

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 619 845**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/24** (2006.01)

**C12N 15/13** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61P 37/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.08.2006 PCT/US2006/033764**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.03.2007 WO07027714**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.2006 E 06802592 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017 EP 1931710**

54 Título: **Anticuerpos anti-IL-23 diseñados por ingeniería genética**

30 Prioridad:

**31.08.2005 US 713585 P**

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

**27.06.2017**

73 Titular/es:

**MERCK SHARP & DOHME CORP. (100.0%)**

**126 East Lincoln Avenue**

**Rahway, NJ 07065-0907, US**

72 Inventor/es:

**PRESTA, LEONARD, G.;**

**ORTH, PETER;**

**BEYER, BRIAN, M.;**

**LIU, YAN-HUI y**

**INGRAM, RICHARD, N.**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 619 845 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

Anticuerpos anti-IL-23 diseñados por ingeniería genética

- 5 La presente invención se refiere, en general, a anticuerpos específicos contra la interleucina-23 p19 humana (IL-23p19) según lo definido en las reivindicaciones. Más concretamente, la invención se refiere a anticuerpos humanizados que reconocen la IL-23p19 humana y modulan su actividad, en particular, en trastornos inflamatorios, autoinmunes y proliferativos.
- 10 El sistema inmune funciona protegiendo a los individuos de agentes infecciosos, por ejemplo, bacterias, organismos multicelulares y virus, así como del cáncer. Este sistema incluye varios tipos de células linfoides y mieloides tales como los monocitos, los macrófagos, las células dendríticas (CD), los eosinófilos, los linfocitos T, los linfocitos B y los neutrófilos. Estas células linfoides y mieloides suelen producir proteínas de señalización conocidas como citocinas. La respuesta inmune incluye la inflamación, es decir, la acumulación de células inmunes sistémicamente o en una
- 15 determinada ubicación del cuerpo. En respuesta a un agente infeccioso o a una sustancia foránea, las células inmunes secretan citocinas que, a su vez, modulan la proliferación, el desarrollo, la diferenciación o la migración de las células inmunes. La respuesta inmune puede producir consecuencias patológicas, por ejemplo, cuando implica una inflamación excesiva, como en los trastornos autoinmunes (véase, por ejemplo, Abbas, *et al.* (eds.) (2000) "Cellular and Molecular Immunology", W. B. Saunders Co., Filadelfia, PA; Oppenheim y Feldmann (eds.) (2001) "Cytokine referente", Academic Press, San Diego, CA; von Andrian y Mackay (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1020-1034; Davidson y Diamond (2001) *New Engl. J. Med.* 345:340-350).

25 La interleucina-12 (IL-12) es una molécula heterodimérica compuesta de las subunidades p35 y p40. Los estudios han indicado que la IL-12 desempeña un papel fundamental en la diferenciación de los linfocitos T no tratados previamente en los linfocitos T CD4<sup>+</sup> de tipo 1 auxiliares, que secretan IFN $\gamma$ . También se ha demostrado que la IL-12 es esencial para las respuestas inmunes dependientes de los linfocitos T y las respuestas inflamatorias *in vivo*. Véase, por ejemplo, Cua, *et al.* (2003) *Nature* 421:744-748. El receptor de IL-12 está compuesto de las subunidades IL-12beta1 e IL-12beta2.

30 La interleucina-23 (IL-23) es una citocina heterodimérica compuesta de dos subunidades, p19, que es única para IL-23, y p40, que está compartida con IL-12. La subunidad p19 está estructuralmente relacionada con IL-6, el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), y la subunidad p35 de IL-12. La IL-23 media la señalización uniéndose a un receptor heterodimérico, compuesto de IL-23R e IL-12 $\beta$ 1, que está compartida por el receptor de IL-12. Una serie de estudios previos demostraron que las consecuencias de una deficiencia genética en p40 (ratón con

35 p40 desactivado; ratón p40KO) eran más graves que las encontradas en un ratón p35KO. Parte de estos resultados finalmente se explicó por el descubrimiento de IL-23, y el hallazgo de que p40KO evita la expresión de IL-12, pero también de IL-23 (véase, por ejemplo, Oppmann, *et al.* (2000) *Immunity* 13:715-725; Wiekowski, *et al.* (2001) *J. Immunol.* 166:7563-7570; Parham, *et al.* (2002) *J Immunol* 168:5699-708; Frucht (2002) *Sci STKE* 2002, E1-E3; Elkins, *et al.* (2002) *Infection Immunity* 70:1936-1948).

