por la hidrofiliia de sus aminoácidos adyacentes, se correlaciona con su inmunogenicidad y su unión al antígeno o inmunogenicidad, es decir, con una propiedad biológica de la proteína.
- 15 Se han asignado los siguientes valores de hidrofiliidad a estos residuos de aminoácidos: arginina (+3.0); lisina (+3.0); aspartato (+3.0 \pm 1); glutamato (+3.06 \pm 1); serina (+0.3); asparagina (+0.2); glutamina (+0.2); glicina (0); treonina (-0.4); prolina (-0.5 \pm 1); alanina (-0.5); histidina (-0.5); cisteína (-1.0); metionina (-1.3); valina (-1.5); leucina (-1.8); isoleucina (-1.8); tirosina (-2.3); fenilalanina (-2.5) y triptófano (-3.4). Al realizar cambios basados en valores de hidrofiliidad similares, en ciertas realizaciones, se incluye la sustitución de aminoácidos cuyos valores de hidrofiliidad están dentro de ± 2 , en otras realizaciones, se incluyen aquellos que están dentro de ± 1 y en otras realizaciones, se incluyen aquellos dentro de ± 0.5 . En algunos casos, también se pueden identificar epitopos de las secuencias de aminoácidos primarios en base a la hidrofiliidad. Estas regiones también se denominan "regiones de núcleo epitópicas".
- 20
- 25 Las sustituciones conservadoras de aminoácidos de ejemplo se publican en la Tabla 4.

Tabla 4

| Sustituciones conservadoras de aminoácidos | | | | | | | | | | |
|--|------|--|---------|----------|--|---------|---------------|--|---------|----------|
| Residuo | Sub | | Residuo | Sub | | Residuo | Sub | | Residuo | Sub |
| Ala | Ser | | Gln | Asn | | Leu | Ile, Val | | Thr | Ser |
| Arg | Lys | | Glu | Asp | | Lys | Arg, Gln, Glu | | Trp | Tyr |
| Asn | Gln, | | Gly | Pro | | Met | Leu, Ile | | Tyr | Trp, |
| | His | | | | | | | | | Phe |
| Asp | Glu | | His | Asn, Gln | | Phe | Met, Leu, Tyr | | Val | Ile, Leu |
| Cys | Ser | | Ile | Leu, Val | | Ser | Thr | | Thr | Ser |

Residuo = Residuo original Sub = Sustitución de ejemplo

- 30 Un experto será capaz de determinar variantes apropiadas de polipéptidos como se publica en este documento utilizando técnicas bien conocidas. Un experto en el arte puede identificar áreas apropiadas de la molécula que pueden cambiarse sin destruir la actividad dirigiéndose a regiones que no se cree que sean importantes para la actividad. El experto en el arte también será capaz de identificar residuos y porciones de las moléculas que se conservan entre polipéptidos similares. En otras realizaciones, incluso áreas que pueden ser importantes para la actividad biológica o para la estructura pueden estar sujetas a sustituciones de aminoácidos conservadoras sin destruir la actividad biológica o sin afectar negativamente a la estructura del polipéptido.
- 35 Adicionalmente, un experto en el arte puede revisar estudios de estructura-función que identifican residuos en polipéptidos similares que son importantes para la actividad o estructura. En vista de tal comparación, se puede predecir la importancia de los residuos de aminoácidos en una proteína que corresponde a residuos de aminoácidos

importantes para la actividad o estructura en proteínas similares. Un experto en el arte puede optar por sustituciones de aminoácidos químicamente similares para dichos residuos de aminoácidos importantes predichos.

Un experto en el arte también puede analizar la estructura tridimensional y la secuencia de aminoácidos en relación con esa estructura en polipéptidos similares. En vista de tal información, un experto en el arte puede predecir la alineación de residuos de aminoácidos de un anticuerpo con respecto a su estructura tridimensional. Un experto en el arte puede optar por no realizar cambios radicales en los residuos de aminoácidos que se predijo estar en la superficie de la proteína, ya que tales residuos pueden estar implicados en interacciones importantes con otras moléculas. Además, un experto en el arte puede generar variantes de ensayo que contengan una sola sustitución de aminoácido en cada residuo de aminoácido deseado. Estas variantes pueden ser entonces seleccionadas utilizando ensayos para la actividad de IL-23, (véase ejemplos a continuación) proporcionando así información sobre qué aminoácidos pueden ser cambiados y que no deben cambiarse. En otras palabras, basándose en la información obtenida a partir de tales experimentos de rutina, un experto en el arte puede determinar fácilmente las posiciones de aminoácidos en las que se deben evitar sustituciones adicionales solas o en combinación con otras mutaciones.

Se han dedicado varias publicaciones científicas a la predicción de la estructura secundaria. Véase, Moulton, 1996, *Curr. Op. in Biotech.* 7:422-427; Chou et al., 1974, *Biochem.* 13:222-245; Chou et al., 1974, *Biochemistry* 113:211-222; Chou et al., 1978, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* 47:45-148; Chou et al., 1979, *Ann. Rev. Biochem.* 47:251-276; y Chou et al., 1979, *Biophys. J.* 26:367-384. Por otra parte, los programas informáticos están actualmente disponibles para ayudar a predecir la estructura secundaria. Un método para predecir la estructura secundaria se basa en el modelo de homología. Por ejemplo, dos polipéptidos o proteínas que tienen una identidad de secuencia superior al 30%, o similitud mayor que 40%, a menudo tienen topologías estructurales similares. El crecimiento reciente de la base de datos estructural de proteínas (PDB) ha proporcionado una mejor predictibilidad de la estructura secundaria, incluyendo el número potencial de pliegues dentro de la estructura de un polipéptido o proteína. Véase Holm et al., 1999, *Nucl. Acid. Res.* 27:244-247. Se ha sugerido (Brenner et al., 1997, *Curr. Op. Struct. Biol.* 7: 369-376) que hay un número limitado de pliegues en un polipéptido o proteína dado y que una vez que se ha producido un número crítico de estructuras resuelto, la predicción estructural será dramáticamente más precisa.

Métodos adicionales para predecir la estructura secundaria incluyen "roscado" (Jones, 1997, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 7:377-387; Sippl et al., 1996, *Structure* 4:15-19), "análisis de perfil" (Bowie et al., 1991, *Science* 253: 164-170, Gribskov et al., 1990, *Meth. Enzym.* 183: 146-159, Gribskov et al., 1987, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 84: 4355-4358), y "enlace evolutivo" (véase Holm, 1999, *supra* y Brenner, 1997, *supra*).

En algunas realizaciones, se realizan sustituciones de aminoácidos que: (1) reducen la susceptibilidad a la proteólisis, (2) reducen la susceptibilidad a la oxidación, (3) alteran la afinidad de unión para formar complejos proteicos, (4) alteran las afinidades de ligando o de unión al antígeno, y/o (4) conferir o modificar otras propiedades fisicoquímicas o funcionales sobre tales polipéptidos, tales como mantener la estructura del esqueleto molecular en el área de la sustitución, por ejemplo, como una conformación de hoja o helicoidal; mantener o alterar la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana, o mantener o alterar el volumen de una cadena lateral.

Por ejemplo, se pueden hacerse sustituciones de aminoácidos únicas o múltiples (en ciertas realizaciones, sustituciones conservadoras de aminoácidos) en la secuencia natural. Se pueden hacer sustituciones en la porción del anticuerpo que está fuera del dominio o dominios que forman contactos intermoleculares). En tales realizaciones, se pueden utilizar sustituciones de aminoácidos conservadoras que no cambien sustancialmente las características estructurales de la secuencia madre (por ejemplo, uno o más aminoácidos de reemplazo que no alteran la estructura secundaria que caracteriza a la proteína de unión al antígeno original o nativo). Ejemplos de estructuras de polipéptidos secundarias y terciarias reconocidas en la técnica se describen en *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed.), 1984, W.H. New York: Freeman and Company; *Introducción a la estructura de proteínas* (Branden and Tooze, eds.), 1991, Nueva York: Garland Publishing; y Thornton et al., 1991, *Nature* 354: 105.

Otras variantes incluyen variantes de cisteína en las que uno o más residuos de cisteína en la secuencia de aminoácidos original o nativa se suprimen o se sustituyen con otro aminoácido (por ejemplo, serina). Las variantes de cisteína son útiles, entre otras cosas, cuando deben replegarse anticuerpos (por ejemplo) en una conformación biológicamente activa. Las variantes de cisteína pueden tener menos residuos de cisteína que la proteína nativa, y por lo general tienen un número par para minimizar las interacciones resultantes de las cisteínas no emparejadas.

La región variable de la cadena pesada y ligera y las CDR que se describen se pueden utilizar para preparar proteínas de unión al antígeno que contienen una región de unión al antígeno que se puede unir específicamente a un polipéptido de IL-23. "Región de unión al antígeno" significa una proteína o una porción de una proteína que se une específicamente a un antígeno especificado, tal como la región que contiene los residuos de aminoácidos que interactúan con un antígeno y confieren a la proteína de unión al antígeno su especificidad y afinidad por el antígeno diana. Una región de unión al antígeno puede incluir una o más CDR y ciertas regiones de unión al antígeno también

incluyen una o más regiones "marco". Por ejemplo, una o más de las CDR enumeradas en la Tabla 3 se pueden incorporar en una molécula (por ejemplo, un polipéptido) de forma covalente o no covalente para realizar una inmunoadhesión. Una inmunoadhesión puede incorporar la(s) CDR(s) como parte de una cadena polipeptídica más grande, puede enlazar covalentemente la(s) CDR(s) a otra cadena polipeptídica, o puede incorporar la(s) CDR(s) no covalentemente. La(s) CDR(s) permite que la inmunoadhesión se una específicamente a un antígeno particular de interés (por ejemplo, un polipéptido de IL-23).

Otras proteínas de unión al antígeno incluyen miméticos (por ejemplo, "miméticos peptídicos" o "peptidomiméticos") basados en las regiones variables y las CDR que se describen en este documento. Estos análogos pueden ser péptidos, no péptidos o combinaciones de regiones peptídicas y no pépticas. Fauchere, 1986, *Adv. Drug Res.* 15:29; Veber y Freidinger, 1985, *TINS* p. 392; y Evans et al., 1987, *J. Med. Chem.* 30:1229. Los miméticos peptídicos que son estructuralmente similares a los péptidos terapéuticamente útiles se pueden utilizar para producir un efecto terapéutico o profiláctico similar. Tales compuestos se desarrollan a menudo con la ayuda de modelado molecular computarizado. Generalmente, los peptidomiméticos son proteínas que son estructuralmente similares a una proteína de unión al antígeno que muestra una actividad biológica deseada, tal como la capacidad para unirse a IL-23, pero los peptidomiméticos tienen uno o más enlaces peptídicos opcionalmente sustituidos por un enlace seleccionado, por ejemplo: CH₂NH-, -CH₂S-, -CH₂-CH₂-, -CH-CH-(cis y trans), -COCH₂-, -CH(OH)CH₂- y -CH₂SO-, por métodos bien conocidos en la técnica. En ciertas realizaciones se pueden usar sustituciones sistemáticas de uno o más aminoácidos de una secuencia de consenso con un D-aminoácido del mismo tipo (por ejemplo, D-lisina en lugar de L-lisina) para generar proteínas más estables. Además, se pueden generar péptidos constreñidos que comprenden una secuencia de consenso o una variación de secuencia de consenso sustancialmente idéntica por métodos conocidos en la técnica (Rizo and Gierasch, 1992, *Ann. Rev. Biochem.* 61:387), por ejemplo, añadiendo residuos internos de cisteína capaces de formar puentes disulfuro intramoleculares que ciclan el péptido.

También se proporcionan derivados de las proteínas de unión al antígeno que se describen en este documento. Las proteínas derivadas de unión al antígeno pueden comprender cualquier molécula o sustancia que imparte una propiedad deseada a la proteína o fragmento de unión al antígeno, tal como una semivida aumentada en un uso particular. La proteína derivativa de unión al antígeno puede comprender, por ejemplo, una unidad estructural detectable (o marcación) (por ejemplo, una molécula radiactiva, colorimétrica, antigénica o enzimática, una perla detectable (tal como una perla magnética o electrodensa (por ejemplo, perla de oro)) o una molécula que se une a otra molécula (por ejemplo, biotina o estreptavidina), una unidad estructural terapéutica o diagnóstica (por ejemplo, una unidad estructural radioactivo, citotóxico o farmacéuticamente activo) o una molécula que aumenta la idoneidad de la proteína de unión al antígeno para un uso particular (por ejemplo, administración a un sujeto, tal como un sujeto humano, u otros usos in vivo o in vitro). Ejemplos de moléculas que se pueden utilizar para derivar una proteína de unión al antígeno incluyen albúmina (por ejemplo, albúmina de suero humano) y polietilenglicol (PEG). Los derivados enlazados con albúmina y PEGilados de proteínas de unión al antígeno se pueden preparar utilizando técnicas bien conocidas en la técnica. En una realización, la proteína de unión al antígeno está conjugada o ligada de otro modo a transtiretina (TTR) o una variante de TTR. La variante TTR o TTR puede ser modificada químicamente con, por ejemplo, un producto químico seleccionado del grupo que consiste en dextrano, poli (n-vinilpirrolidona), polietilenglicoles, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxiethylados y alcoholes polivinílicos.

Otros derivados incluyen conjugados covalentes o agregados de proteínas de unión al antígeno de IL-23 con otras proteínas o polipéptidos, tales como por expresión de proteínas de fusión recombinantes que comprenden polipéptidos heterólogos fusionados al extremo N o extremo C de una proteína de unión al antígeno IL-23. Por ejemplo, el péptido conjugado puede ser un polipéptido de señal heteróloga (o líder), por ejemplo, el líder de factor alfa de levadura, o un péptido tal como una etiqueta de epítipo. Las proteínas de fusión que contienen proteína de unión al antígeno IL-23 pueden comprender péptidos añadidos para facilitar la purificación o identificación de la proteína de unión al antígeno de IL-23 (por ejemplo, poly-His). Una proteína de unión al antígeno de IL-23 también se puede unir al péptido FLAG tal como se describe en Hopp et al., 1988, *Bio/Technology* 6: 1204; y la Patente de Estados Unidos No. 5,011,912. El péptido FLAG es altamente antigénico y proporciona un epítipo unido reversiblemente por un anticuerpo monoclonal específico (mAb), lo que permite un ensayo rápido y una purificación fácil de la proteína recombinante expresada. Los reactivos útiles para preparar proteínas de fusión en las que el péptido FLAG se fusiona a un polipéptido dado están comercialmente disponibles (Sigma, St. Louis, MO).

Los oligómeros que contienen una o más proteínas de unión al antígeno de IL-23 se pueden emplear como antagonistas de IL-23. Los oligómeros pueden estar en forma de dímeros, trimeros o oligómeros superiores unidos covalentemente o no unidos covalentemente. Se contemplan oligómeros que comprenden dos o más proteínas de unión al antígeno de IL-23 para su uso, siendo un ejemplo un homodímero. Otros oligómeros incluyen heterodímeros, homotrimeros, heterotrimeros, homotetrámeros, heterotetrámeros, etc. También se incluyen oligómeros que comprenden múltiples proteínas de unión a IL-23 unidas por interacciones covalentes o no covalentes entre unidades estructurales peptídicas fusionados con las proteínas de unión al antígeno de IL-23. Tales péptidos pueden ser enlazantes peptídicos (espaciadores), o péptidos que tienen la propiedad de promover la

- oligomerización. Entre los enlazantes peptídicos apropiados se encuentran los descritos en la Patente de los Estados Unidos. Nos. 4,751,180 y 4,935,233. Las cremalleras de leucina y ciertos polipéptidos derivados de los anticuerpos están entre los péptidos que pueden promover la oligomerización de proteínas de unión al antígeno de IL-23 unidas a los mismos. Ejemplos de dominios de cremallera de leucina apropiados para producir proteínas oligoméricas solubles se describen en la Publicación WIPO No. WO 94/10308; Hoppe et al., 1994, FEBS Letters 344: 191; y Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6: 267-278. En un enfoque, las proteínas de fusión recombinantes que comprenden un fragmento de proteína de unión al antígeno de IL-23 o derivado fusionado a un péptido de cremallera de leucina se expresan en células huésped apropiadas y los fragmentos o derivados de la proteína de unión al antígeno oligomérico IL-23 soluble oligomérico que se forman se recuperan del sobrenadante de cultivo.
- 5
- 10 Tales oligómeros pueden comprender de dos a cuatro proteínas de unión al antígeno de IL-23. Las unidades estructurales de proteína de unión al antígeno de IL-23 del oligómero pueden estar en cualquiera de las formas descritas anteriormente, por ejemplo, variantes o fragmentos. Preferiblemente, los oligómeros comprenden proteínas de unión al antígeno de IL-23 que tienen actividad de unión a IL-23. Los oligómeros se pueden preparar utilizando polipéptidos derivados de inmunoglobulinas. La preparación de proteínas de fusión que comprenden ciertos polipéptidos heterólogos fusionados a diversas porciones de polipéptidos derivados de los anticuerpos (incluyendo el dominio Fc) se ha descrito, por ejemplo, por Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535; Byrn et al., 1990, Nature 344:677; y Hollenbaugh et al., 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins", en Current Protocols in Immunology, Suppl.4, páginas 10.19.1-10.19.11.
- 15
- 20 También se incluyen dímeros que comprenden dos proteínas de fusión creadas por fusión de una proteína de unión al antígeno de IL-23 con la región Fc de un anticuerpo. El dímero se puede fabricar, por ejemplo, insertando una fusión génica que codifica la proteína de fusión en un vector de expresión apropiado, expresando la fusión génica en células huésped transformadas con el vector de expresión recombinante y permitiendo que la proteína de fusión expresada se ensambla como moléculas del anticuerpo, después de lo cual se forman enlaces disulfuro entre cadenas entre las unidades estructurales Fc para producir el dímero. Tales polipéptidos Fc incluyen formas nativas y muteínas de polipéptidos derivados de la región Fc de un anticuerpo. Se incluyen también formas truncadas de tales polipéptidos que contienen la región bisagra que promueve la dimerización. Las proteínas de fusión que comprenden unidades estructurales Fc (y oligómeros formados a partir de ellas) ofrecen la ventaja de una purificación fácil mediante cromatografía de afinidad sobre columnas de proteína A o proteína G. Un polipéptido Fc apropiado, descrito en la Publicación WIPO No. WO 93/10151 y en la Patente de EE.UU. Números 5,426,048 y 5,262,522, es un polipéptido de cadena sencilla que se extiende desde la región bisagra N-terminal al extremo C-terminal nativo de la región Fc de un anticuerpo IgG1 humano. Otro polipéptido Fc útil es la muteína Fc descrita en la Patente US No. 5.457.035, y en Baum et al., 1994, EMBO J. 13: 3992-4001. La secuencia de aminoácidos de esta muteína es idéntica a la de la secuencia Fc nativa presentada en la publicación de la OMPI No. WO 93/10151, excepto que el aminoácido 19 se ha cambiado de Leu a Ala, el aminoácido 20 se ha cambiado de Leu a Glu, y el aminoácido 22 se ha cambiado de Gly a Ala. La muteína muestra una afinidad reducida por los receptores Fc.
- 25
- 30
- 35

Glucosilación

- La proteína de unión al antígeno puede tener un patrón de glucosilación que es diferente o alterado del que se encuentra en la especie nativa. Como es conocido en la técnica, los patrones de glucosilación pueden depender tanto de la secuencia de la proteína (por ejemplo, la presencia o ausencia de residuos de aminoácidos particulares de glucosilación, discutidos más adelante), o la célula o el organismo huésped en donde se produce la proteína. Los sistemas de expresión particulares se discuten a continuación.
- 40
- La glucosilación de polipéptidos está por lo general unida a N o unida a O. Unida a N se refiere a la unión de la unidad estructural de carbohidrato a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias tri-péptido asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática del resto carbohidrato a la cadena lateral de asparagina. Por lo tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias tri-péptido en un polipéptido crea un potencial sitio de glucosilación. La glucosilación unida a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa, a un hidroxiaminoácido, más comúnmente serina o treonina, aunque también se puede usar 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.
- 45
- 50 La adición de sitios de glucosilación a la proteína de unión al antígeno se lleva a cabo convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de tal manera que contiene una o más de las secuencias tri-péptido descritas anteriormente (para sitios de glucosilación unidos a N). La alteración también se puede realizar mediante la adición o sustitución de uno o más residuos de serina o treonina a la secuencia de partida (para sitios de glucosilación unidos a O). Para facilitar, la secuencia de aminoácidos de la proteína de unión al antígeno puede alterarse a través de cambios a nivel de ADN, particularmente mediante la mutación del ADN que codifica el polipéptido diana en bases preseleccionadas de tal manera que se generen codones que se traducirán en los aminoácidos deseados.
- 55

Otro medio para aumentar el número de unidades estructurales carbohidratos en la proteína de unión al antígeno es mediante acoplamiento químico o enzimático de glucósidos a la proteína. Estos procedimientos son ventajosos porque no requieren la producción de la proteína en una célula huésped que tiene capacidades de glucosilación para la glucosilación unida a N y O. Dependiendo del modo de acoplamiento utilizado, el azúcar o azúcares pueden estar unidos a (a) arginina e histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfhidrilo libres tales como los de cisteína, (d) grupos hidroxilo libres tales como los de serina, treonina o hidroxiprolina, (e) residuos aromáticos tales como los de fenilalanina, tirosina o triptófano, o (f) el grupo amida de glutamina. Estos métodos se describen en la publicación PCT No. WO 87/05330, y en Aplin and Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., Páginas 259-306.

La eliminación de restos carbohidrato presente en la proteína de unión al antígeno de partida se puede realizar química o enzimáticamente. La desglucosilación química requiere la exposición de la proteína al compuesto ácido trifluorometanosulfónico, o un compuesto equivalente. Este tratamiento da lugar a la escisión de la mayoría o de todos los azúcares excepto el azúcar de enlace (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), dejando intacto el polipéptido. La desglucosilación 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 unidades estructurales carbohidrato sobre polipéptidos se puede conseguir mediante el uso de una variedad de endo y exo-glucosidasas como se describe por Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138:350. La glucosilación en sitios potenciales de glucosilación se puede evitar mediante el uso del compuesto tunicamicina como se describe por Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257:3105. La tunicamicina bloquea la formación de enlaces de proteína N-glucósido.

Por lo tanto, los aspectos incluyen variantes de glucosilación de las proteínas de unión al antígeno en las que el número y/o el tipo del sitio(s) de glucosilación ha sido alterado en comparación con las secuencias de aminoácidos del polipéptido original. En ciertas realizaciones, las variantes de la proteína de unión al antígeno comprenden un número mayor o menor de sitios de glucosilación unidos a N que el polipéptido original. Las sustituciones que eliminan o alteran esta secuencia impedirán la adición de una cadena de carbohidrato unida a N presente en el polipéptido original. Por ejemplo, la glucosilación se puede reducir mediante la supresión de un Asn o sustituyendo el Asn por un aminoácido diferente. Los anticuerpos tienen por lo general un sitio de glucosilación unido a N en la región Fc.

