

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 614 636**

51 Int. Cl.:

C07K 16/24 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

C12N 5/20 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.06.2007 PCT/GB2007/002370**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.01.2008 WO08001063**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.06.2007 E 07733363 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016 EP 2038305**

54 Título: **Moléculas de anticuerpos que se unen a IL-17 humana**

30 Prioridad:

29.06.2006 GB 0612928

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

01.06.2017

73 Titular/es:

**UCB BIOPHARMA SPRL (100.0%)
Allée de la Recherche 60
1070 Brussels , BE**

72 Inventor/es:

**RAPECKI, STEPHEN EDWARD;
POPPLEWELL, ANDREW GEORGE y
ADAMS, RALPH**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 614 636 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

Moléculas de anticuerpos que se unen a IL-17 humana

La presente invención se refiere a moléculas de anticuerpo que tienen especificidad para determinantes antigénicos de IL-17. La presente invención se refiere también a los usos terapéuticos de las moléculas de anticuerpos y métodos para la producción de dichas moléculas de anticuerpo.

La interleucina 17 (IL-17), también conocida como CTLA-8 o IL-17A, es una citoquina pro-inflamatoria que estimula la secreción de una amplia gama de otras citoquinas a partir de diversas células no inmunes. La IL-17 es capaz de inducir la secreción de IL-6, IL-8, PGE2, MCP-1 y G-CSF por células adherentes como fibroblastos, queratinocitos, células epiteliales y endoteliales y también es capaz de inducir la expresión en superficie de ICAM-1, la proliferación de células T, y el crecimiento y la diferenciación de células CD34+ progenitoras humanas en neutrófilos cuando se cocultivan en presencia de fibroblastos irradiados (Fossiez et al, 1998, *Int. Rev. Immunol.* 16, 541-551). La IL-17 es producida predominantemente por células T de memoria activadas y actúa mediante la unión a un receptor de superficie celular ubicuamente distribuido (IL-17R) (Yao et al, 1997, *Cytokine*, 9, 794-800). También puede actuar mediante la unión a un complejo de IL-17RA y IL-17RC (Toy et al, 2006, *J. Immunol.* 177(11); 36-39). Una serie de homólogos de IL-17 se han identificado que tienen ambas funciones similares y distintas en la regulación de las respuestas inflamatorias. Para una revisión de familias de citoquinas/receptores de IL-17, véase Dumont, 2003, *Expert Opin. Ther. Patentes*, 13, 287-303.

IL-17 puede contribuir a una serie de enfermedades mediadas por respuestas inmunes anormales, tales como la artritis reumatoide y la inflamación de las vías respiratorias, así como el rechazo de trasplantes de órganos y la inmunidad antitumoral. Los inhibidores de la actividad de IL-17 son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, una proteína de fusión IL-17R murino:Fc humano, un IL-17R murino soluble y un anticuerpo monoclonal anti-IL-17 se han utilizado para demostrar el papel de la IL-17 en varios modelos de artritis reumatoide (Lubberts et al, *J. Immunol.* 2001, 167, 1004-1013; Chabaud et al, *Arthritis Res.* 2001, 3, 168-177). Además, se han utilizado anticuerpos neutralizantes policlonales para reducir la formación de adherencias peritoneales (Chung et al., 2002, *J. Exp. Med.*, 195, 1471-1478). Anticuerpos anti-IL-17 humanos derivados de rata se describen en el documento WO04/106377. Un anticuerpo anti-IL-17 humanizado con una afinidad de alrededor de 220 pM se describe en el documento WO2006/054059. Un anticuerpo totalmente humano monoclonal anti-IL-17 con una afinidad de alrededor de 188 pM se describe en el documento WO2006/013107.

Todavía queda una necesidad en la técnica para un anticuerpo anti-IL-17 mejorado adecuado para el tratamiento de pacientes.

Ahora los inventores han identificado un anticuerpo anti-IL-17 neutralizante de alta afinidad adecuado para su uso en el tratamiento o la profilaxis de trastornos patológicos mediados por IL-17 o asociados con un mayor nivel de IL-17.

Por lo tanto, la presente descripción proporciona un anticuerpo neutralizante que se une a IL-17 humano que comprende una cadena pesada, en donde el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia dada en SEQ ID NO:1 para CDR-H1, una CDR que tiene la secuencia dada en SEQ ID NO:2 para CDR-H2 y una CDR que tiene la secuencia dada en SEQ ID NO:3 para CDR-H3, y en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en SEQ ID NO:4 para CDRL1, una CDR que tiene la secuencia dada en SEQ ID NO:5 para CDR-L2 y una CDR que tiene la secuencia dada en SEQ ID NO:6 para CDR-L3.

Los residuos en los dominios variables de anticuerpos se numeran convencionalmente de acuerdo con un sistema ideado por Kabat et al. Este sistema se expone en Kabat et al., 1987, en *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos, NIH, EE.UU. (en adelante "Kabat et al. (Supra)"). Este sistema de numeración se usa en la presente memoria salvo que se indique lo contrario.

Las designaciones de los restos de Kabat no siempre se corresponden directamente con la numeración lineal de los residuos de aminoácidos. La secuencia de aminoácidos lineal real puede contener menos aminoácidos o aminoácidos adicionales que en la numeración estricta de Kabat que corresponde a un acortamiento, o inserción, de un componente estructural, ya sea marco o región determinante de complementariedad (CDR), de la estructura del dominio variable básico. La numeración correcta de Kabat de los residuos se puede determinar para un anticuerpo dado por alineamiento de los residuos de homología en la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada "estándar" de Kabat.

Las CDR del dominio variable de cadena pesada están localizadas en los residuos 31-35 (CDR-H1), residuos 50-65 (CDR-H2) y residuos 95-102 (CDR-H3) de acuerdo con el sistema de numeración de Kabat. Sin embargo, de acuerdo con Chothia (Chothia, C. y Lesk, A.M. *J. Mol. Biol.*, 196, 901-917 (1987)), el equivalente del bucle para CDR-H1 se extiende desde el residuo 26 al residuo 32. Así, "CDR-H1", como se usa en el presente documento, comprende los residuos 26 a 35, como se describe por una combinación del sistema de numeración de Kabat y la definición de bucle topológica de Chothia.

Las CDR del dominio variable de cadena ligera están localizadas en los residuos 24-34 (CDR-L1), residuos 50-56 (CDR-L2) y residuos 89-97 (CDR-L3) de acuerdo con el sistema de numeración de Kabat.

Tal como se utiliza en este documento, la expresión "anticuerpo neutralizante" describe un anticuerpo que es capaz de neutralizar la actividad de señalización biológica de IL-17, por ejemplo mediante el bloqueo de la unión de IL-17 a uno o más de sus receptores.

5 Los anticuerpos para uso en la presente invención pueden obtenerse usando cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica. El polipéptido de IL-17 o células que expresan el polipéptido se pueden utilizar para producir anticuerpos que reconocen específicamente IL-17. El polipéptido de IL-17 puede ser el polipéptido "maduro" o un fragmento biológicamente activo o sus derivados. Preferiblemente, el polipéptido de IL-17 es el polipéptido humano maduro. Los polipéptidos IL-17 se pueden preparar por procedimientos bien conocidos en la técnica a partir de células huésped manipuladas genéticamente que comprenden sistemas de expresión o pueden ser recuperados a partir de fuentes biológicas naturales. En la presente solicitud, el término "polipéptidos" incluyen péptidos, polipéptidos y proteínas. Estos se utilizan indistintamente a menos que se especifique lo contrario. El polipéptido de IL-17 puede, en algunos casos, ser parte de una proteína más grande tal como una proteína de fusión, por ejemplo, fusionada a un marcador de afinidad. Los anticuerpos generados contra el polipéptido IL-17 pueden obtenerse, cuando es necesaria la inmunización de un animal, mediante la administración de los polipéptidos a un animal, preferiblemente un animal no humano, utilizando protocolos bien conocidos y rutinarios; véase, por ejemplo, Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir (ed.), Vol 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, Inglaterra, 1986). Muchos animales de sangre caliente, tales como conejos, ratones, ratas, ovejas, vacas o cerdos pueden ser inmunizados. Sin embargo, se prefieren generalmente los ratones, conejos, cerdos y ratas.

20 Los anticuerpos para uso en la presente invención incluyen anticuerpos completos y fragmentos funcionalmente activos o derivados de los mismos y pueden ser, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales, humanizados, completamente humanos o quiméricos.

25 Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica tal como la técnica del hibridoma (Kohler y Milstein, 1975, Nature, 256: 495-497), la técnica del trioma, la técnica del hibridoma de células B humanas (Kozbor et al, 1983, Immunology Today, 4:72) y la técnica del hibridoma de EBV (Cole et al, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, pp 77-96, Alan R Liss, Inc., 1985).

30 Los anticuerpos para uso en la invención también pueden generarse usando métodos de anticuerpos de linfocitos individuales por clonación y expresión de inmunoglobulina ADNc de la región variable generados a partir de linfocitos individuales seleccionados para la producción de anticuerpos específicos por ejemplo por los métodos descritos por Babcook, J. et al, 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 93 (15): 7.843 a 78.481; WO92/02551; WO2004/051268 y la Patente Internacional Número de solicitud WO2004/106377.

35 Los anticuerpos humanizados (que incluyen anticuerpos injertados con CDR) son moléculas de anticuerpo que tienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de una especie no humana y una región marco de una molécula de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo Estados Unidos 5.585.089; El documento WO91/09967). Se apreciará que puede que sólo sea necesario transferir la especificidad determinar los residuos de las CDR en lugar de toda la CDR (véase, por ejemplo, Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25-34). Los anticuerpos humanizados pueden comprender además opcionalmente uno o más restos de marco derivadas de las especies no humanas a partir de los cuales se derivaron las CDR.

40 Los anticuerpos quiméricos son aquellos anticuerpos codificados por genes de inmunoglobulina que se han modificado genéticamente de forma que los genes de cadena ligera y pesada están compuestos de segmentos de genes de inmunoglobulina que pertenecen a diferentes especies.

45 Los anticuerpos para su uso en la presente invención también pueden generarse usando diversos métodos de presentación de fagos conocidos en la técnica e incluyen los descritos por Brinkman et al. (en J. Immunol. Methods, 1995, 182: 41-50), Ames et al. (J. Immunol. Methods, 1995, 184: 177-186), Kettleborough et al. (EUR. J. Immunol. 1994, 24: 952-958), Persic et al. (Gene, 1997 187 9-18), Burton et al. (Advances in Immunology, 1994, 57: 191-280) y los documentos WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401; y patentes de EE.UU. 5.698.426; 5.223.409; 5.403.484; 5.580.717; 5.427.908; 5.750.753; 5.821.047; 5.571.698; 5.427.908; 5.516.637; 5.780.225; 5.658.727; 5.733.743 y 5.969.108.

50 Anticuerpos completamente humanos son aquellos anticuerpos en los que las regiones variables y las regiones constantes (si están presentes) de tanto las cadenas pesadas como las cadenas ligeras son todas de origen humano, o substancialmente idénticas a secuencias de origen humano, no necesariamente del mismo anticuerpo. Ejemplos de anticuerpos completamente humanos pueden incluir anticuerpos producidos, por ejemplo, por los métodos de presentación en fagos descritos anteriormente y los anticuerpos producidos por ratones en los cuales los genes de la región variable de inmunoglobulina murina y constante han sido reemplazados por sus contrapartes humanas, por ejemplo, como se describe en términos generales en los documentos EP0546073 B1, US 5.545.806, US 5.569.825, US 5.625.126, US 5.633.425, US 5.661.016, US5,770,429, EP 0438474 B1 y EP0463151 B1.

55 En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo neutralizante con especificidad para IL-17 humana, que comprende una cadena pesada, en el que el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia dada en SEQ ID NO: 1 para CDR-H1, la secuencia dada en SEQ ID NO: 2 para CDR-H2 y la secuencia

dada en SEQ ID NO: 3 para CDR H3 y una cadena ligera en el que el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en SEQ ID NO:4 para CDR-L1, la secuencia dada en SEQ ID NO:5 para CDR-L2 y la secuencia dada en SEQ ID NO:6 para CDR-L3.