40 Estudios recientes, a través del uso de ratones p40 KO, han demostrado que el bloqueo tanto de IL-23 como de IL-12 es un tratamiento eficaz para diversos trastornos inflamatorios y autoinmunes. Sin embargo, el bloqueo de IL-12 a través de p40 parece tener diversas consecuencias sistémicas tales como un aumento de la susceptibilidad a infecciones microbianas oportunistas.

45 La limitación más significativa en el uso de anticuerpos como agente terapéutico *in vivo* es la inmunogenicidad de los anticuerpos. Como la mayoría de los anticuerpos monoclonales se obtienen de roedores, su uso repetido en seres humanos genera una respuesta inmune contra el anticuerpo terapéutico. Dicha respuesta inmune provoca, como mínimo, una pérdida de eficacia terapéutica y, como máximo, una posible respuesta anafiláctica fatal. Los esfuerzos

50 iniciales por reducir la inmunogenicidad de los anticuerpos de roedores implicaron la producción de anticuerpos quiméricos, en los que se fusionaron regiones variables de ratón con regiones constantes humanas. Liu *et al.* (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 84:3439-43. Sin embargo, ratones inyectados con híbridos de regiones variables humanas y regiones constantes de ratón desarrollan una fuerte respuesta contra el anticuerpo dirigida contra la región variable humana, lo que sugiere que la retención de la región Fv completa de roedor en dichos anticuerpos

55 quiméricos puede seguir dando lugar a una inmunogenicidad no deseada en los pacientes.

En general, se cree que los bucles de la región determinante de la complementariedad (CDR) de los dominios variables comprenden el sitio de unión de moléculas de anticuerpo. Por lo tanto, se intentó el injerto de bucles de CDR de roedor en regiones marco conservadas humanas (es decir, la humanización) para minimizar más las

60 secuencias de roedores. Jones *et al.* (1986) *Nature* 321:522; Verhoeyen *et al.* (1988) *Science* 239:1534. Sin embargo, los intercambios de bucles de CDR todavía no producen de forma uniforme un anticuerpo con las mismas propiedades de unión que el anticuerpo de origen. También se requieren cambios en los restos de la región marco conservada (FR), los restos que participan en el soporte del bucle de CDR, en anticuerpos humanizados para conservar la afinidad de unión al antígeno. Kabat *et al.* (1991) *J. Immunol.* 147:1709. Aunque se ha informado del

65 uso de injertos de CDR y de la conservación de restos de región marco conservada en una serie de construcciones de anticuerpos humanizados, es difícil predecir si una determinada secuencia producirá el anticuerpo con la unión

deseada, y a veces, las propiedades biológicas. Véase, por ejemplo, Queen *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 86:10029, Gorman *et al.* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 88:4181, y Hodgson (1991) *Biotechnology* (NY) 9:421-5. Además, la mayoría de los estudios previos usaron diferentes secuencias humanas para las secuencias animales variables ligera y pesada, volviendo cuestionable la naturaleza predictiva de dichos estudios.

5 Se han usado secuencias de anticuerpos conocidos o, más normalmente, las de anticuerpos que tienen estructuras de rayos X conocidas, anticuerpos NEW y KOL. Véase, por ejemplo, Jones *et al.*, *supra*; Verhoeyen *et al.*, *supra*; y Gorman *et al.*, *supra*. Se ha publicado la información de secuencia exacta para unas cuantas construcciones humanizadas. La presente invención proporciona anticuerpos anti-IL23p19 diseñados por ingeniería genética y usos de los mismos para tratar trastornos inflamatorios, autoinmunes y proliferativos.

10 El documento WO 2004/081190 describe los usos de agonistas y antagonistas de IL-23, y reactivos relacionados. El documento US 6495667 describe anticuerpos IL-B30.