Grupos efector y marcador

Las proteínas de unión al antígeno pueden comprender uno o más marcadores. El término "marcador" o "grupo de marcación" se refiere a cualquier marcador detectable. En general, los marcadores caen en una variedad de clases, dependiendo del ensayo en donde se van a detectar: a) marcadores isotópicos, que pueden ser isótopos radiactivos o pesados; b) marcadores magnéticos (por ejemplo, partículas magnéticas); c) unidades estructurales activas redox; c) colorantes ópticos; grupos enzimáticos (por ejemplo peroxidasa de rábano picante, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina); e) grupos biotinilados; y f) epítomos polipeptídicos predeterminados reconocidos por un indicador secundario (por ejemplo, secuencias de par de cremallera de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metales, marcadores de epítomo, etc.). En algunas realizaciones, el grupo marcador se acopla a la proteína de unión al antígeno a través de brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el impedimento estérico potencial. En la técnica se conocen diversos métodos para etiquetar proteínas. Ejemplos de grupos de marcación apropiados incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), grupos fluorescentes (por ejemplo FITC, Fósforos de lantánidos), grupos enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), grupos quimioluminiscentes, grupos biotínico o epítomos polipéptidos predeterminados reconocidos por un indicador secundario (por ejemplo, secuencias de par de cremallera de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metales, etiquetas de epítomo). En algunas realizaciones, el grupo marcador se acopla a la proteína de unión al antígeno a través de brazos espaciadores de diversas longitudes para reducir el impedimento estérico potencial. En la técnica se conocen varios métodos para etiquetar proteínas y pueden utilizarse según se considere apropiado.

El término "grupo efector" significa cualquier grupo acoplado a una proteína de unión al antígeno que actúa como un agente citotóxico. Ejemplos de grupos efectores apropiados son radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I). Otros grupos apropiados incluyen toxinas, grupos terapéuticos o grupos quimioterapéuticos. Ejemplos de grupos apropiados incluyen caliqueamicina, auristatinas, geldanamicina y maytansina. En algunas realizaciones, el grupo efector se acopla a la proteína de unión al antígeno a través de brazos espaciadores de diversas longitudes para reducir el impedimento estérico potencial.

Polinucleótidos que codifican las proteínas de unión al antígeno IL-23

Los polinucleótidos que codifican las proteínas de unión al antígeno descritas en este documento, o partes de las mismas, también se describen y/o se reivindican en este documento que incluyen polinucleótidos que codifican una o ambas cadenas de un anticuerpo, o un fragmento, derivado, muteína o variante de los mismos, polinucleótidos que

codifican la región variable de cadena pesada o solamente CDR, polinucleótidos suficientes para su uso como sondas de hibridación, cebadores de PCR o cebadores de secuenciación para identificar, analizar, mutar o amplificar un polinucleótido que codifica un polipéptido, ácidos nucleicos antisentido para inhibir la expresión de un polinucleótido y secuencias complementarias de lo anterior. Los polinucleótidos pueden tener cualquier longitud. Pueden ser, por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 85, 95, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750, 1.000, 1.500, 3.000, 5.000 o más ácidos nucleicos de longitud, incluyendo todos los valores intermedios, y/o pueden comprender una o más secuencias adicionales, por ejemplo, secuencias reguladoras, y/o ser parte de un polinucleótido más grande, por ejemplo, un vector. Los polinucleótidos pueden ser monocatenarios o bicatenarios y pueden comprender ácidos nucleicos de ARN y/o ADN y variantes artificiales de los mismos (por ejemplo, ácidos nucleicos peptídicos).

Los polinucleótidos que codifican ciertas proteínas de unión al antígeno, o porciones de las mismas (por ejemplo, anticuerpo de longitud completa, cadena pesada o ligera, dominio variable o CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 o CDRL3) se pueden aislar a partir de células B de ratones que se han inmunizado con IL-23 o un fragmento inmunogénico del mismo. El polinucleótido se puede aislar mediante procedimientos convencionales tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La expresión en fagos es otro ejemplo de una técnica conocida por la que se pueden preparar derivados de los anticuerpos y otras proteínas de unión al antígeno. En un enfoque, los polipéptidos que son componentes de una proteína de unión al antígeno de interés se expresan en cualquier sistema de expresión recombinante apropiado, y se permite que los polipéptidos expresados se ensamblen para formar moléculas de proteína de unión al antígeno. La expresión en fagos también se utiliza para derivar proteínas de unión al antígeno que tienen propiedades diferentes (es decir, afinidades variables para el antígeno al que se unen) a través de la mezcla de cadena, véase Marks et al., 1992, *BioTechnology* 10: 779.

Debido a la degeneración del código genético, cada una de las secuencias de polipéptidos representadas en este documento también están codificadas por un gran número de otras secuencias polinucleotídicas además de las proporcionadas. Por ejemplo, los dominios variables de cadena pesada proporcionados en el presente documento pueden codificarse por secuencias de polinucleótidos SEC ID NOs: 32, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57 o 59. Los dominios variables de cadena ligera se pueden codificar por las secuencias de polinucleótidos SEQ ID NOs: 2, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 o 28. Un experto en el arte apreciará que la presente solicitud proporciona por tanto una descripción y habilitación escrita adecuada para cada secuencia de nucleótidos degenerada que codifica cada proteína de unión al antígeno.

Un aspecto proporciona además polinucleótidos que se hibridan con otras moléculas polinucleotídicas bajo condiciones de hibridación particulares. Los métodos para hibridar ácidos nucleicos, parámetros básicos que afectan a la elección de condiciones de hibridación y orientación para idear condiciones apropiadas son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook, Fritsch, and Maniatis (2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. y *Current Protocols in Molecular Biology*, 1995, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Inc. Como se define en este documento, una condición de hibridación moderadamente restrictiva utiliza una solución de prelavado que contiene 5x cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC), SDS al 0.5%, EDTA 1.0 mM (pH 8.0), solución reguladora de hibridación de aproximadamente 50% de formamida, 6x SSC y una temperatura de hibridación de 55°C (u otras soluciones de hibridación similares, tal como una que contiene aproximadamente 50% de formamida, con una temperatura de hibridación de 42°C) y condiciones de lavado de 60°C, en 0.5x SSC, SDS al 0.1%. Una condición de hibridación estricta hibrida en 6x SSC a 45°C, seguido de uno o más lavados en 0.1x SSC, SDS al 0.2% a 68°C. Además, un experto en el arte puede manipular la hibridación y/o condiciones de lavado para aumentar o disminuir la rigurosidad de la hibridación de tal manera que los polinucleótidos que comprenden secuencias de ácido nucleico que son al menos el 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idénticos entre sí, incluyendo todos los valores intermedios, por lo general permanecen hibridados entre sí.

Se pueden introducir cambios por mutación en un polinucleótido, lo que conduce a cambios en la secuencia de aminoácidos de un polipéptido (por ejemplo, una proteína de unión al antígeno o un derivado de la proteína de unión al antígeno) que codifica. Las mutaciones se pueden introducir utilizando cualquier técnica conocida en la técnica, tal como mutagénesis dirigida y mutagénesis aleatoria. Los polipéptidos mutantes se pueden expresar y seleccionar para una propiedad deseada. Las mutaciones se pueden introducir en un polinucleótido sin alterar significativamente la actividad biológica de un polipéptido que codifica. Por ejemplo, sustituciones en residuos de aminoácidos no esenciales. Alternativamente, se pueden introducir una o más mutaciones en un polinucleótido que cambia selectivamente la actividad biológica de un polipéptido que codifica. Por ejemplo, la mutación puede modificar cuantitativa o cualitativamente la actividad biológica, tal como aumentar, reducir o eliminar la actividad y cambiar la especificidad antigénica de una proteína de unión al antígeno.

Otro aspecto proporciona polinucleótidos que son apropiados para su uso como cebadores o sondas de hibridación para la detección de secuencias de ácido nucleico. Un polinucleótido puede comprender solamente una porción de una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de longitud completa, por ejemplo, un fragmento que

5 puede usarse como una sonda o cebador o un fragmento que codifica una porción activa (por ejemplo, una porción de unión a IL-23) de un polipéptido. Se pueden usar sondas basadas en la secuencia de un ácido nucleico para detectar el ácido nucleico o ácidos nucleicos similares, por ejemplo, transcripciones que codifican un polipéptido. La sonda puede comprender un grupo marcador, por ejemplo, un radioisótopo, un compuesto fluorescente, una enzima o un cofactor enzimático. Dichas sondas se pueden utilizar para identificar una célula que expresa el polipéptido.

Métodos de expresión de proteínas de unión al antígeno

10 Las proteínas de unión al antígeno proporcionadas en la presente invención se pueden preparar mediante cualquiera de una serie de técnicas convencionales. Por ejemplo, las proteínas de unión al antígeno de IL-23 se pueden producir mediante sistemas de expresión recombinantes, utilizando cualquier técnica conocida en la técnica. Véase, por ejemplo, Anticuerpos Monoclonales, Hibridomas: A New Dimension in Biological Analyses, Kennet et al.(eds.) Plenum Press, New York (1980); y Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow y Lane (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1988).

15 También se proporcionan en este documento sistemas de expresión y construcciones en forma de plásmidos, vectores de expresión, casetes de transcripción o expresión que comprenden al menos un polinucleótido como se ha descrito anteriormente, así como células huésped que comprenden dichos sistemas o construcciones de expresión. Como se utiliza en este documento, "vector" significa cualquier molécula o entidad (por ejemplo, ácido nucleico, plásmido, bacteriófago o virus) apropiada para su uso para transferir información codificante de proteína a una célula huésped. Ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, plásmidos, vectores virales, vectores de mamífero no episómicos y vectores de expresión, por ejemplo, vectores de expresión recombinantes. Los vectores de expresión, 20 tales como vectores de expresión recombinantes, son útiles para la transformación de una célula huésped y contienen secuencias de ácido nucleico que dirigen y/o controlan (junto con la célula huésped) la expresión de una o más regiones codificantes heterólogas unidas operativamente a la misma. Una construcción de expresión puede incluir, pero no está limitado a, secuencias que afectan o controlan la transcripción, traducción y, si los intrones están presentes, afectan al empalme de ARN de una región codificante unida operativamente a la misma. "Unido operativamente" significa que los componentes a los que se aplica el término están en una relación que les permite llevar a cabo sus funciones inherentes. Por ejemplo, una secuencia de control, por ejemplo, un promotor, en un vector que está "unido operativamente" a una secuencia codificadora de proteína, está dispuesta de tal manera que la actividad normal de la secuencia de control conduce a la transcripción de la secuencia codificante de la proteína que da como resultado la expresión recombinante de la proteína codificada.

30 Otro aspecto proporciona células huésped en las que se ha introducido un vector de expresión, tal como un vector de expresión recombinante. Una célula huésped puede ser cualquier célula procariótica (por ejemplo, E. coli) o célula eucariótica (por ejemplo, células de levadura, insectos o mamíferos (por ejemplo, células CHO)). El ADN vector puede introducirse en células procarióticas o eucariotas a través de técnicas convencionales de transformación o transfección. Para transfección estable de células de mamífero, se sabe que, dependiendo del 35 vector de expresión y de la técnica de transfección utilizada, sólo una pequeña fracción de células puede integrar el ADN extraño en su genoma. Con el fin de identificar y seleccionar estos integrantes, un gen que codifica un marcador seleccionable (por ejemplo, para la resistencia a los antibióticos) se introduce generalmente en las células huésped junto con el gen de interés. Los marcadores seleccionables preferidos incluyen aquellos que confieren resistencia a fármacos, tales como G418, higromicina y metotrexato. Las células transfectadas de forma estable con el polinucleótido introducido pueden identificarse mediante selección de fármacos (por ejemplo, las células que han 40 incorporado el gen marcador seleccionable sobrevivirán, mientras que las otras células mueren), entre otros métodos.

45 Las proteínas de unión al antígeno se pueden expresar en líneas celulares de hibridoma (por ejemplo, en particular los anticuerpos se pueden expresar en hibridomas) o en líneas celulares distintas de los hibridomas. Las construcciones de expresión que codifican las proteínas de unión al antígeno se pueden utilizar para transformar una célula hospedadora de mamífero, insecto o microbiana. La transformación se puede realizar utilizando cualquier método conocido para introducir polinucleótidos en una célula huésped, incluyendo, por ejemplo, el empaquetado del polinucleótido en un virus o bacteriófago y la transducción de una célula huésped con la construcción por procedimientos de transfección conocidos en la técnica, como se ejemplifica por las Patentes de los Estados Unidos 50 Nos. 4,399,216; 4,912,040; 4,740,461; 4,959,455. El procedimiento de transformación óptimo utilizado dependerá del tipo de célula huésped que se esté transformando. Los métodos para la introducción de polinucleótidos heterólogos en células de mamífero son bien conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, transfección mediada por dextrano, precipitación con fosfato de calcio, transfección mediada por polibreno, fusión de protoplastos, electroporación, encapsulación del polinucleótido en liposomas, mezcla de ácido nucleico con lípidos cargados positivamente, y microinyección directa del ADN en núcleos.

55 Las construcciones de expresión recombinantes por lo general comprenden un polinucleótido que codifica un polipéptido. El polipéptido puede comprender uno o más de los siguientes: una o más CDR tales como los

proporcionados en este documento; Una región variable de cadena ligera; Una región variable de cadena pesada; Una región constante de cadena ligera; Una región constante de cadena pesada (por ejemplo, C_{H1}, C_{H2} y/o C_{H3}) y/u otra porción de andamio de una proteína de unión al antígeno de IL-23. Estas secuencias de ácido nucleico se insertan en un vector de expresión apropiado utilizando técnicas de unión estándar. En una realización, la región constante de cadena pesada o ligera se adiciona al extremo C de una región variable de cadena pesada o ligera proporcionada en este documento y se une en un vector de expresión. El vector se selecciona por lo general para ser funcional en la célula huésped particular empleada (es decir, el vector es compatible con la maquinaria de la célula huésped, permitiendo que se produzca la amplificación y/o expresión del gen). En algunas realizaciones, se utilizan vectores que emplean ensayos de complementación de fragmentos de proteínas utilizando indicadores de proteínas, tales como dihidrofolato reductasa (véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos No. 6,270,964). Los vectores de expresión apropiados se pueden adquirir, por ejemplo, de Invitrogen Life Technologies (Carlsbad, CA) o BD Biosciences (San Jose, CA). Otros vectores útiles para clonar y expresar los anticuerpos y fragmentos incluyen los descritos en Bianchi and McGrew, 2003, Biotech. Biotechnol. Bioeng. 84: 439-44. Otros vectores de expresión apropiados se discuten, por ejemplo, en Methods Enzymol., vol. 185 (D. V. Goeddel, ed.), 1990, New York: Academic Press.

Por lo general, los vectores de expresión utilizados en cualquiera de las células huésped contendrán secuencias para el mantenimiento del plásmido y para la clonación y expresión de secuencias de nucleótidos exógenas. Tales secuencias, denominadas colectivamente como "secuencias flanqueantes" en ciertas realizaciones, incluirán por lo general una o más de las siguientes secuencias de nucleótidos: un promotor, una o más secuencias potenciadoras, un origen de replicación, una secuencia de terminación transcripcional, una secuencia de intrones completa que contiene un sitio de unión de donante y aceptor, una secuencia que codifica una secuencia líder para la secreción de un polipéptido, un sitio de unión al ribosoma, una secuencia de poliadenilación, una región de polienlazante para insertar el polinucleótido que codifica el polipéptido a expresar y un elemento marcador seleccionable. Los vectores de expresión que se proporcionan pueden construirse a partir de un vector de partida tal como un vector comercialmente disponible. Tales vectores pueden contener o no todas las secuencias flanqueantes deseadas. Cuando una o más de las secuencias flanqueantes descritas en el presente documento ya no están presentes en el vector, se pueden obtener individualmente y ligarse al vector. Los métodos utilizados para obtener cada una de las secuencias flanqueantes son bien conocidos por los expertos en la técnica.

Opcionalmente, el vector puede contener una secuencia codificadora de "etiqueta", esto es, una molécula de oligonucleótido situada en el extremo 5' o 3' de la secuencia codificante de la proteína de unión al antígeno de IL-23; la secuencia oligonucleotídica codifica poliHis (tal como hexaHis), u otra "etiqueta" tal como FLAG®, HA (virus de la gripe hemaglutinina) o myc, para los que existen anticuerpos comercialmente disponibles. Esta etiqueta se fusiona por lo general al polipéptido tras la expresión del polipéptido y puede servir como un medio para la purificación por afinidad o la detección de la proteína de unión al antígeno de IL-23 desde la célula huésped. La purificación de afinidad puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante cromatografía en columna utilizando anticuerpos contra la etiqueta como una matriz de afinidad. Opcionalmente, la etiqueta puede ser posteriormente retirada de la proteína de unión al antígeno de IL-23 purificada por diversos medios tales como el uso de ciertas peptidasas para la escisión.

Las secuencias flanqueantes pueden ser homólogas (esto es, de la misma especie y/o cepa como la célula huésped), heterólogas (esto es, de una especie distinta de la especie o cepa de la célula huésped), híbrido (esto es, una combinación de secuencias flanqueantes de más de una fuente), sintéticas o nativas. Como tal, la fuente de una secuencia flanqueante puede ser cualquier organismo procariótico o eucariótico, cualquier organismo vertebrado o invertebrado, o cualquier planta, siempre que la secuencia flanqueante sea funcional y pueda ser activada por la maquinaria de la célula huésped.

Las secuencias flanqueantes útiles en los vectores se pueden obtener por cualquiera de varios métodos bien conocidos en la técnica. Por lo general, las secuencias flanqueantes útiles en la presente invención habrán sido identificadas previamente por cartografía y/o por digestión con endonucleasas de restricción y, de este modo, pueden aislarse de la fuente de tejido apropiada utilizando las endonucleasas de restricción apropiadas. En algunos casos, puede conocerse la secuencia completa de nucleótidos de una secuencia flanqueante. En este caso, la secuencia flanqueante se puede sintetizar utilizando los métodos descritos en este documento para la síntesis o clonación de ácidos nucleicos.

Si se conoce toda o sólo una porción de la secuencia flanqueante, se puede obtener utilizando reacción en cadena de polimerasa (PCR) y/o por selección de una biblioteca genómica con una sonda apropiada tal como un oligonucleótido y/o fragmento de secuencia flanqueante de la misma u otra especie. Cuando la secuencia flanqueante no se conoce, se puede aislar un fragmento de ADN que contiene una secuencia flanqueante a partir de una pieza de ADN más grande que puede contener, por ejemplo, una secuencia codificante o incluso otro gen o genes. El aislamiento se puede realizar mediante digestión con endonucleasas de restricción para producir el fragmento de ADN apropiado seguido de aislamiento utilizando purificación en gel de agarosa, cromatografía en

columna Qiagen® (Qiagen, Chatsworth, CA) u otros métodos conocidos por el experto en el arte. La selección de enzimas apropiadas para lograr este propósito será fácilmente evidente para un experto en el arte.

5 Un origen de replicación es por lo general una parte de aquellos vectores de expresión procarióticos adquiridos comercialmente, y el origen ayuda a la amplificación del vector en una célula huésped. Si el vector de elección no contiene un origen de sitio de replicación, se puede sintetizar químicamente en base a una secuencia conocida y se liga en el vector. Por ejemplo, el origen de la replicación del plásmido pBR322 (New England Biolabs, Beverly, MA) es apropiado para la mayoría de las bacterias gramnegativas, y varios orígenes virales (por ejemplo, SV40, polioma, adenovirus, virus vesicular stomatitis (VSV) o Papilomavirus tales como HPV o BPV) son útiles para clonar vectores en células de mamífero. Generalmente, el origen del componente de replicación no es necesario para vectores de expresión de mamíferos (por ejemplo, el origen de SV40 se utiliza a menudo sólo porque contiene también el promotor temprano del virus).

15 Una secuencia de terminación de la transcripción se encuentra por lo general 3' en el extremo de una región codificante de polipéptido y sirve para terminar la transcripción. Normalmente, una secuencia de terminación de la transcripción en células procariotas es un fragmento rico en G-C seguido por una secuencia poli-T. Aunque la secuencia se clona fácilmente desde una biblioteca o incluso se adquiere comercialmente como parte de un vector, también puede sintetizarse fácilmente utilizando métodos para la síntesis de ácidos nucleicos tales como los descritos en este documento.

20 Un gen marcador seleccionable codifica una proteína necesaria para la supervivencia y el crecimiento de una célula huésped cultivada en un medio de cultivo selectivo. Los genes marcadores de selección típicos codifican proteínas que (a) confieren resistencia a antibióticos u otras toxinas, por ejemplo, ampicilina, tetraciclina o kanamicina para células huésped procarióticas; (b) complementar deficiencias auxotróficas de la célula; o (c) suministrar nutrientes críticos no disponibles de medios complejos o definidos. Los marcadores seleccionables específicos son el gen de resistencia a la kanamicina, el gen de resistencia a la ampicilina y el gen de resistencia a la tetraciclina. Ventajosamente, también se puede usar un gen de resistencia a la neomicina para la selección tanto en células huésped procarióticas como eucarióticas.

30 Se pueden usar otros genes seleccionables para amplificar el gen que se expresará. La amplificación es el proceso en donde los genes que se requieren para la producción de una proteína crítica para el crecimiento o la supervivencia celular se reiteran en tándem dentro de los cromosomas de las sucesivas generaciones de células recombinantes. Ejemplos de marcadores seleccionables apropiados para células de mamífero incluyen dihidrofolato reductasa (DHFR) y genes de timidina quinasa sin promotor. Los transformantes de células de mamífero se colocan bajo presión de selección en donde sólo los transformantes están adaptados de forma única para sobrevivir en virtud del gen seleccionable presente en el vector. La presión de selección se impone cultivando las células transformadas en condiciones en las que la concentración del agente de selección en el medio se incrementa sucesivamente, conduciendo de este modo a la amplificación tanto del gen seleccionable como del ADN que codifica otro gen, tal como una proteína de unión al antígeno que se une a IL-23. Como resultado, se sintetizan cantidades incrementadas de un polipéptido tal como una proteína de unión al antígeno a partir del ADN amplificado.

40 Un sitio de unión al ribosoma es usualmente necesario para la iniciación de la traducción del ARNm y se caracteriza por una secuencia de Shine-Dalgarno (procariotas) o una secuencia de Kozak (eucariotas). El elemento se encuentra por lo general 3' con respecto al promotor y 5' con la secuencia codificante del polipéptido que se va a expresar.

45 En algunos casos, tal como donde se desea la glucosilación en un sistema de expresión de células huésped eucarióticas, se pueden manipular las diversas pre o pro-secuencias para mejorar la glucosilación o el rendimiento. Por ejemplo, se puede alterar el sitio de escisión de la peptidasa de un péptido señal particular, o añadir prosecuencias, que también pueden afectar a la glucosilación. El producto proteico final puede tener, en la posición -1 (con respecto al primer aminoácido de la proteína madura), uno o más aminoácidos adicionales incidentales a la expresión, que pueden no haber sido totalmente eliminados. Por ejemplo, el producto proteico final puede tener uno o dos residuos de aminoácidos encontrados en el sitio de escisión de la peptidasa, unido al extremo amino. Alternativamente, el uso de algunos sitios de escisión enzimática puede dar lugar a una forma ligeramente truncada del polipéptido deseado, si la enzima corta en dicha zona dentro del polipéptido maduro.