5 "Identidad", como se usa en el presente documento, indica que en cualquier posición particular en las secuencias alineadas, el residuo de aminoácido es idéntico entre las secuencias. "Similitud", como se usa en el presente documento, indica que, en cualquier posición particular en las secuencias alineadas, el residuo de aminoácido es de un tipo similar entre las secuencias. Por ejemplo, la leucina puede ser sustituida por isoleucina o valina. Otros aminoácidos que a menudo pueden ser sustituidos unos por los otros incluyen, pero no se limitan a:

- fenilalanina, tirosina y triptófano (aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas);

10 - lisina, arginina e histidina (aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas);

- aspartato y glutamato (aminoácidos que tienen cadenas laterales ácidas);

- asparagina y glutamina (aminoácidos con cadenas laterales de amida); y

15 - cisteína y metionina (aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre). Los grados de identidad y similitud pueden calcularse fácilmente (Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed, Oxford University Press, Nueva York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A.M., and Griffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991, el software BLAST(TM) disponible de NCBI (Altschul, SF et al, 1990, J. Mol. Biol. 215: 403-410; Gish, W. y States, DJ. 1993, Nature Genet. 3: 266-272. Madden, T.L. et al, 1996, Meth. Enzymol. 266: 131-141; Altschul, S. F. et al, 1997, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402; Zhang, J. & Madden, T.L. 1997, Genome Res. 7: 649-656).

En una realización, el anticuerpo proporcionado por la presente invención es un anticuerpo monoclonal.

En una realización, el anticuerpo proporcionado por la presente invención es un anticuerpo quimérico.

25 En una realización, el anticuerpo proporcionado por la presente invención es una molécula de anticuerpo injertada con CDR que comprende todas de las CDR proporcionadas en SEQ ID NOS: 1 a 6 (Figura 1 (c)). Tal como se utiliza en este documento, la expresión "molécula de anticuerpo injertada con CDR" se refiere a una molécula de anticuerpo en la que la cadena pesada y/o ligera contiene una o más CDR (incluyendo, si se desea, una o más CDR modificadas) de un anticuerpo donante (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal murino) injertado en un marco de la región variable de la cadena pesada y/o ligera de un anticuerpo aceptor (por ejemplo, un anticuerpo humano). Para
30 una revisión, véase Vaughan et al, Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998.

En otra realización sólo los residuos determinantes de especificidad de cada una de las CDR descritas anteriormente en este documento se transfieren a la estructura del anticuerpo humano.

35 Cuando se injertan las CDR o los residuos determinante de especificidad, cualquier secuencia marco de la región variable aceptora adecuada puede usarse teniendo en cuenta la clase/tipo del anticuerpo donante del que se derivan las CDR, incluyendo regiones marco de ratón, primates y humanos. Preferiblemente, el anticuerpo injertado con CDR de acuerdo con la presente invención tiene un dominio variable que comprende las regiones marco del aceptor humano así como todas de las CDR o los residuos determinantes de especificidad como se definen en las reivindicaciones. Por lo tanto, se proporciona en una realización un anticuerpo neutralizante injertado con CDR en el que el dominio variable comprende regiones marco aceptoras humanas y CDRs de donantes no humanos.

40 Ejemplos de marcos humanos que pueden ser utilizados en la presente invención son KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY y POM (Kabat et al, supra). Por ejemplo, KOL y NEWM se pueden utilizar para la cadena pesada, REI se puede utilizar para la cadena ligera y EU, LAY y POM se pueden usar tanto para la cadena pesada como para la cadena ligera. Alternativamente, se pueden utilizar secuencias de la línea germinal humana; estas están disponibles en: <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>

45 En un anticuerpo injertado con CDR de la presente invención, las cadenas pesada y ligera del aceptor necesariamente no tienen que ser derivadas del mismo anticuerpo y, si se desea, pueden comprender cadenas compuestas que tienen regiones estructurales derivadas de diferentes cadenas.

50 La región marco preferida para la cadena pesada del anticuerpo injertado con CDR de la presente invención se deriva de la secuencia VH3 del sub-grupo humano 1-U 3-15 junto con JH4. En consecuencia, se proporciona un anticuerpo injertado a CDR neutralizante que comprende al menos un CDR de donante no humano en el que la región marco de la cadena pesada se deriva de la secuencia del subgrupo humano 1-U 3-15 junto con JH4. La secuencia de JH4 humana es la siguiente: (YFDY)WGQGTLVTVSS. El motivo YFDY es parte de CDR-H3 y no es parte del marco 4 (Ravetch, JV et al., 1981, Cell, 27, 583-591).

- La región marco preferida para la cadena ligera del anticuerpo injertado con CDR de la presente invención se deriva de la secuencia del sub-grupo VK1 del línea germinal humana 2-1-(1) L4 junto con JK1. En consecuencia, se proporciona un anticuerpo injertado a CDR neutralizante que comprende al menos una CDR donante no humana en la que la región marco de la cadena ligera se deriva de la secuencia del subgrupo humano VK1 2-I- (I) L4 junto con JK1. La secuencia JK1 es la siguiente: (WT)FGQGTKVEIK. El motivo WT es parte de CDR-L3 y no es parte del marco 4 (Hieter, PA., et al, 1982, J. Biol. Chem., 257, 1516-1522).
- También, en un anticuerpo injertado con CDR de la presente invención, las regiones marco no tienen que tener exactamente la misma secuencia que las del anticuerpo aceptor. Por ejemplo, los residuos inusuales pueden ser cambiados a residuos de mayor frecuencia de aparición para tal clase de cadena aceptora o tipo. Alternativamente, los residuos seleccionados en las regiones marco del aceptor se pueden cambiar de manera que correspondan al residuo encontrado en la misma posición en el anticuerpo donante (véase Reichmann et al, 1998, Nature, 332, 323-324). Tales cambios deben mantenerse al mínimo necesario para recuperar la afinidad del anticuerpo donante. Un protocolo para seleccionar residuos en las regiones marco del aceptor que puede ser necesario cambiar se expone en el documento WO 91/09967.
- Preferiblemente, en una molécula de anticuerpo injertada con CDR de la presente invención, si la cadena pesada del aceptor tiene la secuencia VH3 humana 1-U 3-15 junto con JH4, entonces las regiones marco del aceptor de la cadena pesada comprenden, además de uno o más CDR del donante, un residuo donante en al menos la posición 49 (de acuerdo con Kabat et al., (supra)). En consecuencia, se proporciona un anticuerpo injertado a CDR, en donde al menos el residuo en la posición 49 del dominio variable de la cadena pesada es un residuo donante.
- Preferiblemente, en una molécula de anticuerpo injertada con CDR según la presente invención, si la cadena ligera del aceptor tiene la secuencia del sub-grupo VK1 humano 2-I-(I) L4 junto con JKL, entonces no hay restos del donante que se transfieran, es decir, sólo las CDR son transferidas. En consecuencia, se proporciona un anticuerpo injertado con CDR en el que únicamente las CDRs se transfieren al marco donante.
- Los restos del donante son residuos procedentes del anticuerpo donante, es decir, el anticuerpo del que las CDR se derivaron originalmente.
- En una realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena pesada, en el que el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia dada en la Figura 1 (b) SEQ ID NO: 9.
- Se apreciará que una o más sustituciones de aminoácidos, adiciones y/o deleciones se pueden hacer a los dominios variables de anticuerpos proporcionados por la presente invención sin alterar significativamente la capacidad del anticuerpo para unirse a IL-17 y neutralizar la actividad de IL-17. El efecto de cualesquiera sustituciones de aminoácido, adiciones y/o deleciones se puede probar fácilmente por cualquier experto en la técnica, por ejemplo, utilizando los métodos descritos en los ejemplos para determinar la unión de IL-17 y la neutralización.
- En otra realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena pesada, en el que el dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia que tiene una identidad de al menos 60% o similar a la secuencia dada en SEQ ID NO: 9. En una realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena pesada, en el que el dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia que tiene al menos 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de identidad o similitud con la secuencia dada en la SEQ ID NO: 9.
- En una realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena ligera, en el que el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en la Figura 1 (a) SEQ ID NO: 7.
- En otra realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena ligera, en el que el dominio variable de la cadena ligera comprende una secuencia que tiene una identidad de al menos 60% o similar a la secuencia dada en SEQ ID NO: 7. En una realización, el anticuerpo de la presente invención comprende una cadena ligera, en el que el dominio variable de la cadena ligera comprende una secuencia que tiene al menos 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de identidad o similitud con la secuencia dada en SEQ ID NO: 7.
- En una realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena pesada, en el que el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia dada en SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera, en el que el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en SEQ ID NO: 7.
- En otra realización de la invención, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en el que el dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia que tiene identidad de al menos 60% o similar a la secuencia dada en SEQ ID NO: 9 y el dominio variable de la cadena ligera comprende una secuencia que tiene una identidad de al menos 60% o similar con la secuencia dada en SEQ ID NO: 7. Preferiblemente, el anticuerpo comprende una cadena pesada, en el que el dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia que tiene al menos 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de identidad o similitud con la secuencia dada en SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera, en el que el dominio variable de la cadena ligera comprende una secuencia que tiene al menos 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de identidad o similitud con la secuencia dada en SEQ ID NO: 7.

Las moléculas de anticuerpo de la presente invención pueden comprender una molécula de anticuerpo completa que tienen cadenas de longitud completa pesadas y ligeras o un fragmento del mismo y pueden ser, pero no se limitan a Fab, Fab modificado, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos de dominio único, scFv, anticuerpos bi-, tri- o tetra- valentes, Bis-scFv, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos y fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los anteriores (véase, por ejemplo, Holliger y Hudson, 2005, Nature Biotech. 23(9): 1126-1136; Adair y Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2 (3), 209-217). Los métodos para crear y fabricar estos fragmentos de anticuerpos son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181). Otros fragmentos de anticuerpos para su uso en la presente invención incluyen fragmentos Fab y Fab' descritos en las solicitudes de patentes internacionales WO2005/003169, WO2005/003170 y WO2005/003171. Los anticuerpos multivalentes pueden comprender múltiples especificidades o pueden ser monoespecíficos (véase, por ejemplo, el documento WO 92/22853 y el documento WO05/113605).

Los dominios de la región constante de la molécula de anticuerpo de la presente invención, si están presentes, pueden seleccionarse teniendo en cuenta la función propuesta de la molécula de anticuerpo y, en particular, las funciones efectoras que puedan ser necesarias. Por ejemplo, los dominios de la región constante pueden ser dominios de IgA, IgD, IgE, IgG o IgM humanos. En particular, se pueden utilizar los dominios de la región constante de IgG humanos, sobre todo los isotipos IgG1 e IgG3 cuando la molécula de anticuerpo está destinada a usos terapéuticos y son requeridas funciones efectoras del anticuerpo. Alternativamente, se pueden usar los isotipos IgG2 e IgG4 cuando la molécula de anticuerpo está destinada a usos terapéuticos y no se requieren funciones efectoras de anticuerpos, por ejemplo, por el simple bloqueo de la actividad de IL-17. Se apreciará que se pueden usar también variantes de secuencias de estos dominios de la región constante. Por ejemplo, pueden ser utilizadas las moléculas de IgG4 en las que la serina en la posición 241 se ha cambiado a prolina como se describe en Angal et al., Molecular Immunology, 1993, 30 (1), 105-108. Particularmente preferido es el dominio constante de IgG4 que comprende este cambio. También se comprenderá por cualquier experto en la técnica que los anticuerpos pueden someterse a una variedad de modificaciones postraduccionales. El tipo y el alcance de estas modificaciones dependen a menudo de la línea de célula huésped utilizada para expresar el anticuerpo, así como de las condiciones de cultivo. Tales modificaciones pueden incluir variaciones en la glicosilación, oxidación de metionina, la formación de dicetopiperazina, isomerización de aspartato y desamidación de asparagina. Una modificación frecuente es la pérdida de un residuo básico del carboxi-terminal (tal como lisina o arginina), debido a la acción de las carboxipeptidasas (como se describe en Harris, RJ Journal of Chromatography 705: 129-134, 1995). En consecuencia, la lisina del C-terminal de la cadena pesada del anticuerpo dada en la Figura 1 (f), SEQ ID NO: 15 puede estar ausente.

En una realización, la cadena pesada del anticuerpo comprende un dominio de CHI y la cadena ligera del anticuerpo comprende un dominio CL, kappa o lambda.

En una realización preferida, el anticuerpo proporcionado por la presente invención es un anticuerpo neutralizante que tiene especificidad para IL-17 humana, en la que la región constante de la cadena pesada comprende la región constante de IgG4 humana, en la que la serina en la posición 241 se ha sustituido por prolina como se describe en Angal et al., supra. De acuerdo con ello, la presente invención proporciona un anticuerpo en el que la cadena pesada comprende o consiste en la secuencia dada en la Figura 1 (f), SEQ ID NO: 15.

Se apreciará que una o más sustituciones de aminoácidos, adiciones y/o deleciones se pueden hacer a los dominios variables del anticuerpo y/o constantes proporcionados por la presente invención sin alterar significativamente la capacidad del anticuerpo para unirse a IL-17 y para neutralizar la actividad de IL-17. El efecto de cualesquiera sustituciones de aminoácido, adiciones y/o deleciones se puede probar fácilmente por cualquier experto en la técnica, por ejemplo, utilizando los métodos descritos en los ejemplos para determinar la unión de IL-17 y la neutralización.