15 Sehy *et al.*, *FASEB Journal* Vol. 19(4), Supl. S, Parte 1, páginas A945-A946, describe la detección inequívoca de la proteína IL-23 (p19/p40) en muestras nativas usando un nuevo ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas. El documento WO 2005/052157 describe IL-23 y su receptor, y reactivos y métodos relacionados. Rudikoff *et al.*, *PNAS* USA, marzo de 1982, Vol. 79, páginas 1979-1983, describe la sustitución de un solo aminoácido que altera la especificidad de unión al antígeno.

20 Chen *et al.*, *J. Clin. Investigation*, Vol. 116(5), mayo de 2006, páginas 1317-1326, informa que la terapia anti-IL-23 inhibe múltiples vías inflamatorias y mejora la encefalomielititis autoinmune.

#### Breve descripción de las figuras

25 Las Figuras 1A-1C muestran comparaciones de secuencias de dominio variable de cadena pesada de clones de anticuerpo anti-IL-23p19 humana de ratón. Se indican las CDR, así como las secuencias consenso de las CDR, para los clones 7G10, 6H12, 13F11, 13B5, 7E2, 13G1, 11C10, 1E10, 30F11, 34E4, 5B12, 6H4, 9C9, 11B10, 30E1, 33D2, 20A9, 22E9, 29D5, 21A10, 33B12, 10H11, 19E9, 10G8, 3D7, 39G2, 35F12, 49A10, 34F9 y 7D7.

30 Figuras 2A-2C muestran comparaciones de secuencias de dominio variable de cadena ligera de clones de anticuerpo anti-IL-23p19 humana de ratón. Se indican las CDR para los clones 7G10, 6H12, 13F11, 13B5, 7E2, 13G1, 11C10, 1E10, 30F11, 34E4, 5B12, 6H4, 9C9, 11B10, 33D2, 20A9, 22E9, 29D5, 21A10, 33B12, 10H11, 19E9, 10G8, 3D7, 39G2, 35F12, 49A10, 34F9 y 7D7. No se proporciona ninguna secuencia de dominio variable de cadena ligera para el clon 30E1. Se proporcionan las secuencias consenso para cada una de las tres subfamilias de las secuencias de CDR de cadena ligera, denominadas en el presente documento subfamilias de cadena ligera (a), (b) y (c). Estas subfamilias de secuencias se representan de arriba abajo en las FIG. 2A-2C.

35

#### Sumario de la invención

40 La presente invención (como se define en las reivindicaciones) se basa en la observación de que el bloqueo de IL-23 inhibe la inflamación, la autoinmunidad y la proliferación anómala.

45 La presente divulgación engloba un compuesto de unión, tal como un anticuerpo o fragmento del mismo, incluyendo anticuerpos recombinantes humanizados o quiméricos, que se une a IL-23p19 humana, que comprende al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo, o un fragmento de unión del mismo, que tiene al menos una, dos o tres CDR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 81-89. El compuesto de unión definido en el presente documento puede comprender un dominio variable de cadena ligera que comprende al menos una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 81-83 y al menos una CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 84-86 y al menos una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 87-89.

50 El compuesto de unión puede comprender al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo, o un fragmento de unión del mismo, que tiene al menos una, dos o tres CDR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 78-80.

55 El compuesto de unión puede comprender una región de marco conservada, en la que la secuencia de aminoácidos de la región de marco conservada es la totalidad o esencialmente la totalidad de una secuencia de aminoácidos de inmunoglobulina humana.

60 El compuesto de unión definido en el presente documento puede comprender al menos una, dos o tres CDR de cadena ligera que tienen la secuencia de SEQ ID NO: 81-89 u, opcionalmente, una variante de la misma. El compuesto de unión puede comprender al menos una, dos o tres CDR de cadena pesada que tienen la secuencia de SEQ ID NO: 78-80 u, opcionalmente, una variante de la misma. La variante puede comprender hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más modificadas restos de aminoácidos modificados de forma conservativa respecto a la secuencia de las respectivas SEQ ID NO. Las sustituciones de aminoácidos conservativas se proporcionan en la Tabla 1.