50 La expresión y la clonación contendrán por lo general un promotor que es reconocido por el organismo huésped y unido operativamente a la molécula que codifica una proteína de unión al antígeno de IL-23. Los promotores son secuencias no transcritas situadas aguas arriba (es decir, 5') hasta el codón de inicio de un gen estructural (generalmente dentro de aproximadamente 100 a 1000 pb) que controlan la transcripción del gen estructural. Los promotores se agrupan convencionalmente en una de dos clases: promotores inducibles y promotores constitutivos. 55 Los promotores inducibles inician niveles aumentados de transcripción de ADN bajo su control en respuesta a algún cambio en las condiciones de cultivo, tales como la presencia o ausencia de un nutriente o un cambio de

temperatura. Los promotores constitutivos, por otra parte, transcriben uniformemente un gen al que están unidos operativamente, es decir, con poco o ningún control sobre la expresión génica. Un gran número de promotores, reconocidos por una variedad de potenciales células huésped, son bien conocidos. Un promotor apropiado está unido operativamente al ADN que codifica una región variable de cadena pesada o una región variable de cadena ligera de una proteína de unión al antígeno de IL-23 eliminando el promotor del ADN fuente por digestión con enzimas de restricción e insertando la secuencia promotora deseada en el vector.

Los promotores apropiados para uso con huéspedes de levadura son también bien conocidos en la técnica. Los potenciadores de la levadura se utilizan ventajosamente con promotores de levadura. Los promotores apropiados para su uso con células huésped de mamífero son bien conocidos e incluyen, pero no se limitan a, los obtenidos a partir de los genomas de virus tales como virus de polio, virus de la viruela aviar, adenovirus (tal como adenovirus 2), virus del papiloma bovino, virus del sarcoma aviar, citomegalovirus, retrovirus, virus de la hepatitis B y Virus Simio 40 (SV40). Otros promotores de mamíferos apropiados incluyen promotores de mamíferos heterólogos, por ejemplo, promotores de choque térmico y el promotor de actina.

Otros promotores que pueden ser de interés incluyen, pero no se limitan a: promotor temprano SV40 (Benoist and Chambon, 1981, Nature 290:304-310); promotor de CMV (Thorsen et al., 1984, Proc. Nat. Acad. U.S.A. 81: 659-663); promotor contenido en la repetición terminal larga 3' del virus del sarcoma de Rous (Yamamoto et al., 1980, Cell 22:787-797); promotor de la timidina quinasa del herpes (Wagner et al., 1981, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 78: 1444-1445); promotor y secuencias reguladoras del gen de metalotionina (Prinster et al., 1982, Nature 296: 39-42); y promotores procariotas tales como el promotor de beta-lactamasa (Villa-Kamaroff et al., 1978, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 75: 3727-3731); o el promotor tac (DeBoer et al., 1983, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 80: 21-25). También son de interés las siguientes regiones de control de transcripcional animal, que exhiben especificidad tisular y se han utilizado en animales transgénicos: la región de control del gen de la elastasa I que es activa en células acinares pancreáticas (Swift et al., 1984, Cell 38: 639-646, Ornitz et al., 1986, Cold Spring Harbor Symp, Quant. Biol. 50: 399-409; MacDonald, 1987, Hepatology 7: 425-515); la región de control del gen de la insulina que es activa en las células beta pancreáticas (Hanahan, 1985, Nature 315: 115-122); la región de control del gen de la inmunoglobulina que es activa en células linfoides (Grosschedl et al., 1984, Cell 38: 647-658, Adames et al., 1985, Nature 318: 533-538, Alexander et al., 1987, Mol. Cell Biol. 7: 1436-1444); la región de control del virus del tumor mamario de ratón que es activa en células testiculares, de mama, linfoides y mastocitos (Leder et al., 1986, Cell 45: 485-495); la región de control del gen de la albúmina que es activa en el hígado (Pinkert et al., 1987, Genes and Devel 1: 268-276); la región de control del gen de la alfa-feto-proteína que es activa en el hígado (Krumlauf et al., 1985, Mol. Cell. Biol. 5: 1639-1648; Hammer et al., 1987, Science 253: 53-58); la región de control del gen de la alfa-1-antitripsina que es activa en el hígado (Kelsey et al., 1987, Genes and Devel 1: 161-171); la región de control del gen de la beta-globina que es activa en células mieloides (Mogram et al., 1985, Nature 315: 338-340, Kollias et al., 1986, Cell 46: 89-94); la región de control del gen de la proteína básica de la mielina que es activa en células de oligodendrocitos en el cerebro (Readhead et al., 1987, Cell 48: 703-712); la región de control del gen de la cadena ligera de la miosina 2 que es activa en el músculo esquelético (Sani, 1985, Nature 314: 283-286); y la región de control del gen de la hormona liberadora gonadotrópica que es activa en el hipotálamo (Mason et al., 1986, Science 234: 1372-1378).

Una secuencia potenciadora se puede insertar en el vector para aumentar la transcripción por eucariotas superiores. Los potenciadores son elementos que actúan en cis de ADN, normalmente de aproximadamente 10-300 pb de longitud, que actúan sobre el promotor para aumentar la transcripción. Los potenciadores son relativamente independientes de orientación y posición, habiéndose encontrado en posiciones tanto 5' como 3' con respecto a la unidad de transcripción. Se conocen varias secuencias potenciadoras disponibles a partir de genes de mamífero (por ejemplo, globina, elastasa, albúmina, alfa-feto-proteína e insulina). Normalmente, sin embargo, se utiliza un potenciador de un virus. El potenciador de SV40, el potenciador del promotor temprano de citomegalovirus, el potenciador de polio y los potenciadores de adenovirus conocidos en la técnica son elementos mejoradores de ejemplo para la activación de promotores eucarióticos. Mientras que un potenciador se puede situar en el vector ya sea 5' o 3' con respecto a una secuencia codificadora, se encuentra por lo general en un sitio 5' del promotor. Una secuencia que codifica una secuencia señal nativa o heteróloga apropiada (secuencia líder o péptido señal) se puede incorporar en un vector de expresión, para promover la secreción extracelular del anticuerpo. La elección del péptido señal o líder depende del tipo de células huésped en las que se va a producir el anticuerpo, y una secuencia señal heteróloga puede reemplazar a la secuencia señal nativa. Ejemplos de péptidos señal que son funcionales en células huésped de mamíferos incluyen los siguientes: la secuencia señal para la interleucina-7 descrita en la Patente de Estados Unidos No. 4,965,195; la secuencia señal para el receptor de interleucina-2 descrita en Cosman et al., 1984, Nature 312:768; el péptido señal del receptor de interleucina-4 descrito en la Patente EP No. 0367 566; el péptido señal del receptor de interleucina-1 de tipo I descrito en la Patente de Estados Unidos No. 4,968,607; el péptido de señal del receptor de interleucina-1 de tipo II descrito en la Patente EP No. 0 460 846.

Después de que se haya construido el vector, el vector completo se puede insertar en una célula huésped apropiada para la amplificación y/o expresión de polipéptidos. La transformación de un vector de expresión para una proteína de unión al antígeno en una célula huésped seleccionada se puede llevar a cabo mediante métodos bien conocidos

que incluyen transfección, infección, coprecipitación con fosfato cálcico, electroporación, microinyección, lipofección, transfección mediada por DEAE-dextrano u otras técnicas conocidas. El método seleccionado será en parte una función del tipo de célula huésped que se va a usar. Estos procedimientos y otros métodos apropiados son bien conocidos por los expertos en la técnica y se exponen, por ejemplo, en Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.y. (2001).

Una célula huésped, cuando se cultiva en condiciones apropiadas, sintetiza una proteína que puede ser posteriormente recogida del medio de cultivo (si la célula huésped segrega en el medio) o directamente de la célula huésped que la produce (si no se secreta). La selección de una célula huésped apropiada dependerá de diversos factores, tales como los niveles de expresión deseados, modificaciones de polipéptidos que son deseables o necesarias para la actividad (tal como glucosilación o fosforilación) y facilidad de plegamiento en una molécula biológicamente activa.

Las líneas celulares de mamíferos disponibles como huéspedes para la expresión son bien conocidas en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, líneas celulares inmortalizadas disponibles de la American Type Culture Collection (ATCC), incluyendo, pero no limitándose a ovario de hámster chino (CHO), Células de HeLa, células de riñón de hámster de bebé (BHK), células de riñón de mono (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, Hep G2) y una serie de otras líneas celulares. En ciertas realizaciones, las líneas celulares pueden seleccionarse mediante la determinación de qué líneas celulares tienen altos niveles de expresión y producen constitutivamente proteínas de unión al antígeno con propiedades de unión a IL-23. En otra realización, se puede seleccionar también una línea celular del linaje de células B que no fabrica su propio anticuerpo, sino que tiene una capacidad para producir y secretar un anticuerpo heterólogo.

Uso de proteínas de unión al antígeno humano IL-23 para fines de diagnóstico y terapéuticos

Las proteínas de unión al antígeno son útiles para detectar IL-23 en muestras biológicas e identificación de células o tejidos que producen IL-23. Las proteínas de unión al antígeno que se unen específicamente a IL-23 se pueden utilizar en el diagnóstico y/o tratamiento de enfermedades relacionadas con IL-23 en un paciente que lo necesite. Por una parte, las proteínas de unión al antígeno de IL-23 se pueden utilizar en ensayos de diagnóstico, por ejemplo, ensayos de unión para detectar y/o cuantificar la IL-23 expresada en sangre, suero, células o tejido. Además, las proteínas de unión al antígeno de IL-23 se pueden utilizar para reducir, inhibir, interferir o modular una o más actividades biológicas de IL-23 en una célula o tejido. De este modo, las proteínas de unión al antígeno que se unen a IL-23 pueden tener un uso terapéutico para mejorar las enfermedades relacionadas con IL-23.

Indicaciones

La presente invención también se refiere al uso de proteínas de unión al antígeno de IL-23 para su uso en la prevención o el tratamiento terapéutico de trastornos médicos, tales como los descritos en este documento. Las proteínas de unión al antígeno de IL-23 son útiles para tratar una variedad de condiciones en las que IL-23 está asociada o juega un papel en contribuir a la enfermedad o trastorno subyacente o contribuye de otro modo a un síntoma negativo.

Las condiciones tratadas eficazmente por las proteínas de unión al antígeno de IL-23 juegan un papel en la respuesta inflamatoria. Dichos trastornos inflamatorios incluyen enfermedad periodontal; trastornos pulmonares tales como asma; trastornos de la piel tales como psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto; trastornos reumáticos tales como artritis reumatoide, esclerosis sistémica progresiva (esclerodermia); lupus eritematoso sistémico; espondiloartritis, incluyendo espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, artritis enteropática y artritis reactiva. También se contempla uveítis incluyendo enfermedad de Vogt-Koyanagi-Harada, uveítis idiopática anterior y posterior y uveítis asociada con espondiloartritis. El uso de proteínas de unión al antígeno IL-23 también se contempla para el tratamiento de trastornos autoinmunes que incluyen esclerosis múltiple; miocarditis autoinmune; diabetes tipo 1 y tiroiditis autoinmune.

Las condiciones degenerativas del sistema gastrointestinal son tratables o prevenibles con proteínas de unión al antígeno de IL-23. Tales trastornos gastrointestinales incluyendo enfermedad inflamatoria intestinal: enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y enfermedad celíaca.

También se incluyen el uso de proteínas de unión al antígeno de IL-23 en tratamientos para enfermedad de injerto contra huésped, y complicaciones tales como rechazo de injerto, resultante de trasplante de órganos sólidos, tales como corazón, hígado, piel, riñón, pulmón u otros trasplantes, incluyendo trasplantes de médula ósea.

También se proporcionan en este documento usos médicos para usar proteínas de unión al antígeno de IL-23 para tratar diversos trastornos oncológicos que incluyen diversas formas de cáncer incluyendo colon, estómago, próstata, células renales, cánceres cervicales y ováricos y cáncer de pulmón (SCLC y NSCLC). También se incluyen tumores

sólidos, incluyendo sarcoma, osteosarcoma y carcinoma, tales como adenocarcinoma y carcinoma de células escamosas, cáncer esofágico, cáncer gástrico, carcinoma de vesícula biliar, leucemia, incluyendo leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia mieloide, leucemia linfoblástica crónica o aguda y leucemia de células pilosas, y mieloma múltiple.

5 Métodos de diagnóstico

Las proteínas de unión al antígeno de las descritas se pueden utilizar con fines de diagnóstico para detectar, diagnosticar o monitorizar enfermedades y/o estados asociados con IL-23. Ejemplos de métodos útiles en la detección de la presencia de IL-23 incluyen inmunoensayos, tales como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA) y el radioinmunoensayo (RIA).

10 Para aplicaciones de diagnóstico, la proteína de unión al antígeno por lo general se marcará con un grupo marcador detectable. Los grupos de marcación apropiados incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), grupos fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, lantánidos fósforos), grupos enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), grupos quimioluminiscentes, grupos biotínico, o epítopos polipéptidos predeterminados
15 reconocidos por un indicador secundario (por ejemplo, secuencias de par de cremallera de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión de metal, marcadores de epítopo). El grupo de marcación se puede acoplar a la proteína de unión al antígeno a través de brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el impedimento estérico potencial. En la técnica se conocen varios métodos para etiquetar proteínas y se pueden utilizar.

20 Se describen otros métodos de diagnóstico para identificar una célula o células que expresan IL-23. La proteína de unión al antígeno se puede marcar con un grupo marcador y se detecta la unión de la proteína de unión al antígeno marcado para IL-23. La unión de la proteína de unión al antígeno con IL-23 puede detectarse in vivo. La proteína de unión al antígeno de IL-23 se puede aislar y medirse utilizando técnicas conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Harlow and Lane, 1988, *Antibodies: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor (ed. 1991 y suplementos
25 periódicos); John E. Coligan, ed., 1993, *Current Protocols In Immunology* New York: John Wiley & Sons.

Se describen otros métodos para detectar la presencia de una molécula de prueba que compite por la unión a IL-23 con las proteínas de unión al antígeno. Un ejemplo de un ensayo de este tipo implicaría detectar la cantidad de proteína de unión al antígeno libre en una solución que contiene una cantidad de IL-23 en presencia o ausencia de la molécula de prueba. Un aumento en la cantidad de proteína de unión al antígeno libre (esto es, la proteína de
30 unión al antígeno no unida a IL-23) indicaría que la molécula de prueba es capaz de competir por la unión de IL-23 con la proteína de unión al antígeno. La proteína de unión al antígeno puede marcarse con un grupo de marcación. Alternativamente, la molécula de ensayo se marca y la cantidad de molécula de prueba libre se controla en presencia y ausencia de una proteína de unión al antígeno.

Usos médicos, formulaciones farmacéuticas, rutas de administración

35 Se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de una o varias de las proteínas de unión al antígeno y un excipiente, diluyente, portador, solubilizador, emulsionante, conservante y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable. Además, se incluyen los usos médicos del tratamiento de un paciente mediante la administración de dicha composición farmacéutica. El término "paciente" incluye pacientes humanos. Los términos "tratar" y "tratamiento" abarcan el alivio o prevención de al menos un síntoma u otro aspecto
40 de un trastorno, o reducción de la gravedad de la enfermedad, y similares. La expresión cantidad terapéuticamente eficaz o cantidad eficaz se refiere a la cantidad de una proteína de unión al antígeno de IL-23 determinada para producir cualquier respuesta terapéutica en un mamífero. Tales cantidades terapéuticamente eficaces son fácilmente comprobadas por un experto en el arte.

45 Una proteína de unión al antígeno no necesita afectar una curación completa, ni erradicar cada síntoma o manifestación de una enfermedad, para constituir un agente terapéutico viable. Como se reconoce en el campo pertinente, los fármacos empleados como agentes terapéuticos pueden reducir la gravedad de un estado de enfermedad dado, pero no necesitan abolir todas las manifestaciones de la enfermedad para considerarse como agentes terapéuticos útiles. De manera similar, no es necesario que un tratamiento administrado profilácticamente sea completamente eficaz para prevenir el inicio de una afección para constituir un agente profiláctico viable.

50 Simplemente reduciendo el impacto de una enfermedad (por ejemplo, reduciendo el número o severidad de sus síntomas, o aumentando la efectividad de otro tratamiento, o produciendo otro efecto beneficioso), o reduciendo la probabilidad de que la enfermedad ocurra o empeore en un sujeto, es suficiente. Ciertos usos médicos proporcionados en este documento comprenden administrar a un paciente las proteínas de unión al antígeno reivindicadas en este documento en una cantidad y durante un tiempo suficiente para inducir una mejora sostenida
55 sobre la línea base de un indicador que refleja la gravedad del trastorno particular.

5 Como se entiende en el campo pertinente, las composiciones farmacéuticas que comprenden las moléculas de la invención se administran a un paciente de una manera apropiada a la indicación. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar por cualquier técnica apropiada, incluyendo, pero no limitándose a, por vía parenteral, tópica o por inhalación. Si se inyecta, la composición farmacéutica se puede administrar, por ejemplo, vía intraarticular, intravenosa, intramuscular, intralesional, intraperitoneal o subcutánea, mediante inyección en bolo o infusión
10 continua. La administración localizada, por ejemplo, en un sitio de enfermedad o lesión, así como el suministro transdérmico y la liberación sostenida de implantes. La administración por inhalación incluye, por ejemplo, inhalación nasal u oral, uso de un nebulizador, inhalación del antagonista en forma de aerosol y similares. Otras alternativas incluyen gotas para los ojos; preparaciones orales que incluyen píldoras, jarabes, comprimidos para masticar o goma de mascar; y preparaciones tópicas tales como lociones, geles, aerosoles y ungüentos.

También se contempla el uso de proteínas de unión al antígeno en procedimientos ex vivo. Por ejemplo, la sangre de un paciente u otro fluido corporal puede ponerse en contacto con una proteína de unión al antígeno que se une a la IL-23 ex vivo. La proteína de unión al antígeno puede estar unida a una matriz insoluble apropiada o material de soporte sólido.

15 Ventajosamente, las proteínas de unión al antígeno se administran en forma de una composición que comprende uno o más componentes adicionales tales como un portador, excipiente o diluyente fisiológicamente aceptable. Opcionalmente, la composición comprende adicionalmente uno o más agentes fisiológicamente activos para la terapia de combinación. Una composición farmacéutica puede comprender una proteína de unión al antígeno de IL-23 junto con una o más sustancias seleccionadas del grupo que consiste en una solución reguladora, un antioxidante tal como ácido ascórbico, un polipéptido de bajo peso molecular (tal como aquellos que tienen menos de 10 aminoácidos), Una proteína, un aminoácido, un carbohidrato tal como glucosa, sacarosa o dextrinas, un agente quelante tal como EDTA, glutatión, un estabilizador y un excipiente. Solución salina tamponada neutra o solución salina mezclada con albúmina de suero conspecifica son ejemplos de diluyentes apropiados. De acuerdo con los estándares industriales apropiados, también pueden añadirse conservantes tales como alcohol bencílico. La
20 composición puede formularse como un liofilizado utilizando soluciones excipientes apropiadas (por ejemplo, sacarosa) como diluyentes. Los componentes apropiados son no tóxicos para los receptores en las dosificaciones y concentraciones empleadas. Otros ejemplos de componentes que se pueden emplear en formulaciones farmacéuticas se presentan en cualquier Remington's Pharmaceutical Sciences incluyendo the 21st Ed. (2005), Mack Publishing Company, Easton, PA.

30 Los kits para su uso por médicos incluyen una proteína de unión al antígeno de IL-23 y una etiqueta u otras instrucciones para su uso en el tratamiento de cualquiera de las condiciones discutidas en este documento. El kit puede incluir una preparación estéril de una o más proteínas de unión al antígeno de unión a IL-23, que pueden estar en forma de una composición como se ha descrito anteriormente, y pueden estar en uno o más viales.

35 Las dosis y la frecuencia de administración pueden variar de acuerdo con factores tales como la vía de administración, las proteínas de unión al antígeno, particulares empleadas, la naturaleza y gravedad de la enfermedad a tratar, si la afección es aguda o crónica y el tamaño y el estado general del sujeto. Las dosificaciones apropiadas se pueden determinar mediante procedimientos conocidos en la técnica pertinente, por ejemplo, en ensayos clínicos que pueden incluir estudios de escalado de dosis.

40 Una dosificación típica puede variar desde aproximadamente 0.1 µg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. En realizaciones específicas, la dosificación puede variar de 0.1 µg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg, opcionalmente de 1 µg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg, opcionalmente de 10 µg/kg hasta aproximadamente 10 mg/kg, opcionalmente desde aproximadamente 0.1 mg/kg a 5 mg/kg, u opcionalmente desde aproximadamente 0.3 mg/kg a 3 mg/kg.

45 La frecuencia de dosificación dependerá de los parámetros farmacocinéticos de la proteína de unión al antígeno de IL-23 humana particular en la formulación usada. Por lo general, un médico administra la composición hasta que se alcanza una dosificación que logra el efecto deseado. Por lo tanto, la composición puede administrarse como una dosis única, o como dos o más dosis (que pueden o no contener la misma cantidad de la molécula deseada) con el tiempo, o como una infusión continua a través de un dispositivo de implantación o catéter. Pueden determinarse dosificaciones apropiadas mediante el uso de datos apropiados dosis-respuesta. Una proteína de unión al antígeno de IL-23 de la invención puede administrarse, por ejemplo, una vez o más de una vez, por ejemplo, a intervalos regulares durante un periodo de tiempo. En realizaciones particulares, se administra una proteína de unión al antígeno de IL-23 durante un periodo de al menos un mes o más, por ejemplo, durante uno, dos, o tres meses o incluso indefinidamente. Para tratar las enfermedades crónicas, el tratamiento a largo plazo es generalmente más eficaz. Sin embargo, para tratar condiciones agudas, la administración durante periodos más cortos, por ejemplo, de una a seis semanas, puede ser suficiente. En general, la proteína de unión al antígeno se administra hasta que el
50 paciente manifiesta un grado de mejora médicamente relevante sobre la línea de base para el indicador o indicadores elegidos.

Se contempla que se administre una proteína de unión al antígeno de IL-23 al paciente en una cantidad y durante un tiempo suficientes para inducir una mejora, preferiblemente una mejora sostenida, en al menos un indicador que refleje la gravedad del trastorno que está siendo tratado. Se pueden evaluar diversos indicadores que reflejen la extensión de la enfermedad, enfermedad o condición del paciente para determinar si la cantidad y el tiempo del tratamiento son suficientes. Tales indicadores incluyen, por ejemplo, indicadores clínicamente reconocidos de gravedad de la enfermedad, síntomas o manifestaciones del trastorno en cuestión. En una realización, se considera que una mejora es sostenida si el sujeto exhibe la mejora en al menos dos ocasiones separadas por dos a cuatro semanas. El grado de mejoría generalmente es determinado por un médico, que puede hacer esta determinación basada en signos, síntomas, biopsias u otros resultados de la prueba, y que también puede emplear cuestionarios que se administran al sujeto, como cuestionarios de calidad de vida desarrollados para una enfermedad dada.