En una realización de la invención, el anticuerpo comprende una cadena pesada, donde la cadena pesada comprende una secuencia que tiene una identidad de al menos 60% o similar con la secuencia dada en SEQ ID NO: 15. Preferiblemente, el anticuerpo comprende una cadena pesada, en el que la cadena pesada comprende una secuencia que tiene al menos 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de identidad o similitud con la secuencia dada en SEQ ID NO: 15.

En una realización, una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención comprende una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la Figura 1 (d), SEQ ID NO: 11.

En una realización de la invención, el anticuerpo comprende una cadena ligera, donde la cadena ligera comprende una secuencia que tiene una identidad de al menos 60% o similar a la secuencia dada en SEQ ID NO: 11. Preferiblemente, el anticuerpo comprende una cadena ligera, donde la cadena ligera comprende una secuencia que tiene al menos 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de identidad o similitud con la secuencia dada en SEQ ID NO: 11.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo en el que la cadena pesada comprende o consiste en la secuencia dada en SEQ ID NO: 15 y la cadena ligera comprende o consiste en la secuencia dada en SEQ ID NO: 11.

En una realización de la invención, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, donde la cadena pesada comprende una secuencia que tiene una identidad de al menos 60% o similar con la secuencia dada en la SEQ ID NO: 15 y la cadena ligera comprende una secuencia que tiene una identidad de al menos 60% o similitud a la secuencia dada en SEQ ID NO: 11. Preferiblemente, el anticuerpo comprende una cadena pesada, en el que la cadena pesada comprende una secuencia que tiene al menos 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de identidad o similitud con la secuencia dada en SEQ ID NO: 15 y una cadena ligera, en el que la cadena ligera comprende una secuencia que tiene al menos 70%, 80%, 90%, 95% o 98% de identidad o similitud con la secuencia dada en SEQ ID NO: 11.

También se proporciona por la presente invención una región específica o epítipo de IL-17 humana que está unido por un anticuerpo proporcionado por la presente invención, en particular, un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada gH4 (SEQ ID NO: 9) y/o la secuencia de la cadena ligera gL2 (SEQ ID NO: 7).

Esta región específica o epítipo del polipéptido IL-17 humano puede ser identificada por cualquier procedimiento de correlación de epítipo adecuado conocido en la técnica en combinación con uno cualquiera de los anticuerpos proporcionados por la presente invención. Ejemplos de tales métodos incluyen la detección de péptidos de diferentes longitudes derivadas de IL-17 para la unión al anticuerpo de la presente invención con el fragmento más pequeño que puede unirse específicamente al anticuerpo que contiene la secuencia del epítipo reconocido por el anticuerpo. Los péptidos IL-17 pueden ser producidos sintéticamente o mediante la digestión proteolítica del polipéptido IL-17. Los péptidos que se unen al anticuerpo se pueden identificar mediante, por ejemplo, análisis de espectrometría de masas. En otro ejemplo, se puede utilizar espectroscopía de RMN para identificar el epítipo unido por un anticuerpo de la presente invención. Una vez identificado, se puede utilizar el fragmento epitópico que se une a un anticuerpo de la presente invención, si es necesario, como un inmunógeno para obtener anticuerpos neutralizantes adicionales que se unen al mismo epítipo.

Los anticuerpos que bloquean inespecíficamente la unión de un anticuerpo de acuerdo con la presente invención, en particular, un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada gH4 (SEQ ID NO: 9) y la secuencia de la cadena ligera gL2 (SEQ ID NO: 7) pueden ser igualmente útil en la neutralización de la actividad de IL-17. En consecuencia, la presente invención también proporciona un anticuerpo neutralizante con especificidad para IL-17 humana, que bloquea inespecíficamente la unión de cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente para IL-17 humano y/o se bloquea inespecíficamente de la unión de IL-17 por cualquiera de esos anticuerpos. En una realización, un anticuerpo tal se une al mismo epítipo como el anticuerpo descrito en este documento anteriormente. En otra realización, el anticuerpo de neutralización de bloqueo inespecífico se une a un epítipo que limita y/o solapa con el epítipo unido por el anticuerpo descrito en este documento anteriormente. En otra realización, el anticuerpo de neutralización de bloqueo inespecífico de este aspecto de la invención no se une al mismo epítipo que el anticuerpo de la presente invención o el epítipo que limita y/o solapa con dicho epítipo.

Pueden identificarse anticuerpos bloqueantes inespecíficos usando cualquier método adecuado en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de ELISA de competición o BIAcore donde la unión del anticuerpo de bloqueo inespecífico a IL-17 humana impide la unión de un anticuerpo de la presente invención, o viceversa.

En una realización, se proporciona un anticuerpo neutralizante con especificidad para IL-17 humana, que bloquea inespecíficamente la unión de un anticuerpo cuya cadena pesada comprende la secuencia de GH4 (SEQ ID NO: 9) y cuya cadena ligera comprende la secuencia gL2 (SEQ ID NO: 7) para IL-17 humana. En una realización, los anticuerpos de bloqueo inespecífico proporcionados por la presente invención inhiben la unión de un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada gH4 (SEQ ID NO: 9) y la secuencia de la cadena ligera gL2 (SEQ ID NO: 7) en más de un 80%, preferiblemente en más de un 85%, más preferiblemente en más de un 90%, incluso más preferiblemente en más de un 95%.

Alternativamente, o además, los anticuerpos neutralizantes de acuerdo con este aspecto de la invención pueden ser bloqueados inespecíficamente a partir de la unión a IL-17 humana por un anticuerpo que comprenda la secuencia de la cadena pesada gH4 (SEQ ID NO: 9) y la secuencia de la cadena ligera gL2 (SEQ ID NO: 7). También se proporciona, por tanto, una molécula de anticuerpo neutralizante con especificidad para IL-17 humana, que se bloquea inespecíficamente a partir de la unión de IL-17 humana por un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada gH4 (SEQ ID NO: 9) y la secuencia de la cadena ligera gL2 (SEQ ID NO: 7). En una realización, los anticuerpos neutralizantes proporcionados por este aspecto de la invención se inhiben de la unión de IL-17 humana por un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada gH4 (SEQ ID NO: 9) y la secuencia de la cadena ligera gL2 (SEQ ID NO: 7) en más de un 80%, preferiblemente en más de un 85%, más preferiblemente en más de un 90%, incluso más preferiblemente en más de un 95%.

En una realización, los anticuerpos de bloqueo inespecífico proporcionados por la presente invención son totalmente humanos. En una realización, los anticuerpos de bloqueo inespecífico proporcionados por la presente invención son humanizados. En una realización, los anticuerpos de bloqueo inespecífico proporcionados por la presente invención tienen una afinidad por la IL-17 humana de 100 pM o mejor.

Las moléculas de anticuerpo de la presente invención tienen preferiblemente una alta afinidad de unión, preferiblemente del orden de picomolar. La afinidad puede medirse usando cualquier método adecuado conocido en

la técnica, incluyendo BIAcore como se describe en los Ejemplos de este documento mediante el uso de IL-17 natural o recombinante. Preferiblemente la afinidad se mide usando IL-17 humana recombinante como se describe en los ejemplos en el presente documento. Preferiblemente, las moléculas de anticuerpo de la presente invención tienen una afinidad de unión de aproximadamente 200 pM o mejor. En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión de aproximadamente 100 pM o mejor. En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión de aproximadamente 50 pM o mejor. En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión de aproximadamente 20 pM o mejor. En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión de aproximadamente 10 pM o mejor. En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención es completamente humano o humanizado y tiene una afinidad de unión de aproximadamente 100 pM o mejor. Se apreciará que la afinidad de los anticuerpos proporcionados por la presente invención puede ser alterada usando cualquier método adecuado conocido en la técnica. La presente invención por lo tanto también se refiere a variantes de las moléculas de anticuerpo de la presente invención, que tienen una afinidad mejorada con IL-17. Tales variantes se pueden obtener por una serie de protocolos de maduración de afinidad incluyendo la mutación de las CDR (Yang et al, J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), mezcla aleatoria de cadenas (Marks et al, Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), uso de cepas mutantes de E. coli (Low et al, J. Mol. Biol., 250, 359-368, 1996), transposición de ADN (Patten et al, Curr. Opin. Biotechnol, 8, 724-733, 1997), presentación de fagos (Thompson et al, J. Mol. Biol., 256, 77-88, 1996) y PCR sexual (Cramer et al., Nature, 391, 288-291, 1998). Vaughan et al. (Supra) discuten estos métodos de maduración de afinidad.

En una realización, las moléculas de anticuerpo de la presente invención neutralizan la actividad de IL-17, por ejemplo, en los ensayos in vitro descritos en los Ejemplos. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo neutralizante con especificidad para IL-17 humana que es capaz de inhibir la actividad de IL-17 0,8 nM humano en un 50% a una concentración de menos de 2 nM, siendo medida dicha actividad inhibitoria en la liberación inducida por IL-17 de IL-6 a partir de células Hela. En una realización, la concentración de anticuerpo que inhibe la IL-17 en un 50% es menor que 1 nM. En una realización, menos de 0,5 nM. En una realización, la IL-17 humana usada en el ensayo es IL-17 natural humana. En una realización, la IL-17 humana usada en el ensayo es IL-17 humana recombinante. En una realización, el anticuerpo neutralizante es un anticuerpo humanizado o completamente humano.

Si se desea un anticuerpo para uso en la presente invención puede conjugarse con una o más molécula(s) efectora(s). Se apreciará que la molécula efectora puede comprender una única molécula efectora o dos o más de tales moléculas de modo que formen un único resto que pueda unirse a los anticuerpos de la presente invención. Cuando se desea obtener un fragmento de anticuerpo unido a una molécula efectora, este se puede preparar mediante procedimientos de ADN estándar químicos o recombinantes, en el que el fragmento de anticuerpo está unido directamente o a través de un agente de acoplamiento a la molécula efectora. Las técnicas para conjugar tales moléculas efectoras a anticuerpos son bien conocidos en la técnica (véase, Hellstrom et al., Controlled Drug Delivery, segunda Ed., Robinson et al, eds., 1987, pp. 623-53; Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev., 62: 119-58 y Dubowchik et al., 1999, Pharmacology and Therapeutics, 83, 67-123). Procedimientos químicos particulares incluyen, por ejemplo, los descritos en los documentos WO 93/06231, WO 92/22583, WO 89/00195, WO 89/01476 y WO03031581. Alternativamente, cuando la molécula efectora es una proteína o un polipéptido el enlace puede conseguirse usando procedimientos de ADN recombinante, por ejemplo, como se describe en los documentos WO 86/01533 y EP0392745.

La expresión molécula efectora como se utiliza en este documento incluye, por ejemplo, agentes antineoplásicos, fármacos, toxinas, proteínas biológicamente activas, por ejemplo, enzimas, otros fragmentos de anticuerpos o anticuerpos, polímeros sintéticos o de origen natural, ácidos nucleicos y fragmentos de los mismos, por ejemplo, ADN, ARN y fragmentos de los mismos, radionucleidos, particularmente yoduro radiactivo, radioisótopos, metales quelados, nanopartículas y grupos indicadores tales como compuestos fluorescentes o compuestos que pueden detectarse mediante espectroscopía de RMN o ESR.

Los ejemplos de moléculas efectoras pueden incluir citotoxinas o agentes citotóxicos incluyendo cualquier agente que sea perjudicial para las células (por ejemplo, las mata). Los ejemplos incluyen combrestatinas, dolastatinas, epotilonas, estaurosporina, maitansinoides, espongistatinas, rizoxina, halicondrinas, roridins, hemiasterlinas, taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxi antracina diona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-dehidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol, y puromicina y análogos u homólogos de los mismos.

Las moléculas efectoras también incluyen, pero no se limitan a, antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracilo decarbazina), agentes alquilantes (por ejemplo, mecloretamina, tioepa clorambucilo, melfalán, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptoizotocina, mitomicina C y cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino), antraciclinas (por ejemplo, daunorrubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina, antramycin (AMC), caliqueamicinas o duocarmicinas), y agentes anti-mitóticos (por ejemplo, vincristina y vinblastina).

Otras moléculas efectoras pueden incluir radionúclidos quelados tales como ^{111}In y ^{90}Y , Lu^{177} , bismuto 213 , californio 252 , Iridio 192 y tungsteno 188 /renio 188 , o fármacos tales como, pero no limitados a, alquilfosfolinas, inhibidores de topoisomerasa I, taxoides y suramina.