65 El compuesto de unión puede comprender al menos una región variable de cadena ligera de anticuerpo, o fragmento

de unión del mismo, que tenga al menos una, dos o tres CDR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 69-77. El compuesto de unión definido en el presente documento puede comprender un dominio variable de cadena ligera que comprende al menos una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 69-71 y al menos una CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 72-74 y al menos una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 75-77. El compuesto de unión puede comprender al menos una región variable de cadena pesada de anticuerpo, o un fragmento de unión del mismo, que tenga al menos una, dos o tres CDR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 66-68.

El compuesto de unión definido en el presente documento puede comprender al menos una, dos o tres CDR de cadena ligera que tienen la secuencia de SEQ ID NO: 69-77 o una variante de la misma. El compuesto de unión definido en el presente documento puede comprender un dominio variable de cadena ligera que comprende al menos una CDRL1 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 69-71 o una variante de la misma, y al menos una CDRL2 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 72-74 o una variante de la misma, y al menos una CDRL3 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 75-77 o una variante de la misma. El compuesto de unión definido en el presente documento puede comprender al menos una, dos o tres CDR de cadena pesada que tienen la secuencia de SEQ ID NO: 66-68 o una variante de la misma. La variante puede comprender hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más restos de aminoácidos modificados de forma conservativa con respecto a la secuencia de las respectivas SEQ ID NO.

En una realización, la invención proporciona un anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, según lo definido en las reivindicaciones, en el que el anticuerpo de la presente invención comprende una CDRL1, una CDRL2 y una CDRL3 que consiste en los restos 43-53, 69-75 y 108-116 de SEQ ID NO: 4, respectivamente; y una CDRH1, una CDRH2 y una CDRH3 que consiste en los restos 45-54, 69-85 y 118-123 de SEQ ID NO: 3, respectivamente.

En una realización de la invención, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, según lo definido en las reivindicaciones, comprende un dominio variable de cadena ligera de anticuerpo, o un fragmento de unión del mismo, que comprende la secuencia de los restos 20-129 de SEQ ID NO: 4, o una variante de la misma; y un dominio variable de cadena pesada de anticuerpo, o un fragmento de unión del mismo, que comprende la secuencia de los restos 20-134 de SEQ ID NO: 3, o una variante de la misma; comprendiendo la variante hasta 20 sustituciones de aminoácidos modificadas de forma conservativa. En diversas realizaciones, la variante comprende hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 o 20 restos de aminoácido modificados de forma conservativa con respecto a la secuencia de las respectivas SEQ ID NO.

El compuesto de unión puede comprender una cadena ligera de anticuerpo, o consistir esencialmente en, la secuencia de la forma madura (restos 20-233) de la SEQ ID NO: 2 o 4. El compuesto de unión puede comprender una cadena pesada de anticuerpo, o consistir esencialmente en, la secuencia de la forma madura (restos 20-464) de la SEQ ID NO: 1 o 3.

El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la presente invención se une a IL-23p19 humana (SEQ ID NO: 29) a un epítipo que comprende los restos 82-95 o los restos 133-140, o ambos. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención se une a un epítipo que comprende los restos E82, G86, S87, D88, T91, G92, E93, P94, S95, H106, P133, S134, Q135, P136, W137, R139 y L140 de SEQ ID NO:20. El epítipo comprende opcionalmente los restos K83, F90 y L110. El epítipo para un anticuerpo de interés se puede determinar mediante la obtención de una estructura cristalina de rayos X de un complejo de anticuerpo:antígeno y la determinación de qué restos en IL-23p19 están dentro de una distancia especificada de los restos sobre el anticuerpo de interés, siendo la distancia especificada, por ejemplo, 4 Å o 5 Å. El epítipo se puede definir como un tramo de 8 o más restos de aminoácidos contiguos a lo largo de la secuencia de IL-23p19 en la que al menos el 50 %, 70 % o 85 % de los restos está dentro de la distancia especificada del anticuerpo.

La divulgación proporciona un compuesto de unión que se une a IL-23 humana y tiene un dominio variable de cadena ligera ( $V_L$ ) con al menos un 95 %, 90 %, 85 %, 80 %, 75 % o 50 % de homología de secuencia con los restos 20-129 de SEQ ID NO: 2 o 4. La divulgación proporciona un compuesto de unión que se une a la IL-23 humana y tiene un dominio variable de cadena pesada ( $V_H$ ) con al menos un 95 %, 90 %, 85 %, 80 %, 75 % o 50 % de homología de secuencia con los restos 20-134 de SEQ ID NO: 1 o 3.