Realizaciones particulares de usos médicos y composiciones de la invención implican el uso de la proteína de unión al antígeno de IL-23 y uno o más antagonistas de IL-23 adicionales, por ejemplo, dos o más proteínas de unión al antígeno de la invención, o un antígeno de la invención y uno o más antagonistas de IL-23. También se proporcionan proteínas de unión al antígeno de IL-23 administradas solas o en combinación con otros agentes útiles para tratar la afección con la que el paciente está afligido. Ejemplos de tales agentes incluyen fármacos tanto proteínicos como no proteínicos. Tales agentes incluyen restos terapéuticos que tienen propiedades antiinflamatorias (por ejemplo, agentes antiinflamatorios no esteroideos, esteroides, inmunomoduladores y/u otros inhibidores de citoquinas tales como los que antagonizan, por ejemplo, IFN- γ , GM-CSF, IL-6, IL-8, IL-17, IL-22 y TNF), o de una proteína de unión al antígeno de IL-23 y uno o más tratamientos (por ejemplo, cirugía, ultrasonido o tratamiento eficaz para reducir la inflamación). Cuando se administran conjuntamente múltiples terapias, las dosis se pueden ajustar en consecuencia, como se reconoce o conoce en la técnica pertinente. Los agentes útiles que pueden combinarse con proteínas de unión al antígeno de IL-23 incluyen los utilizados para tratar, por ejemplo, la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa, tales como aminosalicilato (por ejemplo, mesalamina), corticosteroides (incluyendo predisona), antibióticos tales como metronidazol o ciprofloxacina (u otros antibióticos útiles para tratar, por ejemplo, pacientes afligidos con fístulas), e inmunosupresores tales como azatioprina, 6-mercaptopurina, metotrexato, tacrolimus y ciclosporina. Dicho(s) agente(s) puede(n) administrarse por vía oral o por otra vía, por ejemplo, mediante supositorio o enema. Los agentes que pueden combinarse con proteínas de unión a IL-23 en el tratamiento del psoriasis incluyen corticosteroides, calcipotrieno y otros derivados de la vitamina D, acetretin y otros derivados del ácido retinoico, metotrexato, tacrolimus y ciclosporina utilizados tópicamente o sistémicamente. Tales agentes se pueden administrar simultáneamente, consecutivamente, alternativamente o de acuerdo con cualquier otro régimen que permita que el curso total de la terapia sea eficaz.

Además de los pacientes humanos, las proteínas de unión al antígeno de IL-23 son útiles en el tratamiento de animales no humanos, tales como mascotas domésticas (perros, gatos, pájaros, primates, etc.), animales de granja domésticos (caballos, ganado, ovejas, cerdos, aves, etc.). En tales casos, se puede determinar una dosis apropiada de acuerdo con el peso corporal del animal. Por ejemplo, se puede usar una dosis de 0.2-1 mg/kg. Alternativamente, la dosis se determina de acuerdo con el área de superficie del animal, una dosis ejemplar que varía de 0.1-20 mg/m², o más preferiblemente, de 5-12 mg/m². Para animales pequeños, como perros o gatos, una dosis apropiada es de 0.4 mg/kg. La proteína de unión al antígeno IL-23 (preferiblemente construida a partir de genes derivados de la especie receptora) se administra por inyección u otra ruta apropiada una o más veces por semana hasta que se mejore la condición del animal o se puede administrar indefinidamente.

Los siguientes ejemplos, incluyendo los experimentos llevados a cabo y los resultados obtenidos, se proporcionan con fines ilustrativos solamente y no se deben interpretar como limitativos del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

EJEMPLOS

45 Ejemplo 1

Generación de los anticuerpos IL-23 humanos

Se utilizó la tecnología XenoMouse™ (Amgen, Thousand Oaks, CA) para desarrollar anticuerpos monoclonales humanos que reconocen e inhiben la actividad de IL-23 humana nativa al tiempo que se reserva IL-12 humana. Los anticuerpos también reconocen e inhiben IL-23 cynomolgous recombinante pero no reconocen IL-23 murina o de rata.

Se seleccionaron anticuerpos para el reconocimiento y la inhibición completa de la IL-23 humana nativa obtenida a partir de células dendríticas derivadas de monocitos humanos (MoDCs), utilizando el ensayo indicador STAT-luciferasa descrito a continuación. Los monocitos humanos se aislaron a partir de células mononucleares de sangre periférica de donantes sanos utilizando selección negativa (Monocyte Isolation Kit II, Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Los MoDCs se generaron cultivando monocitos con GM-CSF humano (50 ng/mL) e IL-4 humana (100 ng/mL)

- 5 durante 7 días en RPMI 1640 con medio completo de suero fetal bovino al 10%. Los MoDCs se lavaron entonces dos veces con PBS seguido por estimulación con CD40L humano (1 µg/mL) durante 48 horas adicionales. El sobrenadante MoDC estimulado con CD40L contiene IL-23, IL-12 y IL-12/23p40. Los ELISA se utilizan para determinar la cantidad de IL-12p70 (R&D System, Minneapolis, MN), IL-23 (eBiosciences, San Diego, CA) e IL-12/23p40 (R&D Systems). El ensayo STAT-luciferasa responde a IL-23 y no a IL-12 o a IL-12 libre /23p40, por lo tanto, el ensayo podría usarse con sobrenadantes en bruto para evaluar la actividad de IL-23. Para su uso en el ensayo de células NK, descrito a continuación, el sobrenadante bruto de IL-23 humano nativo se purificó utilizando una columna de afinidad de IL-23 seguida por cromatografía de exclusión de tamaño. La concentración se determinó utilizando un ELISA específico de IL-23 (eBiosciences).
- 10 Los sobrenadantes del anticuerpo purificados también se ensayaron contra IL-23 humana recombinante (rhu) y cynomolgous recombinante (cyno) IL-23 en el ensayo de luciferasa STAT. De los anticuerpos analizados que inhibían completamente la IL-23 humana recombinante, sólo la mitad de esos anticuerpos reconocían e inhibían completamente la IL-23 humana nativa. El reconocimiento y la inhibición completa de la IL-23 humana recombinante no fue predictivo ni correlacionado con el reconocimiento y la inhibición completa de la IL-23 humana nativa. Como se muestra en las figuras 1A y 1B, de los sobrenadantes del anticuerpo que inhiben completamente la IL-23 humana recombinante, sólo la mitad de esos anticuerpos inhiben completamente la IL-23 humana nativa. Aquellos anticuerpos que reconocieron e inhibieron completamente la IL-23 humana nativa se seleccionaron para una caracterización adicional.

Ejemplo 2

20 Ensayos funcionales

a) Ensayo STAT-luciferasa

Se sabe que IL-23 se une a su receptor heterodimérico y señales a través de JAK2 y Tyk2 para activar STAT 1, 3, 4 y 5. En este ensayo, las células transfectadas con un gen indicador STAT/luciferasa se utilizan para evaluar la capacidad de los anticuerpos de IL-23 para inhibir la bioactividad inducida por IL-23.

- 25 Las células de ovario de hámster chino que expresan el receptor de IL-23 humano se transfectan transitoriamente con el indicador de STAT-luciferasa durante la noche. Los anticuerpos IL-23 se diluyen en serie (12 puntos de diluciones en serie 1:4 comenzando con 37.5 µg/mL) en placas de 96 pozos. La IL-23 humana nativa (método de preparación se describe en el Ejemplo 1) se adiciona a cada pozo a una concentración de 2 ng/mL y se incuba a temperatura ambiente durante 15-20 minutos. Las células transitoriamente transfectadas se adicionan (8 x 10³ células) a un volumen final de 100 µL/pozo y se incuban durante 5 horas a 37°C, CO₂ al 10%. Después de la incubación, las células se lisan utilizando 100 µL/pozo de solución reguladora Glo Lysis (1x) (Promega, Madison, Wisconsin) a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se adicionan cincuenta microlitros de lisado celular a una placa de 96 pozos junto con 50 µL de sustrato de luciferasa Bright-Glo (Promega) y se lee en un luminómetro.

- 35 El análisis estadístico se puede realizar utilizando el software GraphPad PRISM (GraphPad Software, La Jolla, CA). Los resultados se pueden expresar como la desviación estándar ± media (SD).

Como se observa en la Tabla 5, todos los anticuerpos de IL-23 inhiben potente y completamente el indicador STAT/luciferasa inducido por IL-23 humana nativa de una manera dependiente de la dosis. Los anticuerpos también inhiben potente y completamente la IL-23 humana recombinante (rhu) y la cyno (cyno) IL-23 recombinante. Los anticuerpos tenían valores de IC₅₀ en el intervalo picomolar.

- 40 Tabla 5. Tabla de valores medios de IC₅₀ (pM) para anticuerpos de IL-23 en el ensayo STAT-luciferasa.

| Anticuerpo | huIL-23 nativo | | rhuIL-23 | | Cyno IL-23 | |
|------------|-------------------------|--------------|-------------------------|--------------|-------------------------|--------------|
| | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones |
| A | 114+/-70 | 3 | 190+/-99 | 3 | 379+/-213 | 3 |
| B | 45+/-5 | 4 | 100+/-59 | 4 | 130+/-60 | 3 |
| C | 107+/-31 | 3 | 211+/-93 | 3 | 376+/-89 | 3 |
| D | 65+/-5 | 3 | 107+/-30 | 3 | 184+/-77 | 3 |

| | | | | | | |
|---|-----------|---|-----------|---|------------|---|
| E | 140+/-52 | 3 | 142+/-52 | 3 | 188+/-59 | 3 |
| F | 86+/-47 | 4 | 187+/-116 | 4 | 366+/-219 | 4 |
| G | 156+/-74 | 5 | 296+/-133 | 5 | 421+/-174 | 5 |
| H | 192+/-35 | 4 | 253+/-184 | 4 | 1024+/-533 | 4 |
| I | 208+/-33 | 3 | 338+/-140 | 3 | 650+/-42 | 3 |
| J | 83+/-54 | 2 | 36+/-6 | 2 | 56+/-2 | 2 |
| K | 71+/-38 | 3 | 43+/-20 | 3 | 61+/-10 | 3 |
| L | 113+/-80 | 3 | 23+/-7 | 3 | 47+/-1 | 3 |
| M | 34+/-11 | 2 | 40+/-8 | 2 | 56+/-6 | 2 |
| N | 361+/-164 | 3 | 145 | 1 | 238 | 1 |

b) Ensayo de células NK

5 Se sabe que IL-23 actúa sobre células asesinas naturales para inducir la expresión de citoquinas proinflamatorias, tales como interferón γ (IFN γ). En este ensayo, se utilizan células asesinas naturales primarias (NK) para evaluar la capacidad de los anticuerpos de IL-23 para inhibir la actividad de IFN γ inducida por IL-23 en células que expresan el receptor nativo de IL-23 humana.

10 Se aíslan células NK de múltiples donantes humanos mediante selección negativa (Kit de aislamiento de células NK, Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Se adicionan células NK purificadas (1×10^6 células/mL) en placas de 6 pozos en RPMI 1640 más un medio completo de suero fetal bovino al 10% suplementado con IL-2 humana recombinante (10 ng/mL, R&D Systems, Minneapolis, MN), a un volumen final de 10 mL/pozos. Las células se cultivan durante 7 días a 37°C, CO₂ al 5%. Las células NK activadas con IL-2 se estimulan luego con RhuIL-23 o cyno IL-23 (10 ng/mL) e IL-18 humana recombinante (20 ng/mL, R&D Systems, Minneapolis, MN) en presencia de diluciones en serie (11 puntos de diluciones en serie 1:3 a partir de 3 μ g/mL) de los anticuerpos contra IL-23, durante 24 horas. Los niveles de IFN γ se miden en el sobrenadante mediante IFN γ ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

15 El análisis estadístico se puede realizar utilizando el software GraphPad PRISM. Los resultados se pueden expresar como la desviación estándar \pm media (SD).

20 Como se observa en la Tabla 6, todos los anticuerpos inhiben potentemente la expresión de IFN γ inducida por rhuIL-23 y cyno IL-23 en células NK de una manera dependiente de la dosis. Los anticuerpos tenían valores de IC₅₀ en el intervalo picomolar. El ensayo se realizó en un subconjunto de los anticuerpos utilizando IL-23 humana nativa (30 μ g/mL, método de preparación se describe en el Ejemplo 1) y rhuIL-18 (40 ng/mL, R&D Systems) y produjo los resultados mostrados en la Tabla 6. En consonancia con la selección de los anticuerpos específicos de IL-23, estos anticuerpos anti-IL-23 no tuvieron ningún efecto sobre la producción de IFN γ estimulada con IL-12 en células NK utilizando el ensayo descrito anteriormente, mientras que un anticuerpo neutralizante específico de IL-12p35, MAb219 (R&D Systems, Minneapolis, MN) inhibe potentemente la IL-12 humana recombinante.

Tabla 6. Tabla de valores medios de IC₅₀ (pM) para anticuerpos de IL-23 en el ensayo de células NK.

| Anticuerpo | huIL-23 nativo | | rhuIL-23 | | Cyno IL-23 | |
|------------|-------------------------|--------------|-------------------------|--------------|-------------------------|--------------|
| | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones |
| A | | | 42+/-12 | 2 | 31+/-21 | 2 |
| B | 85+/-30 | 2 | 48+/-30 | 3 | 19+/-8 | 2 |

ES 2 613 236 T3

| | | | | | | |
|---|----------|---|---------|---|---------|---|
| C | | | 32+/-19 | 4 | 29+/-16 | 2 |
| D | | | 37+/-21 | 2 | 29+/-19 | 2 |
| E | 158+/-50 | 2 | 57+/-14 | 3 | 21+/-3 | 2 |
| F | | | 25+/-15 | 2 | 21+/-17 | 2 |
| G | 152+/-72 | 2 | 45+/-30 | 3 | 23+/-8 | 2 |
| H | | | 29+/-28 | 2 | 33+/-17 | 2 |
| I | | | 69 | 1 | 52 | 1 |
| J | | | 4+/-3 | 2 | 5+/-3 | 2 |
| K | | | 7+/-2 | 2 | 8+/-6 | 2 |
| L | | | 3+/-1 | 2 | 4+/-1 | 2 |
| M | | | 8 | 1 | 12 | 1 |

c) Ensayo de sangre entera humana

5 La sangre entera humana se recoge de múltiples donantes sanos utilizando Refluidan® (Bayer Pittsburgh, PA) como anticoagulante. La concentración final de Refluidan® en sangre entera es de 10 µg/mL. Una mezcla de estimulación de rhIL-23 o cyno IL-23 (concentración final 1 ng/mL) + rhIL-18 (concentración final 20 ng/mL) + rhIL-2 (concentración final 5 ng/mL) en RPMI 1640 + 10% FBS, a una placa de 96 pozos, volumen final 20 µL/pozo. Se añaden anticuerpos de IL-23 diluidos en serie (11 puntos de diluciones en serie 1:3 a partir de 3 µg/mL) a 20 µL/pozos y se incuban con la mezcla de estimulación durante 30 minutos a temperatura ambiente. A continuación, se añaden sangre entera (120 µL/pozo) y el volumen final se ajusta a 200 µL/pozo con RPMI 1640 + 10% de FBS. La concentración final de sangre total es del 60%. Las placas se incuban durante 24 horas a 37°C, CO₂ al 5%. Se recogen los sobrenadantes libres de células y se miden los niveles de IFNγ a partir de los sobrenadantes mediante IFNγ ELISA (R&D Systems) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

10 El análisis estadístico se puede realizar utilizando el software GraphPad PRISM. Los resultados se pueden expresar como la desviación estándar ± media (SD).

15 Como se ve en la Tabla 7, todos los anticuerpos inhiben potentemente la expresión de IFNγ inducida por rhIL-23 y cyno-IL-23 en células de sangre entera de una manera dependiente de la dosis. Los anticuerpos tenían valores de IC₅₀ en el intervalo picomolar.

Tabla 7. Tabla de los valores medios de IC₅₀ (pM) para los anticuerpos de IL-23 en el ensayo de sangre entera humano IFNγ

| Anticuerpo | rhIL-23 | | Cyno IL-23 | |
|------------|-------------------------|--------------|-------------------------|--------------|
| | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones |
| B | 117+/-94 | 7 | 161+/-95 | 6 |
| E | 29+/-8 | 3 | 54+/-33 | 3 |
| G | 53+/-13 | 3 | 93+/-44 | 3 |
| F | 66+/-13 | 3 | 166+/-189 | 3 |
| D | 88+/-6 | 3 | 110+/-14 | 3 |

| | | | | |
|---|---------|---|-----------|---|
| C | 97+/-31 | 3 | 186+/-194 | 3 |
|---|---------|---|-----------|---|

d) Ensayo de IL-22

5 Se sabe que la IL-23 es un potente inductor de citocinas proinflamatorias. IL-23 actúa sobre células T activadas y de memoria y promueve la supervivencia y expansión de células Th17 que producen citoquinas proinflamatorias incluyendo IL-22. En este ensayo, se utiliza sangre entera humana para evaluar la capacidad de los anticuerpos de IL-23 para inhibir la producción de IL-22 inducida por IL-23.

Se lleva a cabo un ensayo de sangre entera de la misma manera que se ha descrito anteriormente con la modificación de la utilización de rhIL-23 o cynoIL-23 a 1 ng/mL y rhIL-18 a 10 ng/mL para inducir la producción de IL-22. La concentración de IL-22 se determina mediante IL-22 ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN).

10 Como se ve en la Tabla 8, los anticuerpos inhibieron potentemente la producción de IL-22 inducida por rhIL-23 e inducida por cyno IL-23 en células de sangre entera de una manera dependiente de la dosis. Los anticuerpos tenían valores de IC₅₀ en el intervalo picomolar.

Tabla 8. Tabla de los valores medios de IC₅₀ (pM) para los anticuerpos de IL-23 en el ensayo de sangre entera humana de IL-22

| Anticuerpo | rhIL-23 | | Cyno IL-23 | |
|------------|-------------------------|--------------|-------------------------|--------------|
| | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones | IC ₅₀ +/- SD | Repeticiones |
| B | 117+/-68 | 4 | 113+/-65 | 3 |
| E | 87+/-109 | 3 | 56+/-60 | 3 |
| G | 83+/-59 | 3 | 66+/-45 | 3 |

15

Ejemplo 3

Determinación de la constante de disociación de equilibrio (K_D) para los anticuerpos anti-IL-23 utilizando la tecnología KinExA

20 La afinidad de unión de rhIL-23 a anticuerpos de IL-23 se evalúa utilizando un ensayo de exclusión cinética (ensayo KinExA, Sapidyn Instruments, Inc., Boise, ID). Se prereducieron perlas de flujo rápido de Sepharose 4 activadas con suero humano normal (NHS) (Amersham Biosciences, parte de GE Healthcare, Uppsala, Suecia) con rhIL-23 y se bloquearon con solución reguladora Tris 1 m con 10 mg/mL de BSA. 50 pM del anticuerpo de IL-23 se incubó con rhIL-23 (12 puntos de diluciones 1:2 a partir de 800 pM) a temperatura ambiente, durante 72 horas antes de que se ejecute a través de las perlas de Sepharose revestidas con rhIL-23. La cantidad del anticuerpo unido a perlas se cuantificó mediante anticuerpo anti-Fc-humano de cabra marcado con fluorescencia (Cy5) (Jackson Immuno Research, West Grove, Pa.). La señal de unión es proporcional a la cantidad del anticuerpo libre en equilibrio.

25

La constante de equilibrio de disociación (K_D) y la velocidad de asociación (K_{on}) se obtienen a partir de la adaptación de curvas utilizando el software KinExA Pro. La velocidad de disociación (K_{off}) se deriva de: $K_D = K_{off}/K_{on}$

30

Como se observa en la Tabla 9, los anticuerpos tienen alta afinidad por la unión a IL-23 humana. Todos tenían valores de K_D en el intervalo bajo a sub pM.

Tabla 9 Tabla de las velocidades de K_D (pM), K_{on} (1/MS) y K_{off} (1/s)

| Anticuerpo | K _D (pM) | K _{on} (1/MS) | K _{off} (1/s) |
|------------|---------------------|------------------------|------------------------|
| E | 0.131 | 9.12E+05 | 1.4E-07 |
| D | 0.126 | 1.72E+06 | 2.2E-07 |

| | | | |
|---|------|----------|---------|
| B | 3.99 | 1.17E+06 | 4.7E-06 |
| C | 2.56 | 1.36E+06 | 4.1E-06 |
| F | 2.62 | 5.69E+05 | 1.5E-06 |
| L | 1.08 | 3.34E+06 | 3.7E-06 |
| G | 2.00 | 4.00E+05 | 8.1E-07 |

Ejemplo 4

Determinación de Estructura utilizando Cristalografía de Rayos X

5 Una manera de determinar la estructura de un complejo anticuerpo-antígeno es mediante la cristalografía de rayos X, véase, por ejemplo, Harlow and Lane Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1990), P.23. Se ha determinado la estructura cristalina de IL-23 (véase Lupardus and Garcia, J Mol Biol, 2008, 382: 931-941) y se ha descrito la estructura cristalina de un complejo IL-23/Fab (véase Beyer et al. J Mol Biol, 2008. 382 (4): 942-55). La determinación estructural de IL-23 con fragmentos Fab de los anticuerpos reivindicados en este documento se obtuvo utilizando cristalografía de rayos X.

Proteína para cristalización

- 10 Se utilizó un heterodímero de IL-23 humano derivado de forma recombinante para los estudios de cristalización (véase Beyer et al., Supra). La secuencia de la subunidad p19 humana comprendía los residuos 20-189 de SEQ ID NO: 145, la secuencia señal de SEQ ID NO: 154 y una etiqueta 6-His de terminal C SEQ ID NO: 155. La secuencia de la subunidad p40 humana se mutó de asparagina a glutamina en la posición 222 de SEQ ID NO: 147 con el fin de prevenir la glucosilación en este sitio (Beyer et al., Supra).
- 15 Los Fab derivados del anticuerpo B y el anticuerpo E se expresaron en un andamio de IgG1 que incorporaba un sitio de escisión de caspasa. Los Fab se procesaron por medio de escisión de proteasa.

Formación y cristalización del complejo

20 El complejo IL-23-Fab del anticuerpo B se hizo mezclando un exceso molar 2X de Fab del anticuerpo B con la IL-23 heterodimérica humana descrita anteriormente. El complejo se purificó por cromatografía de exclusión de tamaño para eliminar el exceso de Fab del anticuerpo B y se concentró hasta ~12 mg/mL para cristalización. El complejo IL-23- Fab del anticuerpo B cristalizó en Hepes 0.1 M pH 7.8% PEG 8000.

25 El complejo IL-23-Fab del anticuerpo E se preparó mezclando un exceso molar 2X del Fab del anticuerpo E con la IL-23 heterodimérica humana descrita anteriormente. El complejo se metiló utilizando un kit de metilación JBS de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Jena Bioscience, Jena, Alemania). El complejo se trató entonces con PNGasa para desglucosilar la proteína. Después de estos tratamientos, el complejo se purificó por cromatografía de exclusión de tamaño para eliminar el exceso de Fab del anticuerpo E y se concentró hasta 13.5 mg/mL para cristalización. El complejo IL-23- Fab de- Anticuerpo cristalizó en Tris 0.1 M, pH 8.5, cloruro de magnesio 0.2 M, PEG 4000 al 15%.