5 Otras moléculas efectoras incluyen proteínas, péptidos y enzimas. Las enzimas de interés incluyen, pero no se limitan a, enzimas proteolíticas, hidrolasas, liasas, isomerasas, transferasas. Las proteínas, polipéptidos y péptidos de interés incluyen, pero no se limitan a, inmunoglobulinas, toxinas tales como abrina, ricina A, exotoxina de pseudomonas, o toxina de la difteria, una proteína tal como insulina, factor de necrosis tumoral, α -interferón, β -interferón, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento derivado de plaquetas o el activador del plasminógeno tisular, un agente trombótico o un agente anti-angiogénico, por ejemplo, angiostatina o endostatina, o,
10 un modificador de la respuesta biológica tal como una lincocina, interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor de crecimiento nervioso (NGF) u otros factores de crecimiento e inmunoglobulinas.

Otras moléculas efectoras pueden incluir sustancias detectables útiles, por ejemplo, en los diagnósticos. Ejemplos de sustancias detectables incluyen diversas enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, núclidos radiactivos, metales emisores de positrones (para su uso en tomografía por emisión de positrones), e iones metálicos paramagnéticos no radiactivos. Véase, en general, la patente de EE.UU. No. 4.741.900 para iones metálicos que pueden conjugarse con anticuerpos para su uso como agentes de diagnóstico. Las enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa, o acetilcolinesterasa; grupos prostéticos adecuados incluyen estreptavidina, avidina y biotina;
15 materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloruro de dansilo y ficoeritrina; materiales luminiscentes adecuados incluyen luminol; materiales bioluminiscentes adecuados incluyen luciferasa, luciferina, y aequorina; y nucleidos radiactivos adecuados incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In y ^{99}Tc .

En otro ejemplo, la molécula efectora puede aumentar la semivida del anticuerpo in vivo, y/o reducir la inmunogenicidad del anticuerpo y/o mejorar la entrega de un anticuerpo a través de una barrera epitelial al sistema inmune. Los ejemplos de moléculas efectoras adecuadas de este tipo incluyen polímeros, albúmina, proteínas de unión a albúmina o compuestos de unión de albúmina tales como las descritas en el documento WO05/117984.
25

Quando la molécula efectora es un polímero, puede, en general, ser un polímero de origen natural o sintético, por ejemplo, un polialquileno de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituido, polialquilenilo o polímero de polioxilquileno o un polisacárido ramificado o no ramificado, por ejemplo, un polisacárido homo- o hetero-.
30

Los sustituyentes opcionales particulares que pueden estar presentes en los polímeros sintéticos mencionados anteriormente incluyen uno o más grupos hidroxilo, metilo o metoxi.

Los ejemplos particulares de polímeros sintéticos incluyen opcionalmente poli(etilenglicol) sustituido de cadena lineal o ramificada, poli(propilenglicol) poli(alcohol vinílico) o derivados de los mismos, especialmente opcionalmente poli(etilenglicol) sustituido, tal como metoxipoli(etilenglicol) o derivados de los mismos.
35

Polímeros particulares de origen natural incluyen lactosa, amilosa, dextrano, glucógeno o derivados de los mismos.

"Derivados", tal como se usa en el presente documento, se pretende que incluya derivados reactivos, por ejemplo, grupos reactivos tiol-selectivos, tales como maleimidias y similares. El grupo reactivo puede estar unido directamente o a través de un segmento de unión al polímero. Se apreciará que el residuo de dicho grupo en algunos casos formará parte del producto como el grupo de unión entre el fragmento de anticuerpo y el polímero.
40

El tamaño del polímero puede que variarse como se desee, pero generalmente estará en un intervalo de peso molecular medio de 500 Da a 50000 Da, preferiblemente de 5000 a 40000 Da y, más preferiblemente, de 20000 a 40000 Da. El tamaño del polímero puede, en particular, seleccionarse sobre la base del uso previsto del producto, por ejemplo, la capacidad de localizar a ciertos tejidos tales como tumores o extender la semivida circulante (para una revisión véase Chapman, 2002, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 531-545). Así, por ejemplo, cuando el producto está destinado a dejarse en la circulación y penetrar en el tejido, por ejemplo, para uso en el tratamiento de un tumor, puede ser ventajoso usar un polímero de pequeño peso molecular, por ejemplo, con un peso molecular de alrededor 5000 Da. Para aplicaciones en las que el producto permanece en la circulación, puede ser ventajoso usar un polímero de mayor peso molecular, por ejemplo, con un peso molecular en el intervalo de 20000 Da a 40000 Da.
45

Los polímeros particularmente preferidos incluyen un polímero de polialquileno, tal como un poli(etilenglicol) o, especialmente, un metoxipoli(etilenglicol) o un derivado del mismo, y especialmente con un peso molecular en el intervalo de aproximadamente 15000Da a aproximadamente 40000 Da. En uno ejemplo, los anticuerpos para su uso en la presente invención están unidos a restos de poli(etilenglicol) (PEG). En un ejemplo particular, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo y las moléculas de PEG pueden estar unidos a través de cualquier cadena lateral de aminoácido o grupo funcional de aminoácido terminal disponible situado en el fragmento de anticuerpo, por ejemplo, cualquier grupo amino libre, imino, tiol, hidroxilo o grupo carboxilo. Tales aminoácidos se pueden producir de forma natural en el fragmento de anticuerpo o pueden modificarse por ingeniería genética en el fragmento usando métodos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, los documentos de EE.UU 5.219.996 y 5.667.425; el documento
50
55

WO98/25971). En un ejemplo, la molécula de anticuerpo de la presente invención es un fragmento Fab modificado donde la modificación es la adición al extremo C-terminal de su cadena pesada de uno o más aminoácidos para permitir la unión de una molécula efectora. Preferiblemente, los aminoácidos adicionales forman una región bisagra modificada que contiene uno o más residuos de cisteína a los que la molécula efectora puede ser unida. Múltiples sitios se pueden utilizar para unir dos o más moléculas de PEG.

Preferiblemente, las moléculas de PEG están unidas covalentemente a través de un grupo tiol de al menos un residuo de cisteína localizado en el fragmento de anticuerpo. Cada molécula de polímero unida al fragmento de anticuerpo modificado puede unirse covalentemente al átomo de azufre de un resto de cisteína localizado en el fragmento. El enlace covalente generalmente será un enlace disulfuro o, en particular, un enlace azufre-carbono. Cuando un grupo tiol se utiliza como el punto de unión de moléculas efectoras apropiadamente activadas, por ejemplo, pueden ser utilizados derivados selectivos de tiol tales como maleimidas y derivados de cisteína. Un polímero activado puede usarse como material de partida en la preparación de fragmentos de anticuerpo modificados con polímeros como se describe anteriormente. El polímero activado puede ser cualquier polímero que contenga un grupo reactivo tiol tal como un ácido α -halocarboxílico o éster, por ejemplo, yodoacetamida, una imida, por ejemplo, maleimida, una sulfona de vinilo o un disulfuro. Tales materiales de partida pueden obtenerse comercialmente (por ejemplo de Nektar, antes Shearwater Polymers Inc., Huntsville, AL, EE.UU.) o pueden prepararse a partir de materiales de partida disponibles comercialmente usando procedimientos químicos convencionales. Moléculas particulares de PEG incluyen 20K metoxi-PEG-amina (obtenible de Nektar, antes Shearwater; Rapp Polymere; y SunBio) y M-PEG-SPA (obtenible de Nektar, antes Shearwater).

En una realización, el anticuerpo es un fragmento Fab modificado o diFab que es PEGilado, es decir, tiene PEG (poli(etilenglicol)) unido covalentemente al mismo, por ejemplo, de acuerdo con el método descrito en el documento EP 0948544 o EP 1090037 [véase también "Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications", 1992, J. Milton Harris (ed), Plenum Press, New York, "Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications", 1997, J. Milton Harris y S. Zalipsky (eds), American Chemical Society, Washington DC y "Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences", 1998, M. Aslam y A. Dent, Grove Publishers, Nueva York; Chapman, A. 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54: 531-545]. En un ejemplo, PEG está unido a una cisteína en la región bisagra. En un ejemplo, un fragmento Fab modificado con PEG tiene un grupo maleimida unido covalentemente a un único grupo tiol en una región bisagra modificada. Un residuo de lisina se puede unir covalentemente al grupo maleimida y cada uno de los grupos amina en el residuo de lisina puede unirse a un polímero de metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20000 Da. El peso molecular total del PEG unido al fragmento Fab puede ser, por tanto, de aproximadamente 40000 Da.

En una realización, la presente invención proporciona una molécula de anticuerpo neutralizante con especificidad para IL-17 humana, que es un fragmento Fab modificado que tiene una cadena pesada que comprende la secuencia dada en SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia dada en SEQ NO.7 ID y que tiene en el extremo C-terminal de su cadena pesada una región de bisagra modificada que contiene al menos un residuo de cisteína al que está unido una molécula efectora. Preferiblemente, la molécula efectora es PEG y se une utilizando los métodos descritos en los documentos (WO98/25971 y WO200407216) por los que un grupo lisil-maleimida está unido al residuo de cisteína en el extremo C-terminal de la cadena pesada, y cada grupo amino del residuo de lisil se ha unido covalentemente a un residuo de metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20000 Da. Por consiguiente, el peso molecular total del PEG unido al anticuerpo es aproximadamente 40000Da.

En otro ejemplo, las moléculas efectoras se pueden unir a los fragmentos de anticuerpo usando los métodos descritos en las solicitudes de patente internacional WO2005/003169, WO2005/003170 y WO2005/003171.

La presente invención también proporciona una secuencia de ADN aislada que codifica la(s) cadena(s) pesada y/o ligera de una molécula de anticuerpo de la presente invención. Preferiblemente, la secuencia de ADN codifica la cadena pesada o ligera de una molécula de anticuerpo de la presente invención. La secuencia de ADN de la presente invención puede comprender ADN sintético, por ejemplo, producido por procesamiento químico, ADNc, ADN genómico o cualquier combinación de los mismos.

Las secuencias de ADN que codifican la molécula de anticuerpo de la presente invención se pueden obtener por métodos bien conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, las secuencias de ADN que codifican parte o la totalidad de las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos pueden sintetizarse como se desee a partir de las secuencias de ADN determinadas o sobre la base de las secuencias de aminoácidos correspondientes.

El ADN que codifica para las secuencias marco del aceptor está ampliamente disponible para los expertos en la técnica y se puede sintetizar fácilmente sobre la base de sus secuencias de aminoácidos conocidas.

Se pueden usar técnicas estándar de biología molecular para preparar secuencias de ADN que codifican para la molécula de anticuerpo de la presente invención. Las secuencias de ADN deseadas pueden sintetizarse completamente o en parte usando técnicas de síntesis de oligonucleótidos. Pueden ser utilizadas, según sea apropiado, las técnicas de mutagénesis dirigida al sitio y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Ejemplos de secuencias adecuadas se proporcionan en la Figura 1 (h) SEQ ID NO: 8; Figura 1 (i) SEQ ID NO: 10; Figura 1 (j) SEQ ID NO: 13; Figura 1 (k) SEQ ID NO: 14; Figura 1 (l) SEQ ID NO: 17 y Figura 1 (m) SEQ ID NO: 18. Los nucleótidos 1-57 de la SEQ ID N° 18 y 1-60 en la SEQ ID N° 14 codifican la secuencia del péptido señal del anticuerpo B72.3 de ratón (Whittle et al., 1987, Protein Eng. 1(6) 499-505), que se escinde para dar una molécula de anticuerpo neutralizante de la presente invención (el péptido señal corresponde a los residuos de aminoácidos 1-19 en la Figura 1 (g) SEQ ID NO: 16 y 1-20 en la figura 1 (e) SEQ ID NO: 12, respectivamente). La presente invención también proporciona una secuencia de ADN aislada que codifica la cadena pesada de un anticuerpo de la presente invención que comprende la SEQ ID NO: 17 o SEQ ID NO: 18. La presente invención también proporciona una secuencia de ADN aislada que codifica la cadena ligera de un anticuerpo de la presente invención que comprende la SEQ ID NO: 13 o SEQ ID NO: 14.