El compuesto de unión puede comprender, o consistir esencialmente en, un anticuerpo que tiene una cadena ligera que tiene la secuencia de la forma madura (es decir, los restos 20 a 233) de SEQ ID NO: 2 o 4. El compuesto de unión puede comprender, o consistir esencialmente en, un anticuerpo que tiene una cadena pesada que tiene la secuencia de la forma madura (es decir, los restos 20 a 464) de SEQ ID NO: 1 o 3.

La divulgación se refiere a anticuerpos que son capaces de bloquear la unión de un compuesto de unión de la presente invención a la IL-23 humana en un ensayo de bloqueo cruzado. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención bloquea la actividad mediada por IL-23, incluyendo dichas actividades, pero sin limitación, la unión a su receptor o la promoción de la proliferación o la supervivencia de las células  $T_H17$ .

En algunas realizaciones de la presente invención, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de la presente invención comprende además una región constante de cadena pesada humana  $\gamma 1$  o  $\gamma 4$ . La divulgación también proporciona una región constante de cadena pesada humana  $\gamma 2$  o  $\gamma 3$  o una variante de la misma. La región constante de cadena ligera puede comprender una región constante de cadena ligera humana  $\lambda$  o  $\kappa$ .

Los compuestos de unión desvelados en el presente documento pueden ser anticuerpos policlonales, monoclonales, quiméricos, humanizados o completamente humanos, o sus fragmentos. La presente invención contempla que el fragmento de anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en Fab, Fab', Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')<sub>2</sub> y un diacuerpo.

La presente divulgación engloba un método de supresión de una respuesta inmune en un sujeto humano que comprende administrar a un sujeto que lo necesita un anticuerpo (o un fragmento de unión del mismo) específico de IL-23 en una cantidad eficaz para bloquear la actividad biológica de IL-23. El anticuerpo específico de IL-23 puede ser el anticuerpo humanizado o quimérico. La respuesta inmune puede ser una respuesta inflamatoria que incluye la artritis, soriasis y enfermedad inflamatoria del intestino. La respuesta inmune puede ser una respuesta autoinmune, incluyendo esclerosis múltiple, uveítis, lupus eritematoso sistémico y diabetes. La respuesta inmune puede ser cáncer.

La presente divulgación también contempla la administración de un agente inmunosupresor o antiinflamatorio adicional. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de la presente invención pueden estar en una composición que comprenda el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. En una realización adicional, la composición comprende además un agente inmunosupresor o antiinflamatorio.

La presente invención engloba un ácido nucleico aislado según lo definido en las reivindicaciones que codifica la secuencia polipeptídica de un anticuerpo de la presente invención. El ácido nucleico puede estar en un vector de expresión unido operativamente a secuencias de control reconocidas por una célula hospedadora transfectada con el vector. También se engloba una célula hospedadora que comprende el vector, y un método de producción de un polipéptido que comprende cultivar la célula hospedadora en condiciones en las que la secuencia de ácido nucleico se expresa, produciendo de esta manera el polipéptido, y recuperar el polipéptido de la célula hospedadora o del medio.

En diversas realizaciones, la divulgación se refiere a medicamentos que comprenden los compuestos de unión de la presente invención.

### Descripción detallada

Como se usa en el presente documento, incluyendo las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular de palabras tales como "un", "una", "ella" y "el" incluyen sus correspondientes referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. La Tabla 7 que se presenta más adelante proporciona un listado de los identificadores de secuencia usados en la presente memoria descriptiva.