Recolección de datos y determinación de estructuras

30 Los cristales IL-23- Fab del Fab del anticuerpo crecieron en el grupo espacial P2₁ con dimensiones de celda unitaria a=70.93, b=71.27, c=107.37 Å, β=104.98° y difracción a 2.0 Å de resolución. La estructura Fab de IL-23 del anticuerpo B se resolvió mediante reemplazo molecular con el programa MOLREP (CCP4, The CCP4 suite: programas para cristalografía de proteínas, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 1994. 50 (Pt 5): p.760-3) utilizando la estructura de IL-23 (Beyer et al., Supra) como el modelo de búsqueda inicial. Manteniendo la solución de IL-23 fija,

35 se utilizó un dominio variable del anticuerpo como modelo de búsqueda. Manteniendo fija la solución de dominio variable del anticuerpo de IL-23, se utilizó un dominio constante del anticuerpo como modelo de búsqueda. La estructura completa se mejoró con múltiples rondas de construcción de modelos con Quanta y refinamiento con cnx (Brunger et al., Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 1998, 54 (Pt 5): pág 905-21).

40 Las distancias entre átomos de proteína se calcularon utilizando el programa PyMOL (DeLano, W.L. The PyMOL Graphics System, Palo Alto, 2002) (Schrodinger, LLC, Nueva York, NY)). Se eligieron aminoácidos si al menos un átomo se localizaba dentro del umbral de distancia requerido a la proteína asociada.

Los límites de las hélices A, B, C y D de la subunidad p19 de IL-23 cuando se unen al Fab del anticuerpo B incluyen residuos de hélice A 28-47, residuos de hélice B 86-105, residuos de hélice C 119-134 y residuos de hélice D 154-187 de SEQ ID NO: 145.

5 Las regiones de interacción en la subunidad IL-23p19 cuando están unidas al Fab del anticuerpo B incluyen residuos dentro de Ser46-Glu58, Glu112-Glu123 y Pro155-Phe163 de SEQ ID NO: 145.

10 Los residuos de aminoácidos de la subunidad de IL-23p19 con átomos de 4 Å o menos del Fab del anticuerpo B incluyen Ser46, Ala47, His48, Pro49, Leu50, His53, Met54, Asp55, Glu58, Pro113, Ser114, Leu115, Leu116, Pro120, Val121, Trp156, Leu159, Leu160, Arg162 y Phe163 de SEQ ID NO: 145. Los residuos de aminoácidos de IL-23p19 con átomos entre 4 Å y 5 Å del Fab del anticuerpo B incluyen Val51, Arg57, Glu112, Asp118, Ser119, Gln123, Pro155 de SEQ ID NO: 145.

Los residuos de aminoácidos de la subunidad de IL-23p40 con átomos 4 Å o menos de Fab del anticuerpo B incluyen Glu 122 y Lys 124 de SEQ ID NO: 147.

15 Los residuos de aminoácidos de la cadena pesada del Fab del anticuerpo B con átomos 4 Å o menos del heterodímero IL-23 incluyen Gly32, Gly33, Tyr34, Tyr35, His54, Asn58, Thr59, Tyr60, Lys66, Arg101, Gly102, Phe103, Tyr104 y Tyr105 de SEQ ID NO:46. Residuos de aminoácidos de cadena pesada del Fab del anticuerpo con átomos ≤ 5 Å del heterodímero IL-23 incluyen Ser31, Gly32, Gly33, Tyr34, Tyr35, His54, Ser56, Asn58, Thr59, Tyr60, Lys66, Arg101, Gly102, Phe103, Tyr104 y Tyr105 de SEQ ID NO:46.

20 Los residuos de aminoácidos de la cadena ligera del Fab del anticuerpo B con átomos 4 Å o menos del heterodímero IL-23 incluyen Ser30, Ser31, Trp32, Tyr49, Ser52, Ser53, Ala91, Asn92, Ser93, Phe94, y Phe96 de SEQ ID NO:15. Los residuos de aminoácidos de la cadena ligera del Fab del anticuerpo B con átomos ≤ 5 Å del heterodímero IL-23 incluyen Ser30, Ser31, Trp32, Tyr49, Ala50, Ser52, Ser53, Ser56, Ala91, Asn92, Ser93, Phe94, y Phe96 de SEQ ID NO:15

25 Los cristales del complejo IL-23-Fab del anticuerpo E crecieron en el grupo espacial P222₁ con dimensiones unitarias de célula a=61.60, b=97.59, c=223.95 Å y difracción a 3.5 Å de resolución. La estructura del complejo de IL-23-Fab del anticuerpo E se resolvió mediante reemplazo molecular con el programa Phaser (CCP4, supra) utilizando la estructura de IL-23, un dominio variable del anticuerpo, y un dominio constante del anticuerpo como los tres modelos de búsqueda de partida, como se describe anteriormente. La estructura completa se mejoró con múltiples rondas de construcción de modelos con Quanta y refinamiento con cnx (Brunger et al., Supra). El dominio constante de Fab del anticuerpo E se dejó fuera de la estructura refinada final debido a la densidad de electrones muy pobre para esa porción de la proteína.

30

Las regiones de interacción en la subunidad de IL-23p19 identificadas cuando están unidas al Fab del anticuerpo E incluyen residuos dentro de Ser46-His53, Glu112-Val120 y Trp156-Phe163 de SEQ ID NO:145.

35 Los residuos de aminoácidos de IL-23p19 con átomos de 4 Å o menos del Fab del anticuerpo E incluyen Ser46, Ala47, His48, Pro49, Leu50, Glu112, Pro113, Ser114, Leu115, Leu116, Pro117, Asp118, Ser119, Pro120, Trp156, Leu159, Leu160 y Phe163 de SEQ ID NO: 145. Los residuos de aminoácidos de IL-23p19 con átomos entre 4 Å y 5 Å del Fab del anticuerpo E incluyen His53 de SEQ ID NO: 145.

Los residuos de aminoácidos de IL-23p40 con átomos de 4 Å o menos del Fab del anticuerpo E incluyen Lys121, Glu 122, Pro123 y Asn 125 de SEQ ID NO: 147.

40 Los residuos de aminoácidos de la cadena pesada de Fab del anticuerpo E con átomos 4 Å o menos del heterodímero de IL-23 incluyen Gly26, Phe27, Thr28, Ser31, Tyr53, Tyr59, Tyr102, Ser104, Ser105, Trp106, Tyr107 y Pro108 de SEQ ID NO: 31. Los residuos de aminoácidos de la cadena pesada de Fab del anticuerpo E con átomos ≤ 5 Å del heterodímero de IL-23 incluyen Gln1, Gly26, Phe27, Thr28, Ser30, Ser31, Tyr32, Trp52, Tyr53, Tyr59, Arg100, Tyr102, Thr103, Ser104, Ser105, Trp106, Tyr107, y Pro108 de SEQ ID NO:31.

45 Los residuos de aminoácidos de la cadena ligera de Fab del anticuerpo E con átomos 4 Å o menos del heterodímero de IL-23 incluyen Ala31, Gly32, Tyr33, Asp34, Tyr51, Gly52, Asn55, Lys68 y Tyr93 de SEQ ID NO: 1. Los residuos de aminoácidos de la cadena ligera de Fab del anticuerpo B con átomos ≤ 5 Å del heterodímero de IL-23 incluyen Thr29, Ala31, Gly32, Tyr33, Asp34, Tyr51, Gly52, Asn55, Lys68, Tyr93, y Trp100 de SEQ ID NO:1.

Ejemplo 5

50 Determinación de residuos de contacto del complejo de los anticuerpos IL-23 a través de diferencias de superficie accesibles con solvente

5 Los contactos del residuo en el paratopo (la porción del anticuerpo que reconoce el antígeno) y la porción del antígeno que se une enlazada por el paratopo en un complejo IL-23- Fab del anticuerpo B humano y en un complejo IL- 23-Fab del anticuerpo E se determinó utilizando diferencias de área de superficie accesibles con solvente. Los cálculos del área superficial accesible por solventes se realizaron utilizando el Molecular Operating Environment (Chemical Computing Group, Montreal, Quebec).

10 Se calcularon las diferencias de área de superficie accesibles con solvente de los residuos de paratopo en el complejo IL-23-Fab del anticuerpo B estableciendo los residuos de Fab del anticuerpo B como el conjunto deseado. Se utilizó la información estructural obtenida en el Ejemplo 4 para el complejo IL-23-Fab del anticuerpo B y se calculó el área superficial accesible al solvente del residuo de los residuos de aminoácidos de Fab del anticuerpo B en presencia del heterodímero de IL-23 y se representan la "áreas unidas" para el conjunto.

Se calculó el área superficial accesible al solvente del residuo de cada uno de los residuos Fab del anticuerpo B en ausencia del antígeno IL-23 y representan las "áreas libres" del conjunto.

15 Las "áreas unidas" se restaron después de las "áreas libres" resultando en la "diferencia de superficie expuesta al solvente" para cada residuo en el conjunto. Los residuos Fab del anticuerpo B que no tuvieron ningún cambio en el área superficial, o una diferencia cero, no tuvieron contacto con los residuos del antígeno IL-23 cuando estaban complejados. Los residuos Fab del anticuerpo B que tenían un valor de diferencia $\geq 10 \text{ \AA}^2$ se consideraron en contacto significativo con residuos en el antígeno de IL-23 de tal manera que estos residuos de Fab del anticuerpo B estaban al menos parcialmente ocluidos completamente cuando el Fab del anticuerpo B estaba unido a IL-23 humana. Este conjunto de residuos Fab del anticuerpo B forman el "parche cubierto", los residuos implicados en la estructura de la interfaz cuando el Fab del anticuerpo B está unido a IL-23 humana, véanse las Tablas 10 y 11. Los residuos de Fab del anticuerpo B en esta parche cubierto puede no estar implicado en las interacciones de unión con los residuos del antígeno IL-23, pero la mutación de cualquier residuo único dentro del parche cubierto podría introducir diferencias energéticas que afectarían la unión del Fab del anticuerpo B a la IL-23 humana. Con la excepción de Tyr49, todos los residuos están localizados en las regiones CDR de las cadenas ligeras y pesadas de Fab de Anticuerpo B. Estos residuos estaban también dentro de 5Å o menos del antígeno IL-23 cuando se unen al Fab del anticuerpo B, como se describe en el Ejemplo 4.

Tabla 10 Diferencias del área superficial de accesibilidad al solvente para cadenas ligeras de Fab del anticuerpo B

| Número de residuo AHO | Posición del residuo SEQ ID NO: 15 | Diferencia de la superficie expuesta al solvente (Å ²) |
|-----------------------|------------------------------------|--|
| Ser32 | Ser30 | 44.9 |
| Ser33 | Ser31 | 41.1 |
| Trp40 | Trp32 | 79.0 |
| Tyr57 | Tyr49 | 40.7 |
| Ala58 | Ala50 | 20.3 |
| Ser68 | Ser52 | 43.6 |
| Ser69 | Ser53 | 38.9 |
| Ser72 | Ser56 | 19.1 |
| Asn110 | Asn92 | 34.0 |
| Phe135 | Phe94 | 51.4 |

Tabla 11 Diferencias del área superficial de accesibilidad al solvente para la cadena pesada de Fab del anticuerpo B

| Número de residuo AHO | Residuo Posición SEQ ID NO: 46 | Diferencia de la superficie expuesta al solvente (Å ²) |
|-----------------------|--------------------------------|--|
| Ser33 | Ser31 | 18.2 |

| | | |
|--------|--------|------|
| Gly34 | Gly32 | 49.5 |
| Gly38 | Gly33 | 33.8 |
| Tyr39 | Tyr34 | 51.4 |
| Tyr40 | Tyr35 | 30.7 |
| His59 | His54 | 29.5 |
| Asn67 | Asn58 | 66.7 |
| Thr68 | Thr59 | 26.0 |
| Tyr69 | Tyr60 | 59.4 |
| Lys75 | Lys66 | 32.6 |
| Arg110 | Arg101 | 47.2 |
| Gly111 | Gly102 | 21.7 |
| Phe112 | Phe103 | 35.5 |
| Tyr133 | Tyr104 | 83.0 |
| Tyr134 | Tyr105 | 91.7 |

5 Las diferencias en el área superficial accesible al solvente de los residuos en el complejo IL-23-Fab del anticuerpo E se calcularon como se ha descrito anteriormente. Se consideró que los residuos de Fab del anticuerpo E que tenían un valor de diferencia $\geq 10 \text{ \AA}^2$ estaban en contacto significativo con residuos en el antígeno de IL-23 y estos residuos de Fab del anticuerpo E estaban al menos parcialmente completamente ocluidos cuando el Fab del anticuerpo E estaba unido al humano IL-23. Este conjunto de residuos de Fab del anticuerpo E forman el parche cubierto, los residuos implicados en la estructura de la interfaz cuando el Fab del anticuerpo E está unido a IL-23 humana, véanse las Tablas 12 y 13. Los residuos Fab del anticuerpo E en este parche cubierto pueden no estar implicados en las interacciones de unión con los residuos del antígeno IL-23, pero la mutación de cualquier residuo único dentro del parche cubierto podría introducir diferencias energéticas que afectarían la unión de Fab del anticuerpo E a la IL-23 humana. En su mayor parte, estos residuos de parche cubiertos se localizaron dentro de las regiones CDR de las cadenas pesadas y ligeras Fab de Anticuerpo E. Estos residuos estaban también dentro de 5 \AA o menos del antígeno de IL-23 cuando se unen al Fab del anticuerpo E, como se describe en el Ejemplo 4.

10 Tabla 12. Diferencias del área superficial de accesibilidad al solvente para cadenas ligeras de Fab del anticuerpo E

| Número de residuo AHO | Residuo Posición SEQ ID NO: 1 | Diferencia de la superficie expuesta al solvente (\AA^2) |
|-----------------------|----------------------------------|---|
| Ala33 | Ala31 | 11.6 |
| Gly34 | Gly32 | 51.2 |
| Tyr39 | Tyr33 | 47.2 |
| Asp40 | Asp34 | 36.8 |
| Tyr57 | Tyr51 | 16.1 |
| Gly58 | Gly52 | 11.1 |
| Asn69 | Asn55 | 29.4 |

ES 2 613 236 T3

| | | |
|--------|-------|------|
| Lys82 | Lys68 | 20.1 |
| Tyr109 | Tyr93 | 27.3 |
| Ser135 | Ser98 | 11.3 |

Tabla 13 Diferencias del área superficial de accesibilidad al solvente para la cadena pesada de Fab del anticuerpo E

| Número de residuo AHO | Posición del residuo SEQ ID NO: 31 | Diferencia de la superficie expuesta al solvente (Å ²) |
|-----------------------|------------------------------------|--|
| Gln1 | Gln1 | 41.1 |
| Gly27 | Gly26 | 24.6 |
| Thr30 | Thr28 | 82.2 |
| Ser33 | Ser31 | 40.7 |
| Tyr39 | Tyr32 | 30.7 |
| Trp59 | Trp52 | 11.3 |
| Tyr60 | Tyr53 | 44.7 |
| Tyr69 | Tyr59 | 42.4 |
| Lys86 | Lys76 | 17.4 |
| Gly111 | Gly101 | 12.8 |
| Tyr112 | Tyr102 | 103.1 |
| Ser114 | Ser104 | 21.0 |
| Ser115 | Ser105 | 91.4 |
| Trp131 | Trp106 | 145.0 |
| Tyr132 | Tyr107 | 71.6 |
| Pro133 | Pro108 | 20.4 |

5 Se calcularon las diferencias de área superficial accesibles con solvente de la porción del heterodímero de IL-23 unida por el paratopo del Fab del anticuerpo B, ajustando los residuos heterodímeros de IL-23 como el conjunto deseado. Se utilizó la información estructural obtenida en el Ejemplo 4 para el complejo IL-23-Fab del Anticuerpo B y se calculó el área superficial accesible al solvente del residuo de aminoácidos del heterodímero de IL-23 en presencia de Fab del anticuerpo B y representan las áreas unidas para el conjunto.

10 Se calculó el área superficial accesible al solvente de cada uno de los residuos de heterodímero de IL-23 en ausencia de Fab del anticuerpo B y representan las áreas libres del conjunto.

15 Como se describió anteriormente, las áreas unidas se restaron de las áreas libres dando como resultado la diferencia de área de superficie expuesta al solvente para cada residuo de IL-23. Los residuos de heterodímero de IL-23 que no tuvieron ningún cambio en el área superficial, o una diferencia cero, no tuvieron contacto con los residuos de Fab del anticuerpo B cuando estaban complejados. Se consideró que los residuos de heterodímero de IL-23 que tenían un valor de diferencia $\geq 10 \text{ \AA}^2$ estaban en contacto significativo con residuos de Fab del anticuerpo B y estos residuos de heterodímero IL-23 estaban al menos parcialmente completamente ocluidos cuando el heterodímero de IL-23 humano era unido al Fab del anticuerpo. Este conjunto de residuos heterodímeros de IL-23

5 forman el parche cubierto, los residuos involucrados en la estructura de la interfaz cuando el heterodímero de IL-23 humano está unido al Fab del anticuerpo E, véase la Tabla 14. Los residuos heterodímeros IL-23 en este parche cubierto puede que no todos estén implicados en las interacciones de unión con los residuos en el Fab del anticuerpo B, pero la mutación de cualquier residuo único dentro del parche cubierto podría introducir diferencias energéticas que afectarían la unión del Fab del anticuerpo B a la IL-23 humana. Estos residuos están también dentro de 4 Å o menos del Fab del anticuerpo B, como se describe en el Ejemplo 4.

Tabla 14 Diferencias del área superficial de accesibilidad al solvente para los residuos de heterodímeros de IL-23

| Residuos p19 (SEQ ID NO: 145) | Diferencia del área de superficie expuesta al disolvente (Å ²) |
|-------------------------------|--|
| Ser46 | 26.5 |
| Ala47 | 12.7 |
| Pro49 | 59.6 |
| Leu50 | 122.2 |
| His53 | 47.8 |
| Met54 | 13.9 |
| Asp55 | 20.5 |
| Arg57 | 14.6 |
| Glu58 | 96.5 |
| Glu112 | 29.7 |
| Pro113 | 64.8 |
| Ser114 | 30.0 |
| Leu115 | 31.4 |
| Leu116 | 60.0 |
| Asp118 | 14.4 |
| Ser119 | 19.7 |
| Pro120 | 64.7 |
| Pro155 | 19.4 |
| Typ156 | 61.9 |
| Leu159 | 72.8 |
| Leu160 | 27.0 |
| Arg162 | 14.4 |
| Phe163 | 67.5 |
| residuos p40 (SEQ ID NO:147) | |
| Glu122 | 29.1 |
| Lys124 | 60.9 |

5 Se calcularon las diferencias de superficie superficial accesibles con solventes de la porción del heterodímero de IL-23 unido por el paratopo de Fab del anticuerpo E, tal como se ha descrito anteriormente. Se consideró que los
 10 residuos de heterodímero de IL-23 que tenían un valor de diferencia $\geq 10 \text{ \AA}^2$ estaban en contacto significativo con residuos del Fab del anticuerpo E y estos residuos de heterodímero IL-23 estaban al menos parcialmente completamente ocluidos cuando el heterodímero de IL-23 humano unido al Fab del anticuerpo E. Este conjunto de residuos heterodímeros de IL-23 forman el parche cubierto, los residuos involucrados en la estructura de la interfaz cuando el heterodímero de IL-23 humano está unido al Fab del anticuerpo E, véase Tabla 15. Los residuos heterodímeros IL-23 en este El parche cubierto no puede estar implicado en las interacciones de unión con los residuos en el Fab del anticuerpo E, pero la mutación de cualquier residuo único dentro del parche cubierto podría introducir diferencias energéticas que afectarían la unión de Fab del anticuerpo E a IL-23 humana. Estos residuos están también dentro de 5 Å o menos del Fab del anticuerpo E, como se describe en el Ejemplo 4.

Tabla 15 Diferencias del área superficial de accesibilidad al solvente para residuos de heterodímeros de IL-23

| p19 residuos (SEQ ID NO: 145) | Diferencia del área de superficie expuesta al solvente (\AA^2) |
|-------------------------------|---|
| Ser46 | 18.7 |
| Ala47 | 14.9 |
| Pro49 | 79.8 |
| Leu50 | 99.5 |
| His53 | 61.2 |
| Glu112 | 62.8 |
| Pro113 | 45.7 |
| Ser114 | 69.5 |
| Leu115 | 50.3 |
| Leu116 | 127.2 |
| Pro117 | 54.1 |
| Asp118 | 37.0 |
| Pro120 | 18.8 |
| Pro155 | 16.9 |
| Trp156 | 140.7 |
| Leu159 | 21.8 |
| Leu160 | 17.0 |
| Phe163 | 56.6 |
| residuos p40 (SEQ ID NO:147) | |
| Lys121 | 86.2 |
| residuos p40 (SEQ ID NO:147) | |
| Glu122 | 21.8 |

ES 2 613 236 T3

| | |
|--------|------|
| Pro123 | 22.1 |
| Asn125 | 26.7 |
| Arg283 | 22.6 |

<110> Towne, Jennifer

Cheng, Janet

O'Neill, Jason

5 Zhang, Yu

Sun, Yu

Cerne, Heather

Piper, Derek

Ketchem, Randal

10 <120> Proteínas de unión de antígeno de IL-23 humana

<130> A-1529-WO-PCT

<140> para ser asignada

<141> 2010-10-26

<150> 61/381,287

15 <151> 2010-09-09

<150> 61/254,982

<151> 2009-10-26

<160> 155

<170> PatentIn version 3.5

20 <210> 1

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

ES 2 613 236 T3

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Thr Gly Ala Gly
 20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Ser Gly Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
 85 90 95

Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 2

<211> 333

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 2

```

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggtcaccatc      60
tcttgcaactg ggagcagctc caacaccggg gcaggttatg atgtacactg gtaccagcaa      120
gttccaggaa cagcccccaa actcctcatt tatggtagcg gcaatcggcc ctcaggggtc      180
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccttggccat cactggactc      240
caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acagcagcct gagtggttgg      300
gtgttcggcg gagggaccag gctgaccgtc ctg                                     333
    
```

<210> 3

<211> 111

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

ES 2 613 236 T3

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Ser Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
 85 90 95

Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 4

<211> 115

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 4

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

Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Ser Gly Ile Asn Val Gly Thr
 20 25 30

ES 2 613 236 T3

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

<210> 5

<211> 345

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 5

caggctgtgc tgactcagcc gtcttccctc tctgcatctc ctggagcatc agccagtctc 60
 acctgcacct taocgagtgg catcaatggt ggtacctaca ggatatactg gtaccagcag 120
 aagccagggga gtctctccca gtatctcctg aggtacaaat cagactcaga taagcagcag 180
 ggctctggag tccccagccg cttctctgga tccaaagatg cttcggccaa tgcagggatt 240
 ttactcatct ctgggtcca gtctgaggat gaggctgact attactgtat gatttggcac 300
 agcagcgctt cggatttcgg cggagggacc aagctgaccg tccta 345

<210> 6

<211> 14

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Glu Asn Thr Val Thr Ile Tyr Tyr Asn Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

ES 2 613 236 T3

<210> 7

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 7

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

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

Val Asp Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met
35 40 45

Arg Val Gly Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Asp Gly Ile Pro
50 55 60

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

Lys Asn Ile Gln Glu Glu Asp Glu Ser Asp Tyr His Cys Gly Ala Asp
85 90 95

His Gly Ser Gly Ser Asn Phe Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys
100 105 110