La presente invención también se refiere a un vector de clonación o de expresión que comprende una o más secuencias de ADN de la presente invención. En consecuencia, se proporciona un vector de clonación o de expresión que comprende una o más secuencias de ADN que codifican un anticuerpo de la presente invención. Preferiblemente, el vector de clonación o expresión comprende dos secuencias de ADN, que codifican la cadena ligera y la cadena pesada de la molécula de anticuerpo de la presente invención, respectivamente. Preferiblemente, un vector de acuerdo con la presente invención comprende las secuencias dadas en la SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 18. Los nucleótidos 1-57 en SEQ ID NO 18 y 1-60 en la SEQ ID NO 14 codifican la secuencia del péptido señal del anticuerpo de ratón B72.3 (residuos 1-19 en SEQ ID NO: 16 y 1-20 en la SEQ ID NO: 12 respectivamente) que se escinde lo más preferiblemente para dar una molécula de anticuerpo neutralizante de la presente invención.

Los métodos generales por los que los vectores se pueden construir, los métodos de transfección y los métodos de cultivo son bien conocidos para los expertos en la técnica. A este respecto, se hace referencia a "Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, Nueva York, y el Manual de Maniatis producido por Cold Spring Harbor Publishing.

También se proporciona una célula huésped que comprende uno o más vectores de clonación o de expresión que comprenden una o más secuencias de ADN que codifican un anticuerpo de la presente invención. Cualquier sistema de célula huésped/vector adecuado puede ser utilizado para la expresión de las secuencias de ADN que codifican la molécula de anticuerpo de la presente invención. Pueden ser utilizados sistemas bacterianos, por ejemplo, E. coli, y otros microbianos o también pueden ser utilizados sistemas de expresión de células huésped eucariotas, por ejemplo de mamíferos. Las células huésped de mamíferos adecuadas incluyen células CHO, de mieloma o hibridoma.

La presente invención también proporciona un procedimiento para la producción de una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención que comprende cultivar una célula huésped que contiene un vector de la presente invención en condiciones adecuadas para conducir a la expresión de proteína a partir de ADN que codifica la molécula de anticuerpo de la presente invención, y aislar la molécula de anticuerpo.

La molécula de anticuerpo puede comprender solamente un polipéptido de cadena pesada o ligera, en cuyo caso sólo un polipéptido de cadena pesada o de cadena ligera de la secuencia de codificación tiene que ser utilizado para transfectar las células huésped. Para la producción de productos que comprenden cadenas tanto pesadas como ligeras, la línea celular puede transfectarse con dos vectores, un primer vector que codifica un polipéptido de cadena ligera y un segundo vector que codifica un polipéptido de cadena pesada. Alternativamente, un único vector puede ser utilizado, vector que incluye secuencias que codifican polipéptidos de cadena ligera y de cadena pesada.

Como los anticuerpos de la presente invención son útiles en el tratamiento y/o profilaxis de un estado patológico, la presente invención también proporciona una composición de diagnóstico o farmacéutica que comprende una molécula de anticuerpo de la presente invención en combinación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, diluyentes o vehículos. En consecuencia, se proporciona el uso de un anticuerpo de la invención para la fabricación de un medicamento. La composición, por lo general, se suministra como parte de una composición farmacéutica estéril que normalmente incluirá un vehículo farmacéuticamente aceptable. Una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender, además, un adyuvante farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un proceso para la preparación de una composición farmacéutica o de diagnóstico que comprende añadir y mezclar la molécula de anticuerpo de la presente invención junto con uno o más de un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

La molécula de anticuerpo puede ser el único ingrediente activo en la composición farmacéutica o de diagnóstico o puede estar acompañada por otros ingredientes activos incluyendo otros ingredientes anticuerpos, por ejemplo anticuerpos anti-TNF, anti-IL- β , anti-células T, anti-IFN γ o anti-LPS, o ingredientes que no son anticuerpos, tales como xantinas. Otros ingredientes activos adecuados incluyen anticuerpos capaces de inducir tolerancia, por ejemplo, anticuerpos anti-CD3 o anti-CD4.

Las composiciones farmacéuticas preferiblemente comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo de la invención. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" como se usa en este documento se refiere a una cantidad de un agente terapéutico necesaria para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad específica o condición,

- o para exhibir un efecto terapéutico o preventivo detectable. Para cualquier anticuerpo, la cantidad terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente en ensayos de cultivo celular o en modelos animales, normalmente en roedores, conejos, perros, cerdos o primates. El modelo animal también se puede usar para determinar el intervalo de concentración apropiado y la vía de administración. Tal información puede usarse entonces para determinar las dosis útiles y las vías de administración en seres humanos.
- La cantidad terapéuticamente eficaz precisa para un sujeto humano dependerá de la gravedad del estado de enfermedad, la salud general del sujeto, la edad, peso y género del sujeto, dieta, tiempo y frecuencia de administración, combinación(s) de drogas, sensibilidades de reacción y tolerancia/respuesta a la terapia. Esta cantidad puede determinarse mediante experimentación rutinaria y está dentro del juicio del médico. Generalmente, una cantidad terapéuticamente eficaz será de 0,01 mg/kg a 50 mg/kg, preferiblemente de 0,1 mg/kg a 20 mg/kg. Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse convenientemente en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de un agente activo de la invención por dosis.
- Las composiciones se pueden administrar individualmente a un paciente o pueden administrarse en combinación (por ejemplo, simultáneamente, secuencialmente o por separado) con otros agentes, fármacos u hormonas.
- La dosis a la que la molécula de anticuerpo de la presente invención se administra depende de la naturaleza de la afección a tratar, la extensión de la inflamación presente y de si la molécula de anticuerpo se está utilizando profilácticamente o para tratar una condición existente.
- La frecuencia de la dosis dependerá de la semivida de la molécula de anticuerpo y de la duración de su efecto. Si la molécula de anticuerpo tiene una semivida corta (por ejemplo de 2 a 10 horas) puede ser necesario dar una o más dosis por día. Alternativamente, si la molécula de anticuerpo tiene una semivida larga (por ejemplo, de 2 a 15 días) sólo puede ser necesario administrar una dosis una vez al día, una vez por semana o incluso una vez cada 1 o 2 meses.
- El vehículo farmacéuticamente aceptable no debe inducir por sí mismo la producción de anticuerpos perjudiciales para el individuo que recibe la composición y no debe ser tóxico. Los vehículos adecuados pueden ser macromoléculas grandes, metabolizadas lentamente, tales como proteínas, polipéptidos, liposomas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas de virus inactivos.
- Se pueden utilizar sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, sales de ácidos minerales, tales como hidrocloruros, hidrobromuros, fosfatos y sulfatos, o sales de ácidos orgánicos, tales como acetatos, propionatos, malonatos y benzoatos.
- Los vehículos farmacéuticamente aceptables en composiciones terapéuticas pueden contener adicionalmente líquidos tales como agua, solución salina, glicerol y etanol. Adicionalmente, pueden estar presentes sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes o sustancias tamponantes del pH, en tales composiciones. Tales vehículos permiten que las composiciones farmacéuticas se formulen como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones espesas y suspensiones, para ingestión por el paciente.
- Las formas preferidas para la administración incluyen formas adecuadas para la administración parenteral, por ejemplo, por inyección o infusión, por ejemplo mediante inyección de bolo o infusión continua. Cuando el producto es para inyección o infusión, puede tomar la forma de una suspensión, solución o emulsión en un vehículo oleoso o acuoso y puede contener agentes de formulación, tales como agentes de suspensión, conservantes, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, la molécula de anticuerpo puede estar en forma seca, para su reconstitución antes de su uso con un líquido estéril apropiado.
- Una vez formuladas, las composiciones de la invención se pueden administrar directamente al sujeto. Los sujetos a tratar pueden ser animales. Sin embargo, se prefiere que las composiciones estén adaptadas para la administración a sujetos humanos.
- Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse por cualquier número de rutas, incluyendo, pero no limitado a, oral, intravenosa, intramuscular, intra-arterial, intramedular, intratecal, intraventricular, transdérmica, transcutánea (por ejemplo, véase el documento WO 98/20734), subcutánea, intraperitoneal, intranasal, enteral, tópica, sublingual, intravaginal o rectal. También se puede usar hipopulverizaciones para administrar las composiciones farmacéuticas de la invención. Típicamente, las composiciones terapéuticas pueden prepararse como inyectables, bien como soluciones líquidas como suspensiones. También se pueden preparar formas sólidas adecuadas para solución, o suspensión, en vehículos líquidos antes de la inyección.
- La administración directa de las composiciones generalmente se realizará por inyección, por vía subcutánea, intraperitoneal, intravenosa o intramuscular, o se entregará al espacio intersticial de un tejido. Las composiciones también se pueden administrar en una lesión. El tratamiento de dosificación puede ser un programa de dosis única o un programa de dosis múltiple.

Se apreciará que el ingrediente activo en la composición será una molécula de anticuerpo. Como tal, será susceptible a la degradación en el tracto gastrointestinal. Por lo tanto, si la composición se va a administrar por una vía usando el tracto gastrointestinal, será necesario que la composición contenga agentes que protejan al anticuerpo de la degradación pero que liberen el anticuerpo una vez que ha sido absorbido desde el tracto gastrointestinal.

- 5 Una discusión a fondo de los vehículos farmacéuticamente aceptables está disponible en el Pharmaceutical Sciences de Remington (Mack Publishing Company, Nueva Jersey. 1991).

También se prevé que el anticuerpo de la presente invención se administrará mediante el uso de terapia génica. Con el fin de lograr esto, las secuencias de ADN que codifican las cadenas pesada y ligera de la molécula de anticuerpo bajo el control de componentes de ADN apropiados se introducen en un paciente de manera que las cadenas de anticuerpos se expresan a partir de las secuencias de ADN y se ensamblan in situ.

10 La presente invención también proporciona una molécula de anticuerpo para su uso en el control de enfermedades inflamatorias. Preferiblemente, la molécula de anticuerpo se puede utilizar para reducir el proceso inflamatorio o para evitar el proceso inflamatorio.

15 La presente invención proporciona también la molécula de anticuerpo de la presente invención para uso en el tratamiento o la profilaxis de un trastorno patológico que está mediado por IL-17 o asociado con un mayor nivel de IL-17. Preferiblemente, el estado patológico se selecciona del grupo que consiste en infecciones (virales, bacterianas, fúngicas y parasitarias), choque endotóxico asociado con una infección, artritis, artritis reumatoide, asma, enfermedad inflamatoria pélvica, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Crohn, enfermedad de Peyronie, enfermedad celíaca, la enfermedad de la vesícula biliar, enfermedad pilonidal, peritonitis, psoriasis, vasculitis, adherencias quirúrgicas, accidentes cerebrovasculares, diabetes tipo I, artritis de Lyme, meningocelalitis, trastornos inflamatorios inmunes mediados del sistema nervioso central y periférico, tal como la esclerosis múltiple y el síndrome de Guillain-Barré, trastornos autoinmunes, pancreatitis, trauma (cirugía), enfermedad de injerto contra huésped, rechazo de trasplantes, cáncer (tanto tumores sólidos tales como melanomas, hepatoblastomas, sarcomas, carcinomas de células escamosas, cáncer de células de transición, los cánceres de ovario y tumores malignos hematológicos y, en particular leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, cáncer gástrico y cáncer de colon), enfermedades del corazón, incluyendo las enfermedades isquémicas tales como infarto de miocardio, así como aterosclerosis, coagulación intravascular, resorción ósea, osteoporosis, osteoartritis, periodontitis e hipoclorhidria.

20 La presente invención también proporciona una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención para su uso en el tratamiento o la profilaxis del dolor.

La presente invención proporciona además el uso de una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de un trastorno patológico que está mediado por IL-17 o asociado con un mayor nivel de IL-17. Preferiblemente, el trastorno patológico es la artritis reumatoide o la esclerosis múltiple.

25 La presente invención proporciona además el uso de una molécula de anticuerpo según la presente invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis del dolor.

Una molécula de anticuerpo de la presente invención se puede utilizar en cualquier terapia en la que se desee reducir los efectos de IL-17 en el cuerpo humano o animal. IL-17 puede estar circulando en el cuerpo o puede estar presente en un nivel indeseablemente alto localizado en un sitio particular en el cuerpo, por ejemplo, un sitio de inflamación.

30 La molécula de anticuerpo de la presente invención se utiliza preferiblemente para el control de la enfermedad inflamatoria.

La presente invención también proporciona un método para tratar sujetos humanos o animales que sufren o están en riesgo de un trastorno mediado por IL-17, comprendiendo el método administrar al sujeto una cantidad eficaz de la molécula de anticuerpo de la presente invención.

35 La molécula de anticuerpo de la presente invención también se puede usar en el diagnóstico, por ejemplo, en el diagnóstico in vivo y de formación de imágenes de estados de enfermedad que implican a la IL-17.