#### I. Definiciones

Los términos "activación", "estimulación" y "tratamiento", aplicados a células o a receptores, pueden tener el mismo significado, por ejemplo, la activación, la estimulación o el tratamiento de una célula o receptor con un ligando, a menos que se indique lo contrario por la contexto o de manera explícita. El término "ligando" engloba ligandos naturales y sintéticos, por ejemplo, citocinas, variantes de citocina, análogos, muteínas y composiciones de unión derivadas de anticuerpos. El término "ligando" también engloba moléculas pequeñas, por ejemplo, miméticos peptídicos de citocinas y miméticos peptídicos de anticuerpos. El término "activación" puede referirse a la activación de células regulada por mecanismos internos, así como por factores externos o ambientales. El término "respuesta", por ejemplo, de una célula, de un tejido, de un órgano o de un organismo, engloba un cambio en el comportamiento bioquímico o fisiológico, por ejemplo, concentración, densidad, adhesión o migración dentro de un compartimento biológico, velocidad de expresión génica o estado de diferenciación, donde el cambio se correlaciona con la activación, la estimulación o el tratamiento, o con mecanismos internos tales como la programación genética.

La "actividad" de una molécula puede describir o referirse a la unión de la molécula a un ligando o a un receptor, para la actividad catalítica; a la capacidad de estimular la expresión génica o la señalización celular, la diferenciación o la maduración; a la actividad antigénica, a la modulación de actividades de otras moléculas y similares. La "actividad" de una molécula puede referirse también a la actividad en la modulación o el mantenimiento de interacciones de célula a célula, por ejemplo, adhesión o actividad en el mantenimiento de una estructura de una célula, por ejemplo, membranas celulares o citoesqueleto. El término "actividad" también puede significar una actividad específica, por ejemplo, [actividad catalítica]/[mg de proteína] o [actividad inmunológica]/[mg de proteína], concentración en un compartimento biológico o similares. La expresión "actividad proliferativa" engloba una actividad que potencia, que es necesaria para o que se asocia específicamente con, por ejemplo, la división celular normal,

así como cáncer, tumores, displasia, transformación celular, metástasis y angiogénesis.

Los términos "administración" y "tratamiento", aplicados a un animal, un ser humano, un sujeto experimental, una célula, un tejido, un órgano o un fluido biológico, se refiere al contacto de una composición o de un agente exógeno farmacéutico, terapéutico, de diagnóstico con el animal, ser humano, sujeto, célula, tejido, órgano o fluido biológico. Los términos "administración" y "tratamiento" pueden referirse, por ejemplo, a métodos terapéuticos, farmacocinéticos, de diagnóstico, de investigación y experimentales. El tratamiento de una célula engloba el contacto de un reactivo con la célula, así como el contacto de un reactivo con un fluido, donde el fluido está en contacto con la célula. Los términos "administración" y "tratamiento" también significan tratamientos *in vitro* y *ex vivo*, por ejemplo, de una célula, mediante una composición reactiva, de diagnóstico, de unión, o mediante otra célula. El término "tratamiento", aplicado a un ser humano, sujeto veterinario o de investigación, se refiere al tratamiento terapéutico, profiláctico o medidas preventivas, para aplicaciones de investigación y de diagnóstico. El término "tratamiento" aplicado a un ser humano, sujeto veterinario o de investigación, o célula, tejido u órgano, engloba el contacto de un agonista de IL-23 o antagonista de IL-23 con un ser humano o un animal, una célula, un tejido, un compartimiento fisiológico o un fluido fisiológico. La expresión "tratamiento de una célula" también engloba situaciones en las que el agonista de IL-23 o antagonista de IL-23 entra en contacto con el receptor de IL-23 (heterodímero IL-23R/IL-12Rbeta1), por ejemplo, en la fase fluida o fase coloidal, pero también situaciones en las que el agonista o antagonista no entra en contacto con la célula o el receptor.

Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo" se refiere a cualquier forma de anticuerpo o fragmento del mismo que presente la actividad biológica deseada. Así pues, se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente anticuerpos monoclonales (incluyendo anticuerpos monoclonales de longitud completa), anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpos siempre que presenten la actividad biológica deseada.