Val Thr Val Leu
115

<210> 8

<211> 348

<212> ADN

10 <213> Homo sapiens

<400> 8

ES 2 613 236 T3

cagcctgtgc tgactcagcc accttctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc 60
 acctgcaccc tgaacagcgg ctacagtgat tataaagtgg actggtacca gcagagacca 120
 ggggaagggcc cccggtttgt gatgcgagtg ggcactgggtg ggattgtggg atccaagggg 180
 gatggcatcc ctgatcgctt ctcagtcttg ggctcaggcc tgaatcggtta cctgaccatc 240
 aagaatatcc aggaagagga tgagagtgac taccactgtg gggcagacca tggcagtggg 300
 agcaacttcg tgtatgtctt cggaactggg accaaggtca ccgtccta 348

<210> 9

<211> 116

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 9

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

<210> 10

<211> 348

10 <212> ADN

ES 2 613 236 T3

<213> Homo sapiens

<400> 10

```

cagcctgtgc tgactcagcc accttctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc      60
acctgcaccc tgagcagcgg ctacagtgat tataaagtgg actggtacca gcagagacca      120
gggaagggcc cccggtttgt gatgcgagtg ggcactggtg ggattgtggg atccaagggg      180
gaaggcatcc ctgatcgctt ctcagtcttg ggctcaggcc tgaatcggta cctgaccatc      240
aagaacatcc aggaagagga tgagagtgac taccactgtg gggcagacca tggcagtggg      300
aacaacttcg tgtatgtctt cggaactggg accaaggta cccgtccta                      348

```

<210> 11

5 <211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

```

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

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

Val Asp Trp Tyr Gln Leu Arg Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met
                35                               40                               45

Arg Val Gly Thr Gly Gly Thr Val Gly Ser Lys Gly Glu Gly Ile Pro
50                               55                               60

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

Lys Asn Ile Gln Glu Glu Asp Glu Ser Asp Tyr His Cys Gly Ala Asp
                85                               90                               95

His Gly Ser Gly Ser Asn Phe Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys
                100                               105                               110

Val Thr Val Leu
                115

```

10 <210> 12

<211> 348

<212> ADN

ES 2 613 236 T3

<213> Homo sapiens

<400> 12

```

cagcctgagt tgactcagcc accttctgca tcagcctccc tgggagcctc ggtcacactc      60
acctgcaccc tgagcagcgg ctacagtgat tataaagtgg actggtacca gctgagacca      120
gggaagggcc cccggtttgt gatgcgagtg ggactggtg ggactggtg atccaagggg      180
gaaggcatcc ctgatcgctt ctcagtcttg ggctcaggcc tgaatcggtc cctgaccatc      240
aagaacatcc aggaagagga tgagagtgac taccactgtg gggcagacca tggcagtggg      300
agcaacttcg tgtatgtctt cggaactggg accaagtca cagtctca      348
    
```

<210> 13

5 <211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

```

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

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

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

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

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

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

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

10 <210> 14

<211> 321

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 14

ES 2 613 236 T3

gacatccagt tgaccccgtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca gggattgccc ggctgggtag cctgggatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctgacagtt tccctcccac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 15

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

<210> 16

<211> 321

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 16

ES 2 613 236 T3

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtcagg ggttatttagc agctgggttag cctgggatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctagcctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtgtatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac ttcgggcct 300
 gggaccaaaag tggatttcaa a 321

<210> 17

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 17

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

<210> 18

<211> 321

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 18

ES 2 613 236 T3

```

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgtc gggcgagtca ggaagtagc agctggtttg cctgggatca gcagaaacca      120
gggaaagccc caaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca      180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct      240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggcct      300
gggaccaaag tggatatcaa a                                               321

```

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 19

```

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

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

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

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

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

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

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

```

<210> 20

<211> 321

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 20

ES 2 613 236 T3

gacagccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcct ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca gggatttagc agctggtttg cctgggatca gcagaaacca 120
 gggcaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt toccattcac tttcggccct 300
 gggaccaaaag tggatatcaa a 321

<210> 21

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 21

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

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

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

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

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

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

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

<210> 22

10 <211> 321

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 22

ES 2 613 236 T3

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgggtca ggtattagc agctggtag cctgggatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatcg 180
 aggttcagcg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gacgattttg caacttacta ttgtcaacag gctaccagtt ttcccctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 23

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

<210> 24

<211> 321

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 24

ES 2 613 236 T3

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca gggtttttagc ggttggttag cctggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 25

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 25

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

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

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

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

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

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

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

<210> 26

<211> 321

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 26

ES 2 613 236 T3

gacatccagt tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggttattagc agctggtttg cctgggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gcagattttg caacttactt ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggcct 300
gggaccaaag tggatgtcaa a 321

<210> 27

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 27

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

<210> 28

<211> 321

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 28

ES 2 613 236 T3

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc ggtgtcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtagtagc agctggtttg cctggtatca acagaaacca 120
 gggaaagccc caaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatthttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 29

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 29

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

<210> 30

<211> 108

10 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

- <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa puede ser Ile o Ser
- 5 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (4)..(4)
 <223> Xaa puede ser Met o Leu,
 <220>
- 10 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (29) .. (29)
 <223> Xaa puede ser Gly o Val
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
- 15 <222> (30)..(30)
 <223> Xaa puede ser Ser, Phe o Ile
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (32)..(32)
- 20 <223> Xaa puede ser Ser o Gly
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (34)..(34)
 <223> Xaa puede ser Phe o Leu
- 25 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (43)..(43)
 <223> Xaa puede ser Lys o Gln
 <220>
- 30 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (46)..(46)
 <223> Xaa puede ser Lys, Asn o Ser

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (67)..(67)

<223> Xaa puede ser Gly o Val

5 <220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (71)..(71)

<223> Xaa puede ser Asp o Glu

<220>

10 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (82)..(82)

<223> Xaa puede ser Glu o Ala

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

15 <222> (88)..(88)

<223> Xaa puede ser Try o Phe

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (107)..(107)

20 <223> Xaa puede ser Ile, Val o Phe

<400> 30

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

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

ES 2 613 236 T3

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

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

Gly Ser Xaa Ser Gly Thr Xaa Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

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

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

<210> 31

<211> 124

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 31

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

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

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

<210> 32

<211> 372

ES 2 613 236 T3

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 32
 caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa tgaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatcgg 300
 gggtatacca gtagctggta ccctgatgct tttgatatct ggggccaagg gacaatggtc 360
 accgtctctt ca 372

<210> 33

5 <211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

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

10 <210> 34

ES 2 613 236 T3

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

```

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

```

5

<210> 35

<211> 363

<212> ADN

<213> Homo sapiens

10 <400> 35

```

caggtgcagc tggaggagtc tgggggagggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcaactgggt ccgccaggct      120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatttg atggaagtct taaatactat      180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa caccctgtat      240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaacgg      300
actactttaa gtgggagcta ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc      360
tca                                             363

```

ES 2 613 236 T3

<210> 36

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 36

```

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

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

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

Ser Val Ile Ser His Asp Gly Ser Ile Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50                               55           60

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115                              120
    
```

<210> 37

<211> 363

<212> ADN

10 <213> Homo sapiens

<400> 37

```

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatgcca tgcactgggt cgcaggct      120
ccaggcaagg ggctggagtg gttgtcagtt atatcacatg atggaagtat taaatactat      180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaacgg      300
actactctaa gtgggagcta ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc      360
tca                                                                                   363
    
```

ES 2 613 236 T3

<210> 38

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 38

```

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

```

<210> 39

<211> 375

<212> ADN

10 <213> Homo sapiens

<400> 39

ES 2 613 236 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ctggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagta tgaactgggt ccgccagct 120
 ccaggaagg ggctggagtg ggtttcgtac attagtagta ggagtagtac catatacatc 180
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agacgaagac acggctgtgt attactgtgc gagacggata 300
 gcagcagctg gtgggttcca ctactactac gctttggacg tctggggcca agggaccacg 360
 gtcaccgtct cctca 375

<210> 40

<211> 125

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 40

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

<210> 41

<211> 375

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

ES 2 613 236 T3

<400> 41

```

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacaac ctggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctatagca tgaactgggt cgcaggct      120
ccaggaaggg ggctggagtg ggtttcatac attagtagca gtagtagtac cagataccac      180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctactgtat      240
ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgtata      300
gcagcagctg gtccgtgggg ctactactac gctatggacg tctggggcca aggaccacg      360
gtcaccgtct cctca                                                    375
    
```

<210> 42

<211> 125

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

```

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20           25           30

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Arg Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50           55           60

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

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

Ala Arg Arg Ile Ala Ala Ala Gly Pro Trp Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met
100          105          110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115          120          125
    
```

<210> 43

10 <211> 375

ES 2 613 236 T3

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 43

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgtag tctctggatt caccttcagt agtttttagca tgaactgggt cgcaccagct      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtttcatac attagtagtc gtagtagtac catatactac      180
gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa ctcaactgtat      240
ctgcaaatga acagcctgag agacgaggac acggctgtgt attattgtgc gagacgtata      300
gcagcagctg gtccgtgggg ctactactac gctatggacg tctggggcca agggaccacg      360
gtcacctctc cctca                                                    375
    
```

5 <210> 44

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Thr Tyr
          20           25           30

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

Gly Leu Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50           55           60

Ser Arg Val Thr Met Ser Leu Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65           70           75           80

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

Arg Asp Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
100          105          110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115
    
```

ES 2 613 236 T3

<210> 45

<211> 354

<212> ADN

<213> Homo sapiens

5 <400> 45

```
cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt acttactact ggagctggat ccggcagccc      120
gccgggaagg gactggagtg gattgggctt atctatacca gtgggagcac caactacaac      180
ccctccctca agagtogagt caccatgtca ttagacacgt ccaagaacca gttctccctg      240
aggctgacct ctgtgaccgc cgcggacacg gccgtttatt actgtgcgag agatcgtggg      300
tactactacg gtgtggacgt ctggggccag gggaccacgg tcaccgtctc ctca          354
```

<210> 46

<211> 120

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 46

ES 2 613 236 T3

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

<210> 47

<211> 360

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 47

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc 120
 cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggcacatcc attacagtgg gaacacctac 180
 tacaaccogt ccctcaagag togagttacc atatcagtag acacgtctaa gaatcagttc 240
 tcctgaaac tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgaaaaat 300
 cgcgggttct actacggtat ggacgtctgg ggccaagggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 48

<211> 120

10 <212> PRT

ES 2 613 236 T3

<213> Homo sapiens

<400> 48

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

<210> 49

5 <211> 360

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 49

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcaac agtggtggtt actactggag ctggatccgc 120
 cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggatcatct attacagtgg gagctcctac 180
 tacaaccgt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctca gaaccagttc 240
 tccctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat 300
 cgggggcact actacggtat ggacgtctgg ggccaagga ccacggtcac cgtctcctca 360

ES 2 613 236 T3

<210> 50

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 50

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
 20          25          30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50          55          60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85          90          95

Cys Ala Arg Asp Arg Gly His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100          105          110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115          120

```

<210> 51

<211> 360

<212> ADN

10 <213> Homo sapiens

<400> 51

ES 2 613 236 T3

cagggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
 acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtggtggtt actactggag ctggatccgc 120
 cagcaccag ggaagggcct ggagtggatt gggtagattt attacagtgg gagcacctac 180
 tacaaccggt ccctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
 tcctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat 300
 cggggccact actatggaat ggacgtctgg ggccaagga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 52

<211> 118

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 52

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

<210> 53

<211> 354

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

ES 2 613 236 T3

<400> 53

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccaaga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtga ctccatcagt agttacttct ggagctggat ccggcagccc      120
ccaggggaagg gactggagtg gcttgggtat atctattaca gtggggagcac caactacaac      180
ccctccctca agagtcgagt caccatatca atagacacgt ccaagaacca gttctccctg      240
aagctgagct ctgtgaccgc tgcggacacg gccgtgtatt actgtacgag agatcggggg      300
agctactacg gatctgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca            354
    
```

<210> 54

<211> 120

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
 20                25                30

Gly Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35                40                45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50                55                60

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

Ser Leu Ser Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85                90                95

Cys Ala Arg Asn Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 100               105               110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115                120
    
```

<210> 55

10 <211> 360

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 55

ES 2 613 236 T3

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcaactg tctctggtgg ctccatcagc agtgggtggtt actactggac ctggatccgc      120
cagcaccagcag ggaagggcct ggagtggtt gggatcatct attacagtgg gaacacctac      180
tacaaccctgt ccctcaagag tcgaattacc atatcagtgg acacgtctaa gaaccagttc      240
tcctgagacc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagaaat      300
cgcggttact actacggtat ggacgtctgg ggccaagga ccacggtcac cgtctcctca      360

```

<210> 56

<211> 120

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 56

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
           20           25           30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
           35           40           45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
           50           55           60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65           70           75           80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
           85           90           95

Cys Ala Lys Asn Arg Gly Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
           100          105          110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
           115          120

```

<210> 57

<211> 360

10 <212> ADN

<213> Homo sapiens

ES 2 613 236 T3

<400> 57

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcagc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagc ggaagggcct ggagtggatt gggtagatctt attacagtgg gagcacctac      180
tacaaccctg ccctcaagag tcgagttacc atgtcagtag acacgtctaa gaaccagttc      240
tccctgaaac tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgaaaaat      300
cgcggggttct actacggtat ggacgtctgg ggccaagggg ccacggtcac cgtctcctca      360
    
```

<210> 58

<211> 120

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

```

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Asn Ser Gly
 20                25                30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35                40                45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ser Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50                55                60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85                90                95

Cys Ala Arg Asp Arg Gly His Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 100               105               110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115                120
    
```

<210> 59

10 <211> 360

<212> ADN

<213> Homo sapiens

ES 2 613 236 T3

<400> 59

```

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc      60
acctgcaactg tctctggtgg ctccatcaat agtggtggtt actactggag ctggatccgc      120
cagcaccagcag ggaagggcct ggagtggatt gggtagatct attacagtgg gagcagctac      180
tacaaccogt ccctcaagag tcgagttacc atatcagttg acacgtctaa gaaccagttc      240
tccctgaagc tgagttctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgagagat      300
cgggggcact actacggtat ggacgtctgg ggccaagggg ccacgggtcac cgtctcctca      360
    
```

<210> 60

<211> 123

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

```

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Asn Thr Val Thr Ile Tyr Tyr Asn Tyr Gly Met Asp Val
          100                    105                110

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

<210> 61

10 <211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de consenso
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 5 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa puede ser Val o Glu
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (25)..(25)
 10 <223> Xaa puede ser Asn o Ser
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (38)..(38)
 <223> Xaa puede ser Gln o Leu
 15 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (55)..(55)
 <223> Xaa puede ser Ile o Thr
 <220>
 20 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (61)..(61)
 <223> Xaa puede ser Asp o Glu
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 25 <222> (77)..(77)
 <223> Xaa puede ser Tyr o Ser
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (101)..(101)
 30 <223> Xaa puede ser Ser o Asn
 <400> 61

ES 2 613 236 T3

Gln Pro Xaa Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Ala Ser Leu Gly Ala
 1 5 10 15

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

Val Asp Trp Tyr Gln Xaa Arg Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met
 35 40 45

Arg Val Gly Thr Gly Gly Xaa Val Gly Ser Lys Gly Xaa Gly Ile Pro
 50 55 60

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

Lys Asn Ile Gln Glu Glu Asp Glu Ser Asp Tyr His Cys Gly Ala Asp
 85 90 95

His Gly Ser Gly Xaa Asn Phe Val Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys
 100 105 110

Val Thr Val Leu
 115

<210> 62

<211> 14

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 62

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Thr Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
 1 5 10

<210> 63

<211> 7

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Gly Ser Gly Asn Arg Pro Ser
 1 5

<210> 64

15 <211> 11

ES 2 613 236 T3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Trp Val
1 5 10

5 <210> 65

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

10 Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 66

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 66

Gly Ser Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 67

Met Ile Trp His Ser Ser Ala Ser Val
1 5

<210> 68

<211> 14

25 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Thr Leu Arg Ser Gly Ile Asn Val Gly Thr Tyr Arg Ile Tyr
1 5 10

ES 2 613 236 T3

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

5 <400> 69

Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser
1 5 10

<210> 70

<211> 13

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 70

Gly Ala Asp His Gly Ser Gly Ser Asn Phe Val Tyr Val
1 5 10

<210> 71

<211> 11

15 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Thr Leu Asn Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Lys Val
1 5 10

<210> 72

20 <211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Val Gly Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Asp
1 5 10

25 <210> 73

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

ES 2 613 236 T3

<400> 73

Gly Ala Asp His Gly Ser Gly Asn Asn Phe Val Tyr Val
1 5 10

<210> 74

<211> 11

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Thr Leu Ser Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Lys Val
1 5 10

<210> 75

10 <211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Val Gly Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Glu
1 5 10

15 <210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

20 Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 77

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

25 <400> 77

Arg Ala Ser Gln Gly Phe Ser Gly Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 78

ES 2 613 236 T3

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

5 Val Gly Thr Gly Gly Thr Val Gly Ser Lys Gly Glu
1 5 10

<210> 79

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10 <400> 79

Gln Gln Ala Thr Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 80

<211> 11

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 80

Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 81

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 82

25 <211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

ES 2 613 236 T3

Gln Gln Ala Asp Ser Phe Pro Pro Thr
1 5

<210> 83

<211> 11

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 83

Arg Ala Ser Gln Val Ile Ser Ser Trp Phe Ala
1 5 10

<210> 84

<211> 9

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
1 5

<210> 85

15 <211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Arg Ala Ser Gln Gly Ser Ser Ser Trp Phe Ala
1 5 10

20 <210> 86

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Phe Ala
1 5 10

25

<210> 87

<211> 11

ES 2 613 236 T3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Arg Ala Gly Gln Val Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

5 <210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ala Gly Trp Leu Ala
1 5 10

10

<210> 89

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 89

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

<210> 90

<211> 17

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 90

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

Gly

<210> 91

<211> 5

25 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

ES 2 613 236 T3

Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 92

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 92

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Glu Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 93

<211> 15

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Asp Arg Gly Tyr Thr Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 94

15 <211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Ser Tyr Ala Met His
1 5

20 <210> 95

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

ES 2 613 236 T3

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

Gly

<210> 96

<211> 15

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 96

Asp Arg Gly Tyr Ser Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 97

<211> 5

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Thr Tyr Ser Met Asn
1 5

<210> 98

15 <211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

Val Ile Ser Phe Asp Gly Ser Leu Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

20 <210> 99

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

ES 2 613 236 T3

Glu Arg Thr Thr Leu Ser Gly Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 100

<211> 5

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 100

Ser Tyr Ser Met Asn
1 5

<210> 101

<211> 17

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

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

Gly

<210> 102

15 <211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Arg Ile Ala Ala Ala Gly Gly Phe His Tyr Tyr Tyr Ala Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 103

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Ser Phe Ser Met Asn
1 5

20 <210> 104

<211> 17

ES 2 613 236 T3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

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

Gly

5 <210> 105

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Arg Ile Ala Ala Ala Gly Pro Trp Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Val
1 5 10 15

10

<210> 106

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 106

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Thr
1 5

<210> 107

<211> 17

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 107

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

Gly

<210> 108

<211> 10

ES 2 613 236 T3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

Asn Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

5 <210> 109

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

10

<210> 110

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

15 <400> 110

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

Gly

<210> 111

<211> 10

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 111

Asn Arg Gly Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 112

<211> 5

25 <212> PRT

ES 2 613 236 T3

<213> Homo sapiens

<400> 112

Ser Tyr Phe Trp Ser
1 5

<210> 113

5 <211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

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

10 <210> 114

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Asp Arg Gly His Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

15

<210> 115

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 115

Thr Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 116

<211> 16

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<400> 116

ES 2 613 236 T3

His Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 117

Asp Arg Gly Ser Tyr Tyr Gly Ser Asp Tyr
1 5 10

<210> 118

<211> 16

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

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

<210> 119

15 <211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

Asp Arg Gly Tyr Tyr Tyr Gly Val Asp Val
1 5 10

20 <210> 120

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Ser Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

25

<210> 121

ES 2 613 236 T3

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

5 **Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser**
 1 5 10 15

<210> 122

<211> 16

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 122

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

<210> 123

<211> 11

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

20 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (5)..(5)

<223> Xaa puede ser Gly o Val

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

25 <222> (6)..(6)

<223> Xaa puede ser Ile, Phe o Ser

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (8)..(8)

30 <223> Xaa puede ser Ser o Gly

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (10)..(10)

<223> Xaa puede ser Phe o Leu.