La presente invención se describe adicionalmente a modo de ilustración solamente en los siguientes ejemplos, que se refieren a las figuras adjuntas, en las que:

50 Figura 1:

a) Región V de la cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 (277 gL2gH4) (SEQ ID NO: 7)

b) Región V de la cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 (277 gL2gH4) (SEQ ID NO: 9)

c) CDRH1 (SEQ ID NO: 1), CDRH2 (SEQ ID NO: 2), CDRH3 (SEQ ID NO: 3), CDRL1 (SEQ ID NO: 4), CDRL2 (SEQ ID NO: 5), CDRL3 (SEQ ID NO: 6) del anticuerpo CA048_497.g2 (277 gL2gH4).

d) cadena ligera del anticuerpo CA048__497.g2 (SEQ ID NO: 11)

e) cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 incluyendo la secuencia señal (subrayado) (SEQ ID NO: 12)

5 f) cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO: 15)

g) cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 incluyendo la secuencia señal (subrayado) (SEQ ID NO: 16)

h) ADN que codifica la región variable de la cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO: 8)

i) ADN que codifica la región variable de la cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO: 10)

j) ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO: 13)

10 k) ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 incluyendo la secuencia señal (SEQ ID NO: 14)

l) ADN que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO: 17)

m) ADN que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 incluyendo la secuencia señal (SEQ ID NO: 18)

15 Figura 2: Inhibición de la producción de IL-6 por el anticuerpo CA048_497.g2 en células Hela estimuladas con IL-17 recombinante humana

Figura 3: Inhibición de la producción de IL-6 por el anticuerpo CA048_497.g2 en células Hela estimuladas con IL-17 natural humana

Manipulaciones de ADN y métodos generales

20 La cepa de *E. coli* INV α F' (Invitrogen) se utilizó para la transformación y el crecimiento de cultivo de rutina. Las enzimas de restricción de ADN y modificación se obtuvieron de Roche Diagnostics Ltd. y New England Biolabs. Las preparaciones de plásmidos se realizaron usando kits de purificación de plásmidos Maxi (Qiagen, número de catálogo 12165). Las reacciones de secuenciación del ADN se realizaron utilizando el kit de secuenciación de terminador ABI Prism Big Dye (catálogo No. 4.304.149) y se ejecutaron en un secuenciador automático ABI 3100 (Applied Biosystems). Los datos fueron analizados utilizando el programa AutoAssembler (Applied Biosystems).
25 Los oligonucleótidos se obtuvieron de Invitrogen. Los genes que codificaban las secuencias iniciales de la región V fueron diseñados y construidos por un enfoque de síntesis automatizada por Entelechon GmbH, y modificados para generar las versiones injertadas por mutagénesis dirigida de oligonucleótidos. La concentración de IgG se determinó usando el montaje IgG de ELISA.

Ejemplo 1: Producción de un anticuerpo anti-IL-17 neutralizante (anticuerpo 497.g2 CA048 (277 gL2gH4))

30 Fueron inmunizadas ratas Sprague Dawley hembras con IL-17 recombinante humana (adquirida en R & D Systems). Las ratas recibieron cuatro vacunas de 20 μ g de IL-17 en 100 μ l de adyuvante de Freund. El anticuerpo 277, que se une a la IL-17, se aisló utilizando los métodos descritos en el documento WO04/051268. Los genes para el dominio variable de la cadena pesada (VH) y el dominio variable de la cadena ligera (VL) del anticuerpo 277 fueron aislados y secuenciados tras la clonación mediante PCR de transcripción inversa.

35 Una serie de regiones VL y VH humanizadas fueron diseñadas utilizando marcos aceptores de la región V humanos y variando el número de restos del donante en las regiones marco. Dos regiones VL injertadas (gL1 y 2) y 7 regiones VH injertadas (gH1-7) se diseñaron y los genes fueron construidos por ensamblaje de oligonucleótidos y mutagénesis por PCR.

40 Las secuencias de cadena ligera injertadas fueron sub-clonadas en el vector de expresión de la cadena ligera humano pKHIO.I que contiene el ADN que codifica la región constante C-kappa humana (alotipo Km3). Las secuencias de cadena pesada injertadas se sub-clonaron en el vector de expresión de gamma 4 humano pVhg4P FL, que contiene el ADN que codifica la región constante humana gamma-4 que contiene la bisagra que estabiliza la mutación S241P (Angal et al, supra). Los plásmidos se co-transfectaron en células CHO y los anticuerpos producidos se examinaron para determinar la actividad en ensayos de unión de IL-17 y de neutralización (por
45 ejemplo, IL-17 induce la producción de IL-6 en la línea celular 3T3-NIH, basado en el método descrito en Yao et al, J. Immunol. 1995; 155, 5483- 5486). Las transfecciones de las células CHO se realizaron utilizando el procedimiento de Lipofectamine(TM) 2000 de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Invitrogen, N° de catálogo 11668).

50 El injerto más potente en la neutralización de IL-17 (gL2gH4) y con los más altos niveles de expresión en células CHO fue seleccionado. Las secuencias de la región V se muestran en la Figura 1 (a) y (b) y en SEQ ID NOs: 7 y 9 para la cadena ligera (gL2) y la cadena pesada (GH4), respectivamente. Este anticuerpo fue nombrado

CA028_497.g2. Las CDR de este anticuerpo se muestran en la Figura I (c). Las cadenas ligeras y pesadas de longitud completa se muestran en las figuras I (d) y (f), respectivamente. Las secuencias de ADN que codifican las cadenas ligeras y pesadas se muestran en las Figuras 1 (k) y (m), respectivamente.

- 5 El marco aceptor de la cadena pesada es la secuencia de la línea germinal humana VH3 1-U 3-15 con el marco 4 que viene de esta parte de la línea germinal JH4 de la región JH-humano. El marco aceptor de la cadena ligera es la secuencia de la línea germinal humana VK1 2-1-(1) L4, con el marco 4 que viene de esta parte de la línea germinal JKL de la región JK humana. El aminoácido en la posición 49 en la cadena pesada de la SEQ ID NO: 9 es un resto donante que se encontró que era esencial para la buena expresión de células CHO y la afinidad para IL-17.

Ejemplo 2: Evaluación de la afinidad de CA028_497.g2 para IL-17

- 10 La tecnología BIAcore monitoriza la unión entre las biomoléculas en tiempo real y sin el requisito del marcaje. Uno de los interactuantes, denominado el ligando, o bien se inmoviliza directamente o se captura en la superficie inmovilizado mientras que el otro, denominado el analito, fluye en solución sobre la superficie capturada. El sensor detecta el cambio de masa de la que el analito se une al ligando para formar un complejo en la superficie. Esto se corresponde con el proceso de asociación. El proceso de disociación se monitoriza cuando el analito se sustituye por tampón. La afinidad de CA028_497.g2 para IL-17 en el ensayo de BIAcore se evaluó con CA028_497.g2 como el ligando y la IL-17 como el analito.

Determinación de la afinidad de CA028_497.g2 para IL-17 de diferentes especies utilizando CA028_497.g2 como el ligando

- 20 La captura de CA028_497.g2 por IgG Fc anti-humano inmovilizado en el chip sensor fue seguida por titulación de IL-17 humana o IL-17 de otras especies, sobre la superficie capturada. A continuación se da un ejemplo del procedimiento:

- 25 Se realizó el BIA (Análisis de Interacción Biomolecular) utilizando un BIAcore 3000 (BIAcore AB). IgG anti-humana de cabra del fragmento AffiniPure F(ab')₂, Fc (Jackson ImmunoResearch) se inmovilizó sobre un chip sensor CM5 a través de química de acoplamiento de amina a un nivel de captura de ≈8000 unidades de respuesta (RU). El tampón HBS-EP (HEPES 10 mM pH 7,4, NaCl 0,15 M, EDTA 3 mM, 0,005% de tensioactivo P20, BIAcore AB) se utilizó como tampón de desplazamiento con una velocidad de flujo de 10 μL/min. Una inyección de 10 μL de CA028_497.g2 se utilizó para la captura por IgG-F(ab)₂ inmovilizado anti-humano. IL-17 se valora respecto al CA028_497.g2 capturado a diversas concentraciones a una velocidad de flujo de 30 μL/min. La superficie se regeneró mediante una inyección de 30 μL de HCl 40 mM, seguido de una inyección de 10 μL de NaOH 5 mM.

- 30 Las curvas de unión con sustracción del fondo se analizaron usando el software BIAevaluation (versión 3.2) siguiendo procedimientos estándar. Los parámetros cinéticos se determinaron a partir del algoritmo de ajuste.

- 35 Las concentraciones de IL-17 de diferentes especies de primates no humanos (NHP) expresadas transitoriamente se estimaron en relación con la IL-17 humana y estas concentraciones se utilizaron entonces para determinar las afinidades de las IL-17. La afinidad se midió a IL-17 concentraciones iguales o inferiores a 25 nM. El valor de afinidad determinado para CA028_497.g2 fue 6,3 para IL-17 de humano, 10,7 para IL-17 de macaco cangrejero y 12,9 para IL-17 de tití (Tabla 1).

La concentración de la IL-17 de macaco cangrejero transitoria y IL-17 de tití transitoria se estima en base a la unión equivalente de IL-17 humana.

Tabla 1: Afinidad de la IL-17 para CA028_497.g2

Referencia	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	k_d (M)	k_d pM
Humano	1,86E+06	7,38E-06	6,28E-12	6,3
RnD				
macaco cangrejero	1,57E+06*	1,68E-05	1,07E-11	10,7
tití	1,13E+06*	1,46E-05	1,29E-10	12,9
06073130c				

40

Ejemplo 3: Neutralización de IL-17 humana en células humanas

Se utilizó la capacidad de la IL-17 para inducir la producción de IL-6 a partir de células Hela humanas para determinar la potencia de neutralización de CA028_497.g2 para IL-17 recombinante humana y células de mamífero (CHO) derivadas de IL-17 humana (IL-17 denominada "natural"). Se obtuvieron células Hela a partir del banco de células en ATCC (ATCC CCL-2). Las células se cultivaron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con 10% de suero de ternera fetal, penicilina, gentamicina y glutamina. 1×10^4 células se sembraron en placas de cultivo de tejido de fondo plano de 96 pocillos. Las células se incubaron durante la noche y se lavaron una vez en tampón de ensayo. Tanto IL-17 recombinante humano (25 ng ml^{-1}) como IL-17 "natural" (25 ng ml^{-1}) se incubaron en presencia de una concentración fija de TNF- α humano y esta mezcla se preincubó con CA028_497.g2. Las citoquinas más los anticuerpos después se añadieron a las células Hela que se incubaron durante la noche. La producción de IL-6 en el sobrenadante del cultivo celular era proporcional a la cantidad de IL-17 añadida a las células. Los niveles de la liberación de IL-6 se determinaron en los sobrenadantes de células usando un ensayo de citoquinas IL-6 humanas Meso Scale Discovery 96-Well Multi-Spot. En esencia, este ensayo es un inmunoensayo de tipo sándwich, donde el anticuerpo de captura de IL-6 anti-humana pre-recubierto se une a IL-6 en los sobrenadantes de células o soluciones de calibrador, y los niveles se cuantifican usando un anticuerpo de detección específico de IL-6.

CA028_497.g2 potentemente neutralizó IL-17 recombinante humana y IL-17 humana derivada de células de mamíferos (Figuras 2 y 3). Los datos de estos experimentos indican que el IC50 de CA028_497g.2 fue $51 \text{ ng/mL} \pm 3 \text{ ng/mL}$ ($0,34 \text{ nM}$) contra IL-17 humana recombinante y $103 \pm 7 \text{ ng/ml}$ ($0,7 \text{ nm}$) contra IL-17 derivada de células de mamífero.

Por supuesto, se entenderá que la presente invención se ha descrito a modo de ejemplo solamente, no tiene de ninguna manera la intención de ser limitante y que las modificaciones de detalle se pueden hacer dentro del alcance de las reivindicaciones de a continuación.