5 <400> 123

Arg Ala Ser Gln Xaa Xaa Ser Xaa Trp Xaa Ala
1 5 10

<210> 124

<211> 12

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

15 <222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser Asn o Ser

<400> 124

Thr Leu Xaa Ser Gly Tyr Ser Asp Tyr Lys Val Asp
1 5 10

<210> 125

20 <211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

25 <220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (7)..(7)

<223> Xaa puede ser Ile o Thr

<400> 125

ES 2 613 236 T3

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Xaa Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 126

<211> 12

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

10 <222> (6)..(6)

<223> Xaa puede ser Ile o Thr

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (12)..(12)

15 <223> Xaa puede ser Asp o Glu

<400> 126

Val Gly Thr Gly Gly Xaa Val Gly Ser Lys Gly Xaa
1 5 10

<210> 127

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

25 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser Asn o Gly

<400> 127

Gly Ser Xaa Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 128

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

5 <220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (8)..(8)

10 <223> Xaa puede ser Ser o Asn

<400> 128

Gly Ala Asp His Gly Ser Gly Xaa Asn Phe Val Tyr Val
1 5 10

<210> 129

<211> 7

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

20 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (7)..(7)

<223> Xaa puede ser Ser o Thr

<400> 129

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Xaa
1 5

25 <210> 130

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

30 <223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (3)..(3)

<223> Xaa puede ser Gly o Ala

5 <400> 130

Ser Tyr Xaa Met His
1 5

<210> 131

<211> 5

<212> PRT

10 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

15 <222> (1)..(1)

<223> Xaa puede ser Ser o The

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (1)..(1)

20 <223> Xaa puede ser Ser o Thr

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (1)..(1)

<223> Xaa puede ser Ser o Thr

25 <220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (2)..(2)

<223> Xaa puede ser Tyr o Phe

<400> 131

Xaa Xaa Ser Met Asn
1 5

30

- <210> 132
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial
- 5 <220>
 <223> Secuencia de consenso
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (1)..(1)
- 10 <223> Xaa puede ser Tyr o His
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa puede ser Thr o His
- 15 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa puede ser Ser o Asn
 <220>
- 20 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa puede ser Thr o Ser
 <400> 132
- | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Xaa | Ile | Xaa | Tyr | Ser | Gly | Xaa | Xaa | Tyr | Tyr | Asn | Pro | Ser | Leu | Lys | Ser |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
- 25 <210> 133
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
- 30 <223> Secuencia de consenso
 <220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (4)..(4)

<223> Xaa puede ser Phe o His

<220>

5 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (8)..(8)

<223> Xaa puede ser Leu o Thr

<400> 133

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Val | Ile | Ser | Xaa | Asp | Gly | Ser | Xaa | Lys | Tyr | Tyr | Ala | Asp | Ser | Val | Lys |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |

Gly

10 <210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

15 <223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (5)..(5)

<223> Xaa puede ser Arg o Ser

20 <220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (9)..(9)

<223> Xaa puede ser Ile o Arg

<220>

25 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (11)..(11)

<223> Xaa puede ser Ile, His o Try

<400> 134

Tyr Ile Ser Ser Xaa Ser Ser Thr Xaa Tyr Xaa Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 135

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

10 <222> (9)..(9)

<223> Xaa puede ser Lys o Glu

<400> 135

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Xaa Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 136

15 <211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

20 <220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (1)..(1)

<223> Xaa puede ser Asn o Asp

<220>

25 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (4)..(4)

<223> Xaa puede ser His, Tyr o Phe

ES 2 613 236 T3

<400> 136

Xaa Arg Gly Xaa Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 137

<211> 16

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

10 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (7)..(7)

<223> Xaa puede ser Gly o Phe

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

15 <222> (8)..(8)

<223> Xaa puede ser Phe o Trp

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (9)..(9)

20 <223> Xaa puede ser His o Gly

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (14)..(14)

<223> Xaa puede ser Leu and Met

25 <400> 137

Arg Ile Ala Ala Ala Gly Xaa Xaa Xaa Tyr Tyr Tyr Ala Xaa Asp Val
1 5 10 15

<210> 138

<211> 15

<212> PRT

30 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

5 <222> (5)..(5)

<223> Xaa puede ser Ser o Thr

<400> 138

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Asp | Arg | Gly | Tyr | Xaa | Ser | Ser | Trp | Tyr | Pro | Asp | Ala | Phe | Asp | Ile |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 |

<210> 139

10 <211> 112

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

15 <220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (29)..(29)

<223> Xaa puede ser Ile o Thr

<220>

20 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (41)..(41)

<223> Xaa puede ser Val o Leu

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

25 <222> (54)..(54)

<223> Xaa puede ser Gly o Asn

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (107)..(107)

30 <223> Xaa puede ser Arg o Lys

<400> 139

ES 2 613 236 T3

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

<210> 140

<211> 120

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

10 <222> (30)..(30)

<223> Xaa puede ser And o Ser

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (37)..(37)

15 <223> Xaa puede ser Ser o Thr

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

- <222> (52)..(52)
<223> Xaa puede ser Tyr o His
<220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
- 5 <222> (54)..(54)
<223> Xaa puede ser Tyr o His
<220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
<222> (58)..(58)
- 10 <223> Xaa puede ser Ser o Asn
<220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
<222> (59)..(59)
<223> Xaa puede ser Ser o Asn
- 15 <220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
<222> (69)..(69)
<223> Xaa puede ser Ser o Thr
<220>
- 20 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
<222> (71)..(71)
<223> Xaa puede ser Val o Ile
<220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
- 25 <222> (77)..(77)
<223> Xaa puede ser Ile o Met
<220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC
<222> (83)..(83)
- 30 <223> Xaa puede ser Lys o Gln
<220>
<221> CARACTERÍSTICA_MISC

ES 2 613 236 T3

<222> (99)..(99)

<223> Xaa puede ser Arg o Lys

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

5 <222> (100)..(100)

<223> Xaa puede ser Asp o Asn

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (103)..(103)

10 <223> Xaa puede ser His, Phe o Try

<400> 140

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

<210> 141

<211> 125

15 <212> PRT

<213> Artificial

- <220>
 <223> Secuencia de consenso
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 5 <222> (23)..(23)
 <223> Xaa puede ser Ala o Val
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (24)..(24)
 10 <223> Xaa puede ser Ala o Val
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (31)..(31)
 <223> Xaa puede ser Thr o Ser
 15 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (32)..(32)
 <223> Xaa puede ser Tyr o Phe
 <220>
 20 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (54)..(54)
 <223> Xaa puede ser Ser o Arg
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 25 <222> (58)..(58)
 <223> Xaa puede ser Arg o Ile
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 <222> (60)..(60)
 30 <223> Xaa puede ser His, Try o Ile
 <220>
 <221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (105)..(105)

<223> Xaa puede ser Pro o Gly

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

5 <222> (106)..(106)

<223> Xaa puede ser Trp o Phe

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (107)..(107)

10 <223> Xaa puede ser Gly o His

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (112)..(112)

<223> Xaa puede ser Met o Leu

15 <400> 141

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

- <210> 142
- <211> 121
- <212> PRT
- <213> Artificial
- 5 <220>
 - <223> Secuencia de consenso
 - <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 - <222> (33)..(33)
- 10 <223> Xaa puede ser Gly o Ala
 - <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 - <222> (48)..(48)
 - <223> Xaa puede ser Val o Leu
- 15 <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 - <222> (49)..(49)
 - <223> Xaa puede ser Ala o Ser
 - <220>
- 20 <221> CARACTERÍSTICA_MISC
 - <222> (53)..(53)
 - <223> Xaa puede ser Phe o His
 - <220>
 - <221> CARACTERÍSTICA_MISC
- 25 <222> (57)..(57)
 - <223> Xaa puede ser Leu o Ile
 - <400> 142

ES 2 613 236 T3

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

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

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

Xaa Val Ile Ser Xaa Asp Gly Ser Xaa Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 143

<211> 124

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de consenso

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

10 <222> (58)..(58)

<223> Xaa puede ser Glu o Lys

<220>

<221> CARACTERÍSTICA_MISC

<222> (103)..(103)

15 <223> Xaa puede ser Thr o Ser

<400> 143

ES 2 613 236 T3

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

<210> 144

<211> 1026

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 144

ES 2 613 236 T3

| | |
|---|------|
| aactcgggtga acaactgagg gaaccaaacc agagacgcgc tgaacagaga gaatcaggct | 60 |
| caaagcaagt ggaagtgggc agagattcca ccaggactgg tgcaaggcgc agagccagcc | 120 |
| agatttgaga agaaggcaa aagatgctgg ggagcagagc tgtaatgctg ctgttgctgc | 180 |
| tgccctggac agctcagggc agagctgtgc ctgggggcag cagccctgcc tggactcagt | 240 |
| gccagcagct ttcacagaag ctctgcacac tggcctggag tgcacatcca ctagtgggac | 300 |
| acatggatct aagagaagag ggagatgaag agactacaaa tgatgttccc catatccagt | 360 |
| gtggagatgg ctgtgacccc caaggactca gggacaacag tcagttctgc ttgcaaagga | 420 |
| tccaccaggg tctgattttt tatgagaagc tgctaggatc ggatattttc acaggggagc | 480 |
| cttctctgct ccctgatagc cctgtgggccc agcttcatgc ctccctactg ggcctcagcc | 540 |
| aactcctgca gcctgagggg caccactggg agactcagca gattccaagc ctcagtccca | 600 |
| gccagccatg gcagcgtctc cttctccgct tcaaaatcct tcgcagcctc caggcctttg | 660 |
| tggtctgtagc cgcccgggtc tttgcccattg gagcagcaac cctgagtccc taaaggcagc | 720 |
| agctcaagga tggcactcag atctccatgg cccagcaagg ccaagataaa tctaccaccc | 780 |
| caggcacctg tgagccaaca ggtaattag tccattaatt ttagtgggac ctgcatatgt | 840 |
| tgaaaattac caatactgac tgacatgtga tgctgaccta tgataagggtt gagtatttat | 900 |
| tagatgggaa gggaaatttg gggattattt atcctcctgg ggacagtttg gggaggatta | 960 |
| tttattgtat ttatattgaa ttatgtactt ttttcaataa agtcttattt ttgtggctaa | 1020 |
| aaaaaa | 1026 |

<210> 145

<211> 189

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

ES 2 613 236 T3

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

<210> 146

<211> 1399

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 146

ES 2 613 236 T3

| | |
|--|------|
| ctgtttcagg gccattggac tctccgtcct gcccagagca agatgtgtca ccagcagttg | 60 |
| gtcatctctt ggttttccct ggtttttctg gcatctcccc tcgtggccat atgggaactg | 120 |
| aagaaagatg tttatgtcgt agaattggat tggatccgg atgccctgg agaatggtg | 180 |
| gtcctcacct gtgacacccc tgaagaagat ggtatcacct ggaccttggga ccagagcagt | 240 |
| gaggtcttag gctctggcaa aaccctgacc atccaagtca aagagtttgg agatgctggc | 300 |
| cagtacacct gtcacaaaagg aggcgaggtt ctaagccatt cgctcctgct gcttcacaaa | 360 |
| aaggaagatg gaatttggtc cactgatatt ttaaaggacc agaaagaacc caaaaataag | 420 |
| acctttctaa gatgcgaggc caagaattat tctggacgtt tcacctgctg gtggctgacg | 480 |
| acaatcagta ctgatttgac attcagtgtc aaaagcagca gaggctcttc tgaccccaaa | 540 |
| ggggtgacgt gcggagctgc tacactctct gcagagagag tcagagggga caacaaggag | 600 |
| tatgagtact cagtggagtg ccaggaggac agtgcctgcc cagctgctga ggagagtctg | 660 |
| cccattgagg tcatggtgga tgccgttcac aagctcaagt atgaaaacta caccagcagc | 720 |
| ttcttcatca gggacatcat caaacctgac ccaccaaga acttgcagct gaagccatta | 780 |
| aagaattctc ggcaggtgga ggtcagctgg gagtaccctg acacctggag tactccacat | 840 |
| tcctacttct ccctgacatt ctgcgttcag gtccagggca agagcaagag agaaaagaaa | 900 |
| gatagagtct tcacggacaa gacctcagcc acggtcatct gccgcaaaaa tgccagcatt | 960 |
| agcgtgcggg cccaggaccg ctactatagc tcatcttggg gcgaatgggc atctgtgcc | 1020 |
| tgcagttagg ttctgatcca ggatgaaaat ttggaggaaa agtggaagat attaagcaaa | 1080 |
| atgtttaaag acacaacgga atagaccaa aaagataatt tctatctgat ttgctttaa | 1140 |
| acgttttttt aggatcacia tgatatcttt gctgtatttg tatagttaga tgctaaatgc | 1200 |
| tcattgaaac aatcagctaa tttatgtata gattttccag ctctcaagtt gccatgggcc | 1260 |
| ttcatgctat ttaaatattt aagtaattta tgtatttatt agtatattac tgttatttaa | 1320 |
| cgtttgtctg ccaggatgta tggaatgttt catactctta tgacctgatc catcaggatc | 1380 |
| agtccttatt atgcaaaat | 1399 |

<210> 147

<211> 328

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 147

ES 2 613 236 T3

Met Cys His Gln Gln Leu Val Ile Ser Trp Phe Ser Leu Val Phe Leu
1 5 10 15

Ala Ser Pro Leu Val Ala Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val
20 25 30

Val Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu
35 40 45

Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln
50 55 60

Ser Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys
65 70 75 80

Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val
85 90 95

Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp
100 105 110

Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe
115 120 125

Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp
130 135 140

Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg
145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser
165 170 175

Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu
180 185 190

Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile
195 200 205

Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr
210 215 220

Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn
225 230 235 240

Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp
245 250 255

ES 2 613 236 T3

Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr
260 265 270

Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg
275 280 285

Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala
290 295 300

Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser
305 310 315 320

Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser
325

<210> 148

<211> 2826

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 148

ES 2 613 236 T3

| | | | | | | |
|-------------|------------|-------------|------------|------------|------------|------|
| acaaggggtgg | cagcctggct | ctgaagtgga | attatgtgct | tcaaacaggt | tgaaagaggg | 60 |
| aaacagtctt | ttcctgcttc | cagacatgaa | tcaggtcact | attcaatggg | atgcagtaat | 120 |
| agccctttac | atactottca | gctggtgtca | tggaggaatt | acaaatataa | actgctctgg | 180 |
| ccacatctgg | gtagaaccag | ccacaatfff | taagatgggt | atgaatatct | ctatatattg | 240 |
| ccaagcagca | attaagaact | gccaaccaag | gaaacttcat | ttttataaaa | atggcatcaa | 300 |
| agaaagattt | caaatcacia | ggattaataa | aacaacagct | cggttttggg | ataaaaactt | 360 |
| tctggaacca | catgcttcta | tgtactgcac | tgctgaatgt | cccaaacatt | ttcaagagac | 420 |
| actgatatgt | ggaaaagaca | tttcttctgg | atatccgcca | gatattcctg | atgaagtaac | 480 |
| ctgtgtcatt | tatgaatatt | caggcaacat | gacttgcacc | tggaatgctg | ggaagctcac | 540 |
| ctacatagac | acaaaatacg | tggtacatgt | gaagagtffa | gagacagaag | aagagcaaca | 600 |
| gtatctcacc | tcaagctata | ttaacatctc | cactgattca | ttacaaggtg | gcaagaagta | 660 |
| cttggtttgg | gtccaagcag | caaacgcact | aggcatggaa | gagtcaaac | aactgcaaat | 720 |
| tcacctggat | gatatagtga | tacottctgc | agccgtcatt | tccagggctg | agactataaa | 780 |
| tgctacagtg | ccaagacca | taattttattg | ggatagtcaa | acaacaattg | aaaaggtttc | 840 |
| ctgtgaaatg | agatacaagg | ctacaacaaa | ccaaacttgg | aatgttaaag | aatttgacac | 900 |
| caatfffaca | tatgtgcaac | agtcagaatt | ctacttggag | ccaaacatta | agtacgtatt | 960 |
| tcaagtgaga | tgtcaagaaa | caggcaaaaag | gtactggcag | ccttggagtt | cactgttttt | 1020 |
| tcataaaaca | cctgaaacag | ttcccaggt | cacatcaaaa | gcattccaac | atgacacatg | 1080 |
| gaattctggg | ctaacagttg | cttccatctc | tacagggcac | cttacttctg | acaacagagg | 1140 |

ES 2 613 236 T3

| | | | | | | |
|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------|
| agacattgga | cttttattgg | gaatgatcgt | ctttgctggt | atgttgtcaa | ttctttcttt | 1200 |
| gattgggata | tttaacagat | cattcccgaac | tgggattaaa | agaaggatct | tattgttaat | 1260 |
| accaaagtgg | ctttatgaag | atattcctaa | tatgaaaaac | agcaatgttg | tgaaaatgct | 1320 |
| acaggaaaat | agtgaactta | tgaataataa | ttccagtgg | caggtcctat | atgttgatcc | 1380 |
| catgattaca | gagataaaaag | aatcttcat | cccagaacac | aagcctacag | actacaagaa | 1440 |
| ggagaataca | ggaccctgg | agacaagaga | ctaccgcga | aactcgctat | tcgacaatac | 1500 |
| tacagttgta | tatattcctg | atctcaacac | tggatataaa | ccccaaattt | caaattttct | 1560 |
| gcctgagggg | agccatctca | gcaataataa | tgaattact | tccttaacac | ttaaaccacc | 1620 |
| agttgattcc | ttagactcag | gaaataatcc | caggttacia | aagcatccta | atthtgcttt | 1680 |
| ttctgtttca | agtgtgaatt | cactaagcaa | cacaatattt | cttgagaaat | taagcctcat | 1740 |
| attaaatcaa | ggagaatgca | gttctcctga | catacaaaac | tcagtagagg | aggaaaccac | 1800 |
| catgcttttg | gaaaatgatt | caccagtgga | aactattcca | gaacagacc | tgcttctga | 1860 |
| tgaatttgtc | tcctgtttgg | ggatcgtgaa | tgaggagttg | ccatctatta | atacttattt | 1920 |
| tccacaaaat | atthtgaaa | gccacttcaa | taggatttca | ctcttgaaa | agtagagctg | 1980 |
| tgtggtcaaa | atcaatatga | gaaagctgcc | ttgcaatctg | aacttggtt | ttccctgcaa | 2040 |
| tagaaattga | attctgcctc | tttttgaaa | aatgtattc | acatacaaat | cttcacatgg | 2100 |
| acacatgtht | tcatttccct | tggataaata | cctaggtagg | ggattgctgg | gccatatgat | 2160 |
| aagcatatgt | ttcagttcta | ccaatcttgt | ttccagagta | gtgacatttc | tgtgctccta | 2220 |
| ccatcaccat | gtaagaattc | ccgggagctc | catgcctttt | taattttagc | cattcttctg | 2280 |
| cctcattttct | taaaattaga | gaattaaggt | cccgaaggtg | gaacatgctt | catggtcaca | 2340 |
| catacaggca | caaaaacagc | attatgtgga | cgctcatgt | atthtttata | gagtcaacta | 2400 |
| tttctctttt | atthtccctc | attgaaagat | gcaaaacagc | tctctattgt | gtacagaaag | 2460 |
| ggtaaataat | gcaaaatacc | tggtagtaaa | ataaatgctg | aaaattttcc | tttaaatag | 2520 |
| aatcattagg | ccaggcgtgg | tggctcatgc | ttgtaatccc | agcactttgg | taggctgagg | 2580 |
| taggtggatc | acctgaggtc | aggagtccga | gtccagcctg | gccaatatgc | tgaaccctg | 2640 |
| tctctactaa | aattacaaaa | attagccggc | catggtggca | ggtgcttgta | atcccagcta | 2700 |
| cttgggaggc | tgaggcagga | gaatcacttg | aaccaggaag | gcagaggttg | cactgagctg | 2760 |
| agattgtgcc | actgcactcc | agcctgggca | acaagagcaa | aactctgtct | ggaaaaaaaa | 2820 |
| aaaaaa | | | | | | 2826 |

<210> 149

<211> 629

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 149

ES 2 613 236 T3

Met Asn Gln Val Thr Ile Gln Trp Asp Ala Val Ile Ala Leu Tyr Ile
 1 5 10 15

Leu Phe Ser Trp Cys His Gly Gly Ile Thr Asn Ile Asn Cys Ser Gly
 20 25 30

His Ile Trp Val Glu Pro Ala Thr Ile Phe Lys Met Gly Met Asn Ile
 35 40 45

Ser Ile Tyr Cys Gln Ala Ala Ile Lys Asn Cys Gln Pro Arg Lys Leu
 50 55 60

His Phe Tyr Lys Asn Gly Ile Lys Glu Arg Phe Gln Ile Thr Arg Ile
 65 70 75 80

Asn Lys Thr Thr Ala Arg Leu Trp Tyr Lys Asn Phe Leu Glu Pro His
 85 90 95

Ala Ser Met Tyr Cys Thr Ala Glu Cys Pro Lys His Phe Gln Glu Thr
 100 105 110

Leu Ile Cys Gly Lys Asp Ile Ser Ser Gly Tyr Pro Pro Asp Ile Pro
 115 120 125

Asp Glu Val Thr Cys Val Ile Tyr Glu Tyr Ser Gly Asn Met Thr Cys
 130 135 140

Thr Trp Asn Ala Gly Lys Leu Thr Tyr Ile Asp Thr Lys Tyr Val Val
 145 150 155 160

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

Ser Tyr Ile Asn Ile Ser Thr Asp Ser Leu Gln Gly Gly Lys Lys Tyr
 180 185 190

Leu Val Trp Val Gln Ala Ala Asn Ala Leu Gly Met Glu Glu Ser Lys
 195 200 205

Gln Leu Gln Ile His Leu Asp Asp Ile Val Ile Pro Ser Ala Ala Val
 210 215 220

Ile Ser Arg Ala Glu Thr Ile Asn Ala Thr Val Pro Lys Thr Ile Ile
 225 230 235 240

Tyr Trp Asp Ser Gln Thr Thr Ile Glu Lys Val Ser Cys Glu Met Arg
 245 250 255

ES 2 613 236 T3

Tyr Lys Ala Thr Thr Asn Gln Thr Trp Asn Val Lys Glu Phe Asp Thr
 260 265 270
 Asn Phe Thr Tyr Val Gln Gln Ser Glu Phe Tyr Leu Glu Pro Asn Ile
 275 280 285
 Lys Tyr Val Phe Gln Val Arg Cys Gln Glu Thr Gly Lys Arg Tyr Trp
 290 295 300
 Gln Pro Trp Ser Ser Leu Phe Phe His Lys Thr Pro Glu Thr Val Pro
 305 310 315 320
 Gln Val Thr Ser Lys Ala Phe Gln His Asp Thr Trp Asn Ser Gly Leu
 325 330 335
 Thr Val Ala Ser Ile Ser Thr Gly His Leu Thr Ser Asp Asn Arg Gly
 340 345 350
 Asp Ile Gly Leu Leu Leu Gly Met Ile Val Phe Ala Val Met Leu Ser
 355 360 365
 Ile Leu Ser Leu Ile Gly Ile Phe Asn Arg Ser Phe Arg Thr Gly Ile
 370 375 380
 Lys Arg Arg Ile Leu Leu Leu Ile Pro Lys Trp Leu Tyr Glu Asp Ile
 385 390 395 400
 Pro Asn Met Lys Asn Ser Asn Val Val Lys Met Leu Gln Glu Asn Ser
 405 410 415
 Glu Leu Met Asn Asn Asn Ser Ser Glu Gln Val Leu Tyr Val Asp Pro
 420 425 430
 Met Ile Thr Glu Ile Lys Glu Ile Phe Ile Pro Glu His Lys Pro Thr
 435 440 445
 Asp Tyr Lys Lys Glu Asn Thr Gly Pro Leu Glu Thr Arg Asp Tyr Pro
 450 455 460
 Gln Asn Ser Leu Phe Asp Asn Thr Thr Val Val Tyr Ile Pro Asp Leu
 465 470 475 480
 Asn Thr Gly Tyr Lys Pro Gln Ile Ser Asn Phe Leu Pro Glu Gly Ser
 485 490 495
 His Leu Ser Asn Asn Asn Glu Ile Thr Ser Leu Thr Leu Lys Pro Pro
 500 505 510
 Val Asp Ser Leu Asp Ser Gly Asn Asn Pro Arg Leu Gln Lys His Pro

ES 2 613 236 T3

| | | |
|--|-----|---------|
| 515 | 520 | 525 |
| Asn Phe Ala Phe Ser Val Ser Ser Val Asn Ser Leu Ser Asn Thr Ile 530 | 535 | 540 |
| Phe Leu Gly Glu Leu Ser Leu Ile Leu Asn Gln Gly Glu Cys Ser Ser 545 | 550 | 555 560 |
| Pro Asp Ile Gln Asn Ser Val Glu Glu Glu Thr Thr Met Leu Leu Glu 565 | 570 | 575 |
| Asn Asp Ser Pro Ser Glu Thr Ile Pro Glu Gln Thr Leu Leu Pro Asp 580 | 585 | 590 |
| Glu Phe Val Ser Cys Leu Gly Ile Val Asn Glu Glu Leu Pro Ser Ile 595 | 600 | 605 |
| Asn Thr Tyr Phe Pro Gln Asn Ile Leu Glu Ser His Phe Asn Arg Ile 610 | 615 | 620 |
| Ser Leu Leu Glu Lys 625 | | |