ES 2 614 636 T3

<220>
<223> CDRL1

<400> 4

5 Lys Ala Ser Glu Ser Val Ser Ser Ser Met Tyr Ser Tyr Met His
1 5 10 15

<210> 5
<211> 7
10 <212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> CDRL2

15 <400> 5

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

20 <210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

25 <220>
<223> CDRL3

<400> 6

Gln Gln Ser Trp Thr Ala Pro Arg Thr
30 1 5

<210> 7
<211> 112
<212> PRT
35 <213> Artificial

<220>
<223> Región variable de cadena ligera gL2

40 <400> 7

ES 2 614 636 T3

<212> PRT
<213> Artificial

<220>

5 <223> Región variable de cadena pesada (gH4)

<400> 9

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Ile Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Ala Ser Ile Asn Phe Asn Ala Asp Ile Ser Tyr Tyr Arg Glu Ser Val
50 55 60

10

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 363
15 <212> ADN
<213> Artificial

<220>

20

<223> AND que codifica la región variable de cadena pesada

<400> 10

ES 2 614 636 T3

gaggttcagc tcgttgaatc cggagggcga ctcgtgaagc ccggaggcag tcttcgcttg 60
tcttgcgctg catctggagt gatctttagc gattactata tggcttgggt gagacaggca 120
cctgggaaag gcctcgaatg ggtggccagt attaacttca atgccgacat cagctactat 180
cgagagtctg tgaagggtag attcacaatc tcacgggatg acagtaagaa cacactgtac 240
ctgcagatga attccctgaa aaccgaggat accgccgttt actattgtac cactgacgcc 300
aacaggcaga attacgactg gtttgcctat tgggggcagg gcactctggt caccgtctcg 360
agc 363

<210> 11
<211> 218
5 <212> PRT
<213> Artificial

<220>
10 <223> Cadena ligera de longitud completa

<400> 11

ES 2 614 636 T3

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Glu Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

Met Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

ES 2 614 636 T3

115

120

125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 12
<211> 238
5 <212> PRT
<213> Artificial

<220>
10 <223> Cadena ligera de longitud completa que incluye la secuencia de señal

<400> 12

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

ES 2 614 636 T3

Asp Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Glu Ser
35 40 45

Val Ser Ser Ser Met Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
50 55 60

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

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

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
100 105 110

Gln Gln Ser Trp Thr Ala Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val
115 120 125

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

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn

ES 2 614 636 T3

165

170

175

Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser
 180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala
 195 200 205

Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly
 210 215 220

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230 235

<210> 13
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> ADN que codifica la cadena ligera de longitud completa

<400> 13

gccatccagc tgaccagag cocttcctct ctcagcgcca gtgtcggaga cagagtgact 60

attacctgca aagcctccga atcagtcagt tctctatgt attcttataat gcaactggtac 120

cagcaaaagc ccgaaagc tcttaaattg ctgatctaca gggcaagcaa cctcgagagc 180

ggcgtgcccc gcaggttcag cggcagtggt tctggaactg actttaccct gacaatctcc 240

tcactccagc ccgaggactt cggcacctat tactgccagc agagctggac agctcctagg 300

acatttgac agggcactaa agtggaaatc aagcgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 360

atcttccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgctgctg 420

aataacttct atccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cotccaatcg 480

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540

agcaccctga cgtgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600

acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtggttag 657

<210> 14

ES 2 614 636 T3

<211> 717
<212> ADN
<213> Artificial

5 <220>
<223> ADN que codifica la cadena ligera de longitud completa que incluye la secuencia de señal

<400> 14

atgtcagttc ccacacaggt gctgggcctg cttctgttgt ggctcaccga tgctaggtgt 60

gccatccagc tgaccagag cccttcctct ctcagcgcca gtgtcggaga cagagtgact 120

attacctgca aagcctccga atcagtcagt tcctctatgt attcttataat gcactggtag 180

cagcaaaagc ccgaaaggc tcctaaattg ctgatctaca gggcaagcaa cctcgagagc 240

ggcgtgcccc gcaggttcag cggcagtggt tctggaactg actttaccct gacaatctcc 300

tcactccagc ccgaggactt cggcacctat tactgcccagc agagctggac agctcctagg 360

acatttggac agggcactaa agtggaaatc aagcgtacgg tagcggcccc atctgtcttc 420

atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 480

10 aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 540

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 600

agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 660

accatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttag 717

15 <210> 15
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial

20 <220>
<223> Cadena pesada de longitud completa

<400> 15

ES 2 614 636 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Ile Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

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

Ala Ser Ile Asn Phe Asn Ala Asp Ile Ser Tyr Tyr Arg Glu Ser Val
 50 55 60

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

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

ES 2 614 636 T3

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

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
 210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

ES 2 614 636 T3

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

ES 2 614 636 T3

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

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

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

<210> 16

<211> 467

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> Cadena pesada de longitud completa que incluye la secuencia de señal

<400> 16

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

Val His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Ile Phe
35 40 45

Ser Asp Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ser Ile Asn Phe Asn Ala Asp Ile Ser Tyr Tyr Arg

ES 2 614 636 T3

65	70	75	80
Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn			
	85	90	95
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val			
	100	105	110
Tyr Tyr Cys Thr Thr Asp Ala Asn Arg Gln Asn Tyr Asp Trp Phe Ala			
	115	120	125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys			
	130	135	140
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu			
145	150	155	160
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro			
	165	170	175
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr			
	180	185	190
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val			
	195	200	205
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn			
	210	215	220

ES 2 614 636 T3

cgagagtctg tgaagggtag attcacaato tcacgggatg acagtaagaa cacactgtac	240
ctgcagatga attccctgaa aaccgaggat accgccgttt actattgtac cactgacgcc	300
aacaggcaga attaogactg gtttgctat tgggggcagg gcaactctggt caccgtctcg	360
agcgttcta caaagggccc atccgtette cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc	420
gagagcacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg	480
tcgtggaact caggogccct gaccagcggc gtgcacacct tccoggctgt cctacagtcc	540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacgaag	600
acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagtgggt	660
gagaggccag cacagggagg gaggggtctt gctggaagcc aggtcagcc ctctgcctg	720
gacgcacccc ggctgtgcag cccagccca gggcagcaag gcatgcccc a tctgtctct	780
caccggagg cctctgacca cccactcat gcccaggag aggtcttct ggattttcc	840
accaggctcc gggcagccac aggtctgatg cccctacccc aggccctgcg catacagggg	900
caggtgctgc gctcagacct gccaaagacc atatccggga ggaccctgcc cctgacctaa	960
gcccaccca aaggccaaac tctccactcc ctcagctcag acaccttct tcctcccaga	1020
tctgagtaac tcccaatctt ctctctgcag agtccaaata tggccccca tgcccacat	1080
gcccaggtaa gccaaaccag gcctcgcct ccagctcaag gcgggacagg tgccctagag	1140
tagcctgcat ccagggacag gccccagccg ggtgctgacg catccacctc catctctcc	1200
tcagcaoctg agttcctggg gggaccatca gtcttctgt tcccccaaa acccaaggac	1260
actctcatga tctcccggac cctgaggtc acgtgcgtgg tggcggacgt gagccaggaa	1320

ES 2 614 636 T3

gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 1380

aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg tacctgtgtg tcagcgtcct caccgtcctg 1440

caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaagg totccaaca aggccctccg 1500

tcctccatcg agaaaaccat ctccaagcc aaaggtggga cccacggggg gcgagggcca 1560

catggacaga ggtcagctcg gcccaacctc tgccctggga gtgaccgctg tgccaacctc 1620

tgccctaca gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga 1680

gatgaccaag aaccaggcca gctgacctg cctggtcaaa ggcttetacc ccagcgacat 1740

cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctccctg 1800

gctggactcc gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg 1860

gcaggagggg aatgtcttct catgctcctg gatgcatgag gctctgcaca accactacac 1920

acagaagagc ctctccctgt ctctgggtaa atga 1954

<210> 18
 <211> 2011
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> ADN que codifica la cadena pesada de longitud completa que incluye la secuencia de señal

10

<400> 18

atggaatggt cctgggtctt cctgttttct cttctgttca caaccggggg gcacagcgag 60

gttcagctcg ttgaatccgg aggcggactc gtgaagcccg gaggcagttc togcttctcc 120

tgcgctgcat ctggagtgat ctttagcgtat tactatatgg cttgggtgag acaggcaact 180

gggaaaggcc tcgaatgggt ggccagtatt aacttcaatg ccgacatcag ctactatcga 240

ES 2 614 636 T3

gagtctgtga agggtagatt cacaatctca cgggatgaca gtaagaacac actgtacctg 300
 cagatgaatt ccoctgaaaac cgaggatacc gccgthtact attgtaccac tgacgccaac 360
 aggcagaatt acgactgggtt tgcctattgg gggcagggca ctctggtcac cgtctcgagc 420
 gcttetacaa agggcccac cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 480
 agcacagccg ccoctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtcg 540
 tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacacottcc cggctgtcct acagtccctca 600
 ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 660
 tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgggtgag 720
 aggccagcac agggagggag ggtgtctgct ggaagccagg ctccagccctc ctgcctggac 780
 gcaccccggc tgtgcagccc cagcccaggg cagcaaggca tgccccatct gtctctctac 840
 ccggaggcct ctgaccaccc cactcatgcc caggagagg gtcttctgga tttttccacc 900
 aggtccggg cagccacagg ctggatgcc ctaccccagg ccttgcgcat acaggggcag 960
 gtgctgcgct cagaacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgccct gaactaagcc 1020
 cccccaaag gccaaaactct ccactccctc agctcagaca ccttctctcc tcccagatct 1080
 gagtaactcc caatcttctc tctgcagagt ccaaatatgg tccccatgc ccacctgcc 1140
 caggtaagcc aaccacagcc tcgccctcca gctcaaggcg ggacagggtgc cctagagtag 1200
 cctgcatcca gggacaggcc ccagccgggt gctgacgcat ccacctccat ctcttctca 1260
 gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact 1320
 ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac 1380

ES 2 614 636 T3

cccgaggtec agttcaactg gtacgtggat ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 1440
ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac cgtgtggcca gogtcctcac cgtcctgcac 1500
caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag tgcaaggctc ccaacaaag cctcccgtcc 1560
tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa ggtgggaccc acggggtgcg agggccacat 1620
ggacagaggt cagctcggcc caccctctgc cctgggagtg accgctgtgc caacctctgt 1680
ccctacaggg cagccccgag agccacaggt gtacacctg ccccatccc aggaggagat 1740
gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacceca gcgacatcgc 1800
cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccaecg ctcccgtgct 1860
ggactccgac ggctccttct tcctctacag caggctaacc gtggacaaga gcaggtggca 1920
ggaggggaat gtctttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca 1980
gaagagcctc tcctgtctc tgggtaaagt a 2011

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo neutralizante que se une a IL-17 humana que comprende una cadena pesada, en el que el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia dada en SEQ ID NO: 1 para CDR-H1, una CDR que tiene la secuencia dada en SEQ ID NO: 2 para CDR-H2 y una CDR que tiene la secuencia dada en SEQ ID NO: 3 para CDR-H3, y en el que el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en SEQ ID NO:4 para CDR-L1, una CDR que tiene la secuencia dada en SEQ ID NO:5 para CDR-L2 y una CDR que tiene la secuencia dada en SEQ ID NO:6 para CDR-L3.
2. Un anticuerpo neutralizante que se une a la IL-17 humana de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la cadena pesada comprende la secuencia dada en SEQ ID NO: 9.
- 10 3. Un anticuerpo neutralizante que se une a la IL-17 humana de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que la cadena ligera comprende la secuencia dada en SEQ ID NO: 7.
4. Un anticuerpo neutralizante que se une a la IL-17 humana de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene una cadena pesada que comprende la secuencia dada en SEQ ID NO: 15 y una cadena ligera que comprende la secuencia dada en SEQ ID NO: 11.
- 15 5. Un anticuerpo neutralizante que se une a la IL-17 humana de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde la afinidad de unión es de 50 pM o mejor.
6. Un anticuerpo neutralizante que se une a la IL-17 humana de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde la afinidad de unión es de 20 pM o mejor.
- 20 7. Una secuencia de ADN aislada que codifica la(s) cadena(s) pesada y ligera de un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
8. Un vector de clonación o de expresión que comprende una o más secuencias de ADN según la reivindicación 7.
9. Un vector según la reivindicación 8, en el que el vector comprende las secuencias dadas en SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 18.
- 25 10. Una célula huésped que comprende uno o más vectores de clonación o expresión, según la reivindicación 8 o la reivindicación 9.
11. Un procedimiento para la producción del anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende cultivar la célula huésped de la reivindicación 10 y aislar el anticuerpo.
12. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en combinación con uno o más de un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 30 13. Un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una composición farmacéutica según la reivindicación 12, para su uso en el tratamiento o la profilaxis de un trastorno patológico.
14. Un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una composición farmacéutica según la reivindicación 12, para su uso en el tratamiento un trastorno seleccionado del grupo que consiste en:
 - 35 infecciones, choque endotóxico asociado con una infección, artritis, artritis reumatoide, asma, enfermedad inflamatoria pélvica, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Crohn, enfermedad de Peyronie, enfermedad celíaca, enfermedad de la vesícula biliar, enfermedad pilonidal, peritonitis, psoriasis, vasculitis, adherencias quirúrgicas, accidentes cerebrovasculares, diabetes tipo I, artritis de Lyme, meningoencefalitis, trastornos inflamatorios inmunes mediados del sistema nervioso central y periférico, tal como la esclerosis múltiple y el síndrome de Guillain-Barr, trastornos autoinmunes, pancreatitis, trauma, enfermedad de injerto contra huésped, rechazo de trasplantes, cáncer, tales como melanomas, hepatoblastomas, sarcomas, carcinomas de células escamosas, cáncer de células de transición, cáncer de ovario y tumores malignos hematológicos, tal como leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, cáncer gástrico, cáncer de colon, enfermedades del corazón, tales como enfermedades isquémicas tales como infarto de miocardio, aterosclerosis, coagulación intravascular, resorción ósea, osteoporosis, osteoartritis, periodontitis e hipoclorhidria.
 - 40
 - 45
15. Un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una composición farmacéutica según la reivindicación 12, para su uso en el tratamiento o la profilaxis del dolor.