<210> 150

<211> 2100

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 150

ES 2 613 236 T3

| | |
|---|-----|
| ggtggctgaa cctcgcaggt ggcagagagg ctcccctggg gctgtggggc tctacgtgga | 60 |
| tccgatggag ccgctggtga cctgggtggt cccctcctc ttctcttcc tgctgtccag | 120 |
| gcagggcgct gcctgcagaa ccagtgagtg ctgttttcag gaccgcctat atccggatgc | 180 |
| agactcaggc tcggcctcgg gccctagggg cctgagatgc tatcggatat ccagtgatcg | 240 |
| ttacgagtgc tcctggcagt atgaggggcc cacagctggg gtcagccact tcctgcggtg | 300 |
| ttgccttagc tccgggcgct gctgctactt cgccgcggc tcagccacca ggctgcagtt | 360 |
| ctccgaccag gctgggggtg ctgtgctgta cactgtcaca ctctgggtgg aatcctgggc | 420 |
| caggaaccag acagagaagt ctctgaggt gaccctgcag ctctacaact cagttaaata | 480 |
| tgagcctcct ctgggagaca tcaaggtgtc caagttggcc gggcagctgc gtatggagtg | 540 |
| ggagaccccg gataaccagg ttggtgctga ggtgcagttc cggcaccgga caccagcag | 600 |
| cccatggaag ttgggcgact gcggacctca ggatgatgat actgagtcct gcctctgcc | 660 |
| cctggagatg aatgtggccc aggaattcca gctccgacga cggcagctgg ggagccaagg | 720 |
| aagttcctgg agcaagtga gcagccccgt gtgcggtccc cctgaaaacc cccacagcc | 780 |
| tcaggtgaga ttctcgggtg agcagctggg ccaggatggg aggaggcggc tgaccctgaa | 840 |

ES 2 613 236 T3

agagcagcca acccagctgg agcttccaga aggctgtcaa gggctggcgc ctggcacgga 900
 ggtcacttac cgactacagc tccacatgct gtcctgcccg tgtaaggcca aggccaccag 960
 gaccctgcac ctggggaaga tgcctatct ctcggtgct gcctacaacg tggctgtcat 1020
 ctctcgaac caatttggtc ctggcctgaa ccagacgtgg cacattcctg ccgacacca 1080
 cacagaacca gtggctctga atatcagcgt cggaaccaac gggaccacca tgtattggcc 1140
 agcccgggct cagagcatga cgtattgcat tgaatggcag cctgtgggcc aggacggggg 1200
 ccttgccacc tgcagcctga ctgcgccga agaccggat ccggctggaa tggcaacct 1260
 cagctggagt cgagagtctg gggcaatggg gcaggaaaag tgttactaca ttaccatctt 1320
 tgcctctgcg caccocgaga agctcacctt gtggtctacg gtcctgtcca cctaccactt 1380
 tgggggcaat gcctcagcag ctgggacacc gcaccacgtc tcggtgaaga atcatagctt 1440
 ggactctgtg tctgtggact gggcaccatc cctgctgagc acctgtcccg gcgtcctaaa 1500
 ggagtatgtt gtccgctgcc gagatgaaga cagcaaacag gtgtcagagc atcccgtgca 1560
 gccacagag acccaagtta ccctcagtgg cctgcgggct ggtgtagcct acacggtgca 1620
 ggtgcgagca gacacagcgt ggctgagggg tgtctggagc cagccccagc gcttcagcat 1680
 cgaagtgcag gtttctgatt ggctcatctt cttgcctcc ctggggagct tcctgagcat 1740
 ctttctctg gggctccttg gctaccttg cctgaacagg gccgcacggc acctgtgccc 1800
 gccgctgccc acaccctgtg ccagctccgc cattgagttc cctggagggg aggagacttg 1860
 gcagtggatc aaccagtggt acttccagga agaggcatcc ctgcaggagg ccctggtggt 1920
 agagatgtcc tgggacaaag gcgagaggac tgagcctctc gagaagacag agctacctga 1980
 gggtgcccct gagctggccc tggatacaga gttgtccttg gaggatggag acaggtgcaa 2040
 ggccaagatg tgatcgttga ggctcagaga gggtagtga ctgcccagag gctacgtagc 2100

<210> 151

<211> 662

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 151

ES 2 613 236 T3

Gln Tyr Glu Gly Pro Thr Ala Gly Val Ser His Phe Leu Arg Cys Cys
65 70 75 80

Leu Ser Ser Gly Arg Cys Cys Tyr Phe Ala Ala Gly Ser Ala Thr Arg
85 90 95

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

Leu Trp Val Glu Ser Trp Ala Arg Asn Gln Thr Glu Lys Ser Pro Glu
115 120 125

Val Thr Leu Gln Leu Tyr Asn Ser Val Lys Tyr Glu Pro Pro Leu Gly
130 135 140

Asp Ile Lys Val Ser Lys Leu Ala Gly Gln Leu Arg Met Glu Trp Glu
145 150 155 160

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

Pro Ser Ser Pro Trp Lys Leu Gly Asp Cys Gly Pro Gln Asp Asp Asp
180 185 190

Thr Glu Ser Cys Leu Cys Pro Leu Glu Met Asn Val Ala Gln Glu Phe
195 200 205

Gln Leu Arg Arg Arg Gln Leu Gly Ser Gln Gly Ser Ser Trp Ser Lys
210 215 220

Trp Ser Ser Pro Val Cys Val Pro Pro Glu Asn Pro Pro Gln Pro Gln
225 230 235 240

Val Arg Phe Ser Val Glu Gln Leu Gly Gln Asp Gly Arg Arg Arg Leu
245 250 255

Thr Leu Lys Glu Gln Pro Thr Gln Leu Glu Leu Pro Glu Gly Cys Gln
260 265 270

Gly Leu Ala Pro Gly Thr Glu Val Thr Tyr Arg Leu Gln Leu His Met
275 280 285

Leu Ser Cys Pro Cys Lys Ala Lys Ala Thr Arg Thr Leu His Leu Gly
290 295 300

Lys Met Pro Tyr Leu Ser Gly Ala Ala Tyr Asn Val Ala Val Ile Ser
305 310 315 320

ES 2 613 236 T3

Ser Asn Gln Phe Gly Pro Gly Leu Asn Gln Thr Trp His Ile Pro Ala
 325 330 335

Asp Thr His Thr Glu Pro Val Ala Leu Asn Ile Ser Val Gly Thr Asn
 340 345 350

Gly Thr Thr Met Tyr Trp Pro Ala Arg Ala Gln Ser Met Thr Tyr Cys
 355 360 365

Ile Glu Trp Gln Pro Val Gly Gln Asp Gly Gly Leu Ala Thr Cys Ser
 370 375 380

Leu Thr Ala Pro Gln Asp Pro Asp Pro Ala Gly Met Ala Thr Tyr Ser
 385 390 395 400

Trp Ser Arg Glu Ser Gly Ala Met Gly Gln Glu Lys Cys Tyr Tyr Ile
 405 410 415

Thr Ile Phe Ala Ser Ala His Pro Glu Lys Leu Thr Leu Trp Ser Thr
 420 425 430

Val Leu Ser Thr Tyr His Phe Gly Gly Asn Ala Ser Ala Ala Gly Thr
 435 440 445

Pro His His Val Ser Val Lys Asn His Ser Leu Asp Ser Val Ser Val
 450 455 460

Asp Trp Ala Pro Ser Leu Leu Ser Thr Cys Pro Gly Val Leu Lys Glu
 465 470 475 480

Tyr Val Val Arg Cys Arg Asp Glu Asp Ser Lys Gln Val Ser Glu His
 485 490 495

Pro Val Gln Pro Thr Glu Thr Gln Val Thr Leu Ser Gly Leu Arg Ala
 500 505 510

Gly Val Ala Tyr Thr Val Gln Val Arg Ala Asp Thr Ala Trp Leu Arg
 515 520 525

Gly Val Trp Ser Gln Pro Gln Arg Phe Ser Ile Glu Val Gln Val Ser
 530 535 540

Asp Trp Leu Ile Phe Phe Ala Ser Leu Gly Ser Phe Leu Ser Ile Leu
 545 550 555 560

Leu Val Gly Val Leu Gly Tyr Leu Gly Leu Asn Arg Ala Ala Arg His
 565 570 575

Leu Cys Pro Pro Leu Pro Thr Pro Cys Ala Ser Ser Ala Ile Glu Phe

ES 2 613 236 T3

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| | 580 | | 585 | | 590 | | | | | | | | | | | |
| Pro | Gly | Gly | Lys | Glu | Thr | Trp | Gln | Trp | Ile | Asn | Pro | Val | Asp | Phe | Gln | |
| | | 595 | | | | | 600 | | | | | 605 | | | | |
| Glu | Glu | Ala | Ser | Leu | Gln | Glu | Ala | Leu | Val | Val | Glu | Met | Ser | Trp | Asp | |
| | 610 | | | | | 615 | | | | | 620 | | | | | |
| Lys | Gly | Glu | Arg | Thr | Glu | Pro | Leu | Glu | Lys | Thr | Glu | Leu | Pro | Glu | Gly | |
| 625 | | | | | 630 | | | | | 635 | | | | | 640 | |
| Ala | Pro | Glu | Leu | Ala | Leu | Asp | Thr | Glu | Leu | Ser | Leu | Glu | Asp | Gly | Asp | |
| | | | | 645 | | | | | 650 | | | | | 655 | | |
| Arg | Cys | Lys | Ala | Lys | Met | | | | | | | | | | | |
| | | | 660 | | | | | | | | | | | | | |

<210> 152

<211> 360

<212> ADN

5 <213> Homo sapiens

<400> 152

| | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| caggtgcagc | tcagaggatc | gggccagga | ctggtgaagc | cttcacagac | cctgtccctc | 60 |
| acctgcactg | tctctggtgg | ctccatcagc | agtgggtggt | actactggag | ctggatccgc | 120 |
| cagcaccag | ggaagggcct | ggagtggatt | gggcacatcc | attacagtgg | gaacacctac | 180 |
| tacaaccgt | ccctcaagag | tcgagttacc | atatcagtag | acacgtctaa | gaatcagttc | 240 |
| tcctgaaac | tgagctctgt | gactgccgcg | gacacggccg | tgtattactg | tcgcggaat | 300 |
| cgcggttct | actacggtat | ggacgtctgg | ggccaaggga | ccacggtcac | cgtctcctca | 360 |

<210> 153

10 <211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

ES 2 613 236 T3

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Ile Gly His Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Asn Arg Gly Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 154

<211> 23

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Señal melittin de la abeja

<400> 154

Met Lys Phe Leu Val Asn Val Ala Leu Val Phe Met Val Val Tyr Ile
 1 5 10 15

Ser Tyr Ile Tyr Ala Ala Ala
 20

10

<210> 155

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Etiqueta His

<400> 155

His His His His His His
1 5

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de unión al antígeno que se une a la IL-23 humana, en donde dicha proteína de unión al antígeno comprende:

(i)

5 (a) una región variable de cadena pesada que comprende

una CDRH1 que tiene SEQ ID NO: 91,

una CDRH2 que tiene SEQ ID NO: 92 y

una CDRH3 que tiene SEQ ID NO: 93,

y una región variable de cadena ligera que comprende

10 una CDRL1 que tiene SEQ ID NO: 62,

una CDRL2 que tiene SEQ ID NO: 63 y

una CDRL3 que tiene SEQ ID NO: 64;

o

(b) una región variable de cadena pesada que comprende

15 una CDRH1 que tiene SEQ ID NO: 109,

una CDRH2 que tiene SEQ ID NO: 116 y

una CDRH3 que tiene SEQ ID NO: 111,

y una región variable de cadena ligera que comprende

una CDRL1 que tiene SEQ ID NO: 80,

20 una CDRL2 que tiene SEQ ID NO: 81 y

una CDRL3 que tiene la SEQ ID NO: 76;

y en donde dicha proteína de unión al antígeno de acuerdo con (a) o (b) se une a la IL-23 humana con un K_D de $\leq 5 \times 10^{-12}$ M;

o

25 (ii) una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 31 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 1; o una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 46 o 153 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 15;

30 en donde dicha proteína de unión al antígeno es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo recombinante, un anticuerpo humano, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo multiespecífico o un fragmento del anticuerpo del mismo.

2. Una proteína de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 1 parte (i)(a), en donde dicha proteína de unión al antígeno se une a IL-23 humana con un K_D de $\leq 5 \times 10^{-13}$ M.

3. Una proteína de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 1, parte (i)(b), en donde dicha proteína de unión al antígeno tiene una velocidad de K_{off} de $\leq 5 \times 10^{-6}$ 1/s.

35 4. Una proteína de unión al antígeno de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha proteína de unión al antígeno es un anticuerpo, opcionalmente un anticuerpo del tipo IgG1-, IgG2-IgG3 o IgG4.

5. Una proteína de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde

- (i) dicho fragmento del anticuerpo es un fragmento Fab, un fragmento Fab', un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, un díacuerpo o una molécula del anticuerpo de cadena única;
- (ii) dicha proteína de unión al antígenos es un anticuerpo humano; o
- (iii) dicha proteína de unión al antígeno es un anticuerpo monoclonal.
- 5 6. Una molécula de ácido nucleico, en donde dicha molécula de ácido nucleico codifica una proteína de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, estando dicha molécula de ácido nucleico opcionalmente unida operativamente a una secuencia de control.
- 10 7. Una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la molécula de ácido nucleico comprende la SEQ ID NO: 32 del ácido nucleico de la región variable de la cadena pesada y la SEQ ID NO: 2 del ácido nucleico de la región variable de cadena ligera.
8. Una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la molécula de ácido nucleico comprende la SEQ ID NO: 47 del ácido nucleico de la región variable de la cadena pesada y la SEQ ID NO: 16 del ácido nucleico de la región variable de cadena ligera.
- 15 9. Un vector que comprende una molécula de ácido nucleico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6-8.
10. Una célula huésped que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6-8 o el vector de la reivindicación 9.
- 20 11. Un método para fabricar la proteína de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende la etapa de preparar dicha proteína de unión al antígeno desde una célula huésped que secreta dicha proteína de unión al antígeno.
12. Una proteína de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha proteína de unión al antígeno tiene al menos una propiedad seleccionada del grupo que consiste en:
- a) reducir la actividad de la IL-23 humana en un ensayo STAT-luciferasa;
- b) reducir la producción de una citoquina proinflamatoria;
- 25 c) tener una velocidad de K_{off} de $\leq 5 \times 10^{-6}$ 1/s; y
- d) tener una IC_{50} de ≤ 400 pM.
13. Una composición farmacéutica que comprende al menos una proteína de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
14. Una composición farmacéutica de la reivindicación 13, en donde dicha composición farmacéutica
- 30 (i) comprende además un grupo marcador o un grupo efector;
- (ii) comprende además un grupo marcador, en donde dicho grupo marcador se selecciona del grupo que consiste en marcadores isotópicos, marcadores magnéticos, unidades estructurales activas redox, tintes ópticos, grupos biotinilados y epítomos polipéptidos predeterminados reconocidos por un indicador secundario;
- 35 (iii) comprende además un grupo efector, en donde dicho grupo efector se selecciona del grupo que consiste en un radioisótopo, un radionúclido, una toxina, un grupo terapéutico y un grupo quimioterapéutico; o
- (iv) comprende además un grupo marcador, en donde dicha proteína de unión al antígeno se acopla a un grupo marcador.
15. Al menos una proteína de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para uso en el tratamiento o prevención una condición asociada con IL-23 en un paciente; en donde la condición se selecciona del grupo que consiste en
- 40 (i) un trastorno inflamatorio, un trastorno reumático, un trastorno autoinmune, un trastorno oncológico y un trastorno gastrointestinal; o

(ii) esclerosis múltiple, artritis reumatoide, cáncer, psoriasis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso sistémico, artritis psoriásica, miocarditis autoinmune; diabetes tipo 1 y espondilitis anquilosante.

5 16. Una proteína de unión al antígeno para uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la proteína de unión al antígeno se administra sola o como terapia de combinación.

17. Al menos una proteína de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para uso en terapia, en donde dicha proteína de unión al antígeno reduce la actividad de IL-23 en un paciente y en donde dicha actividad de IL-23 induce la producción de una citoquina proinflamatoria.

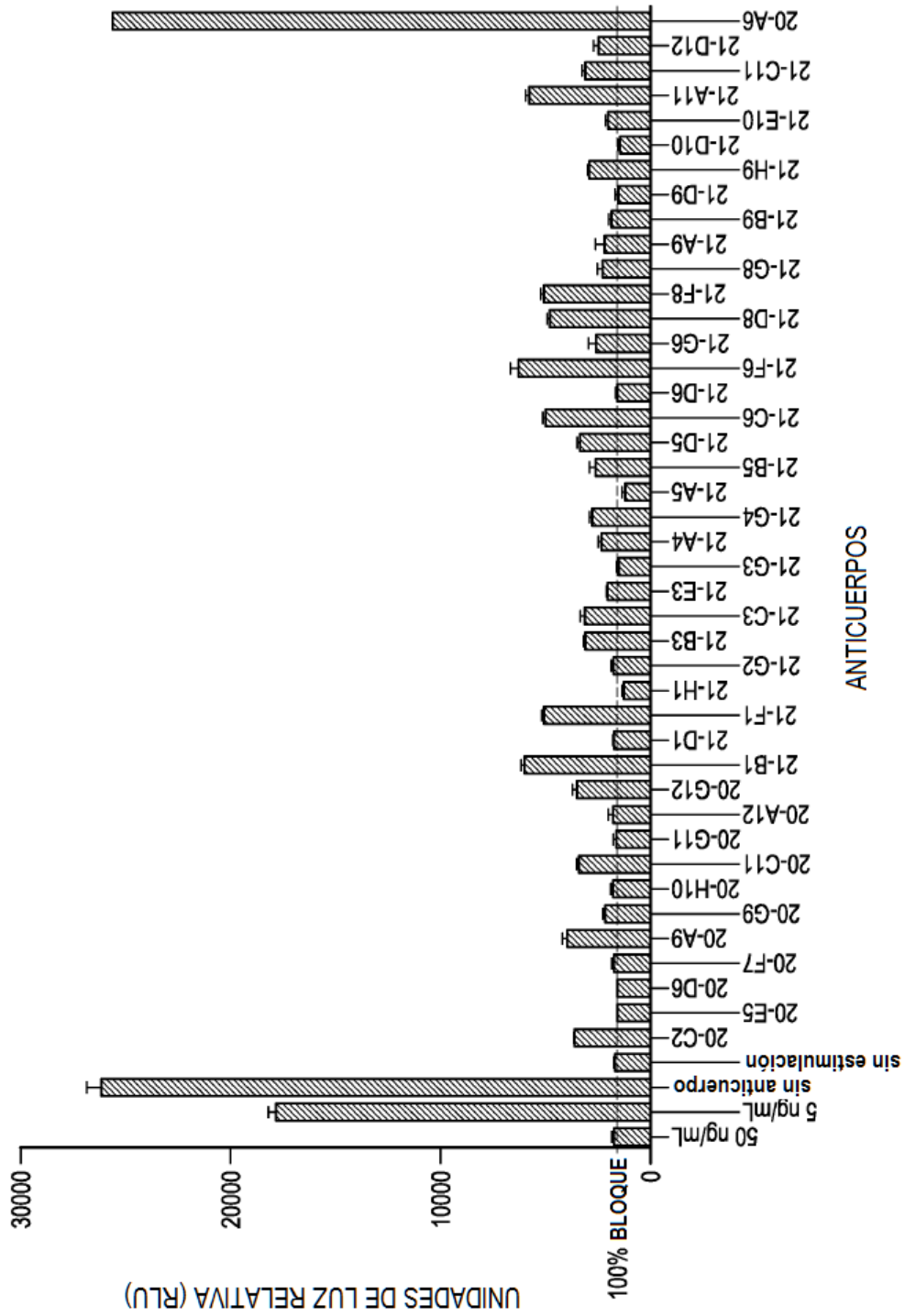


Fig. 1A

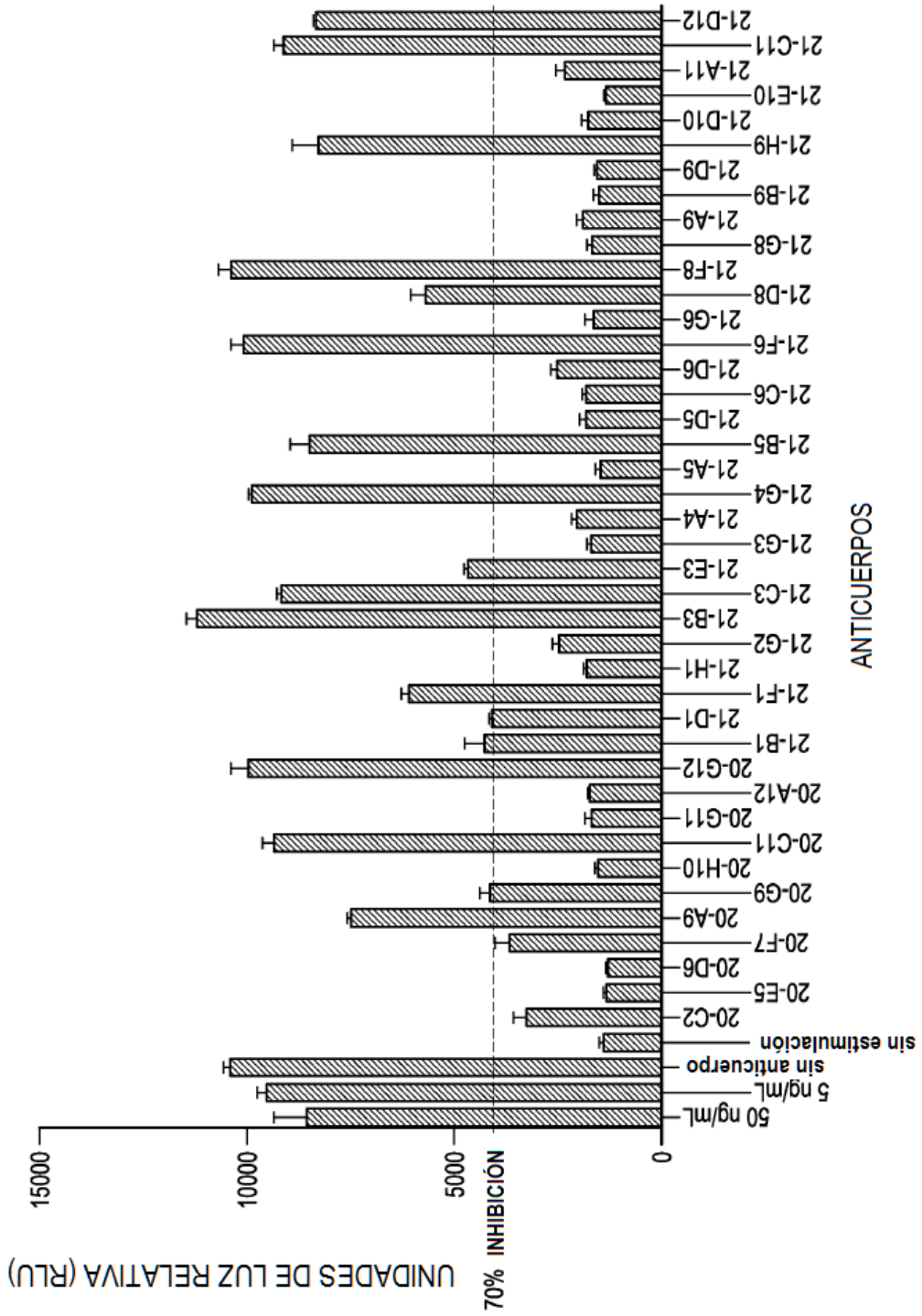


Fig. 1B