Figura 1

(a) Región variable de la cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO:7)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASESVSSSMYSYMHWYQQKPGKAPKLLIYRASNLESGV
PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSWTAPRTFGQGTKVEIKR

(a) Región variable de la cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO:9)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGVIFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVASINFNADISYYRE
SVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTDANRQNYDFAYWGQGLVTVSS

(c)

CDRH1: GVIFSDYYMA (SEQ ID NO:1)
CDRH2: SINFNADISYYRESVKG (SEQ ID NO:2)
CDRH3: DANRQNYDFAY (SEQ ID NO:3)
CDRL1: KASESVSSSMYSYMH (SEQ ID NO:4)
CDRL2: RASNLES (SEQ ID NO:5)
CDRL3: QQSWTAPRT (SEQ ID NO:6)

(d) Cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO:11)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASESVSSSMYSYMHWYQQKPGKAPKLLIYRASNLESGV
PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSWTAPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLS
KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(e) Cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 incluyendo la secuencia señal (SEQ ID NO:12)

MSVPTQVLGLLLLLWLTDARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASESVSSSMYSYMHWYQQ
KPGKAPKLLIYRASNLESGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSWTAPRTFGQ
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
VTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

ES 2 614 636 T3

(f) Cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO:15)

EVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGVI FSDYYMAWVRQAPGKGLEWVASINFNADISYYRE
SVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTDANRQNYDFAYWGQGLVTVSSAST
KGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVTVTPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
KDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSLGK

(g) Cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 incluyendo la secuencia señal (SEQ ID NO:16)

MEWSWVFLFFLSVTTGVHSEEVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGVI FSDYYMAWVRQAPGK
GLEWVASINFNADISYYRESVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTDANRQNY
DFAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP
CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLP
PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDK
SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHNTQKSLSLSLGK

(h) ADN que codifica la región variable de la cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO:8)

GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCTTCTCTCTCAGCGCCAGTGTTCGGAGACAGAGTGACTATTACCTG
CAAAGCCTCCGAATCAGTCAGTTCCTCTATGTATTCTTATATGCACTGGTACCAGCAAAAGCCCGGAA
AGGCTCCTAAATTGCTGATCTACAGGGCAAGCAACCTCGAGAGCGGCGTGCCAGCAGGTTTACGCGGC
AGTGGGTCTGGAAGTACTTTACCCTGACAATCTCCTCACTCCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTATTA
CTGCCAGCAGAGCTGGACAGCTCCTAGGACATTTGGACAGGGCACTAAAGTGGAAATCAAGCGT

(i) ADN que codifica la región variable de la cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO:10)

GAGGTT CAGCTCGTTGAATCCGGAGGCGGACTCGTGAAGCCCGGAGGCAGTCTTCGCTTGTCCCTGCGC
TGCATCTGGAGTGATCTTTAGCGATTACTATATGGCTTGGGTGAGACAGGCACCTGGGAAAGGCCCTCG
AATGGGTGGCCAGTATTAACCTCAATGCCGACATCAGCTACTATCGAGAGTCTGTGAAGGGTAGATTC
ACAATCTCACGGGATGACAGTAAGAACACACTGTACCTGCAGATGAATTCCTGAAAACCGAGGATAC
CGCCGTTTACTATTGTACCACTGACGCCAACAGGCAGAATTACGACTGGTTTGCCTATTGGGGCAGG
GCACTCTGGTCACCGTCTCGAGC

(j) ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO:13)

GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCTTCCTCTCTCAGCGCCAGTGTGCGGAGACAGAGTGACTATTACCTG
CAAAGCCTCCGAATCAGTCAGTTCCTCTATGTATTCTTATATGCACTGGTACCAGCAAAAGCCCGGAA
AGGCTCCTAAATGCTGATCTACAGGGCAAGCAACCTCGAGAGCGGCGTGCCAGCAGGTTACGCGGC
AGTGGGTCTGGAACAGTACTTTACCCTGACAATCTCCTCACTCCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTATTA
CTGCCAGCAGAGCTGGACAGCTCCTAGGACATTTGGACAGGGCACTAAAGTGGAAATCAAGCGTACGG
TAGCGGCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTT
GTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTCCA
ATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCA
CCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

(k) ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA048_497.g2 incluyendo la secuencia señal (SEQ ID NO:14)

ATGTCAGTCCCACACAGGTGCTGGGCCTGCTTCTGTTGTGGCTCACCGATGCTAGGTGTGCCATCCA
GCTGACCCAGAGCCCTTCCTCTCTCAGCGCCAGTGTGCGGAGACAGAGTGACTATTACCTGCAAAGCCT
CCGAATCAGTCAGTTCCTCTATGTATTCTTATATGCACTGGTACCAGCAAAAGCCCGGAAAGGCTCCT
AAATGCTGATCTACAGGGCAAGCAACCTCGAGAGCGGCGTGCCAGCAGGTTACGCGGCAGTGGGTG
TGGAACAGTACTTTACCCTGACAATCTCCTCACTCCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTATTACTGCCAGC
AGAGCTGGACAGCTCCTAGGACATTTGGACAGGGCACTAAAGTGGAAATCAAGCGTACGGTAGCGGCC
CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCT
GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA
ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACG
CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC
GCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

(I) ADN que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 (SEQ ID NO:17)

GAGGTTTCAGCTCGTTGAATCCGGAGGCGGACTCGTGAAGCCCGGAGGCAGTCTTCGCTTGTCCCTGCGC
 TGCATCTGGAGTGATCTTTAGCGATTACTATATGGCTTGGGTGAGACAGGCACCTGGGAAAGGCCTCG
 AATGGGTGGCCAGTATTAACCTCAATGCCGACATCAGTACTATCGAGAGTCTGTGAAGGGTAGATTC
 ACAATCTCACGGGATGACAGTAAGAACACACTGTACCTGCAGATGAATTCCTGAAAACCGAGGATAC
 CGCCGTTTACTATTTGTACCACTGACGCCAACAGGCAGAATTACGACTGGTTTGCCTATTTGGGGGCAGG
 GCACTCTGGTCAACGCTCTCGAGCGCTTCTACAAAGGGCCATCCGCTTCCCCCTGGCGCCCTGTCC
 AGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGAC
 GGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAG
 GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGC
 AACGTAGATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGGTGAGAGGCCAGCACAGGGAGG
 GAGGGTGTCTGCTGGAAGCCAGGCTCAGCCCTCCTGCCTGGACGCACCCCGGCTGTGCAGCCCCAGCC
 CAGGGCAGCAAGGCATGCCCCATCTGTCTCCTCACCCGGAGGCCCTTGACCACCCCACTCATGCCAG
 GGAGAGGGTCTTCTGGATTTTTCCACCAGGCTCCGGGCAGCCACAGGCTGGATGCCCCTACCCAGGC
 CCTGCGCATAACAGGGGCAGGTGCTGCGCTCAGACCTGCCAAGAGCCATATCCGGGAGGACCCCTGCCCC
 TGACCTAAGCCACCCCAAAGGCCAAACTCTCCACTCCCTCAGCTCAGACACCTTCTCTCCTCCCAGA
 TCTGAGTAACTCCCAATCTTCTCTCTGCAGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCATGCCAGGT
 AAGCCAACCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCCCTAGAGTAGCCTGCATCCAGGG
 ACAGGCCCCAGCCGGGTGCTGACGCATCCACCTCCATCTCTTCCCTCAGCACCTGAGTTCTGGGGGA
 CCATCAGTCTTCTGTTCCTCCCCCAAACCCAAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAC
 GTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGG
 AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC
 CTCACCGTCTGACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCT
 CCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGTGGGACCCACGGGGTGCAGGGGCCACATG
 GACAGAGGTCAGCTCGGCCCACCCCTCTGCCCTGGGAGTGACCGCTGTGCCAACCTCTGTCCCTACAGG
 GCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA
 GCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG
 CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAG
 GCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC
 TGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAATGA

(m) ADN que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA048_497.g2 incluyendo la secuencia señal (SEQ ID NO:18)

ATGGAATGGTCCTGGGTCTTCCTGTTTTTCTTTCTGTCAACAACCGGGTGCACAGCGAGGTTTCAGCT
 CGTTGAATCCGGAGGCGGACTCGTGAAGCCCGGAGGCAGTCTTCGCTTGTCTGCGCTGCATCTGGAG
 TGATCTTTAGCGATTACTATATGGCTTGGGTGAGACAGGCACCTGGGAAAGGCCTCGAATGGGTGGCC
 AGTATTAACCTCAATGCCGACATCAGCTACTATCGAGAGTCTGTGAAGGGTAGATTACAATCTCACG
 GGATGACAGTAAGAACACACTGTACCTGCAGATGAATTCCTGAAAACCGAGGATACCGCCGTTTACT
 ATTGTACCCTGACGCCAACAGGCAGAATTACGACTGGTTTGCTATTGGGGCAGGGCACTCTGGTC
 ACCGTCFCGAGCGCTTCTACAAAGGGCCCATCCGCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTC
 CGAGAGCACAGCCGCCCTGGGTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGGA
 ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCC
 CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCA
 CAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGGTGAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAGGGTGTCTG
 CTGGAAGCCAGGCTCAGCCCTCCTGCCTGGACGCACCCCGGCTGTGCAGCCCCAGCCAGGGCAGCAA
 GGCATGCCCATCTGTCTCCTCACCCGGAGGCCTCTGACCACCCCACTCATGCCAGGGAGAGGGTCT
 TCTGGATTTTTCCACCAGGCTCCGGGCAGCCACAGGCTGGATGCCCTACCCAGGCCCTGCGCATA
 CAGGGCAGGTGCTGCGCTCAGACCTGCCAAGAGCCATATCCGGGAGGACCTGCCCCTGACCTAAGCC
 CACCCCAAAGGCCAAACTCTCCACTCCCTCAGCTCAGACACCTTCTCTCCTCCCAGATCTGAGTAACT
 CCCAATCTTCTCTCTGCAGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCATGCCAGGTAAGCCAAACCA
 GGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGGACAGGTGCCCTAGAGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCCCCAG
 CCGGTGCTGACGCATCCACCTCCATCTTCTCCTCAGCACCTGAGTTCTTGGGGGACCATCAGTCTT
 CCTGTTCCCCCAAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGG
 TGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAAT
 GCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCT
 GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCGTCTCCA
 TCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGTGGGACCCACGGGGTGCAGGGCCACATGGACAGAGGTCA
 GCTCGGCCACCCCTCTGCCCTGGGAGTGACCGCTGTGCCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCCCCGAG
 AGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGC
 CTGGTCAAAGGC'TTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA
 CTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGG
 ACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC
 TACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

Figura 2

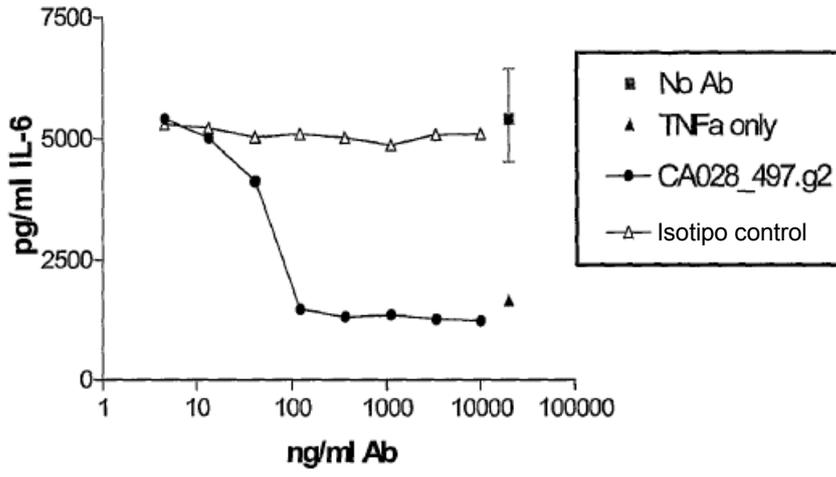


Figura 3