Como se usan en el presente documento, las expresiones "fragmento de unión a IL-23p19" o "fragmento de unión del mismo" engloban un fragmento o un derivado de un anticuerpo que todavía conserva esencialmente su actividad biológica de inhibición de la actividad de IL-23p19. Por lo tanto, la expresión "fragmento de anticuerpo" o fragmento de unión a IL-23p19 se refiere a una parte de un anticuerpo de longitud completa, en general, la región variable o de unión al antígeno del mismo. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo monocatenario, por ejemplo, sc-Fv; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos. Por lo general, un fragmento de unión o derivado conserva al menos el 10 % de su actividad inhibitoria de IL-23p19. Preferentemente, un fragmento de unión o derivado conserva al menos el 25 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o 100 % (o más) de su actividad inhibitoria de IL-23p19, aunque será útil cualquier fragmento de unión con suficiente afinidad para ejercer el efecto biológico deseado. También se pretende que un fragmento de unión a IL-23p19 pueda incluir sustituciones conservativas de aminoácidos que no alteren esencialmente su actividad biológica.

La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos esencialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos a excepción de posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son muy específicos, estando dirigidos contra un único epítipo antigénico. Por el contrario, los preparados de anticuerpos convencionales (policlonales) normalmente incluyen una multitud de anticuerpos dirigidos contra (o específicos de) diferentes epítopos. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como obtenido de una población esencialmente homogénea de anticuerpos, y no debe entenderse como que requiere la producción del anticuerpo mediante ningún método en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se van a usar de acuerdo con la presente invención pueden prepararse mediante el método de hibridoma, descrito por primera vez por Kohler *et al.* (1975) *Nature* 256: 495, o pueden prepararse mediante métodos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 4.816.567). Los "anticuerpos monoclonales" también pueden aislarse de bibliotecas de anticuerpos de fagos usando las técnicas descritas en Clackson *et al.*, (1991) *Nature* 352: 624-628 y Marks *et al.*, (1991) *J. Mol. Biol.* 222: 581-597, por ejemplo.

Los anticuerpos monoclonales del presente documento incluyen específicamente anticuerpos (inmunoglobulinas) "quiméricos" en los que una parte de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una determinada especie o que pertenece a una determinada clase o subclase del anticuerpo, mientras que el resto de la/s cadena/s es idéntico u homólogo a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenece a otra clase o subclase de anticuerpo, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que muestren la actividad biológica deseada (patente de EE.UU. n.º 4.816.567; y Morrison *et al.*, (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci.* EE.UU. 81: 6851-6855).

Un "anticuerpo de dominio" es un fragmento de inmunoglobulina inmunológicamente funcional que solo contiene la región variable de una cadena pesada o la región variable de una cadena ligera. En algunos casos, se unen covalentemente dos o más regiones de V<sub>H</sub> con un enlazador peptídico para crear un anticuerpo de dominio bivalente. Las dos regiones de V<sub>H</sub> de un anticuerpo de dominio bivalente pueden dirigirse a los mismos o a diferentes antígenos.

Un "anticuerpo bivalente" comprende dos sitios de unión al antígeno. En algunos casos, los dos sitios de unión tienen las mismas especificidades de antígeno. Sin embargo, los anticuerpos bivalentes pueden ser biespecíficos (véase más adelante).

5 Como se usa en el presente documento, la expresión anticuerpo "Fv monocatenario" o "scFv" se refiere a fragmentos de anticuerpo que comprenden los dominios  $V_H$  y  $V_L$  del anticuerpo, estando estos dominios presentes en una sola cadena polipeptídica. En general, el polipéptido Fv puede comprender además un enlazador polipeptídico entre los dominios  $V_H$  y  $V_L$ , que hace posible que el sFv forme la estructura deseada para la unión al antígeno. Para una revisión de sFv, véase Pluckthun (1994) "THE PHARMACOLOGY OF MONOCLONAL  
10 ANTIBODIES", vol. 113, Rosenberg y Moore eds. Springer-Verlag, Nueva York, pág. 269-315.

Los anticuerpos monoclonales del presente documento también incluyen anticuerpos camélidos de un solo dominio. Véase, por ejemplo, Muyldermans *et al.* (2001) *Trends Biochem. Sci.* 26:230; Reichmann *et al.* (1999) *J. Immunol. Methods* 231:25; documento WO 94/04678; documento WO 94/25591; patente de EE.UU. n.º 6.005.079). En una  
15 realización, la presente divulgación proporciona anticuerpos de un solo dominio que comprenden dos dominios  $V_H$  con modificaciones de modo que se forman anticuerpos de un solo dominio.

Como se usa en el presente documento, el término "diacuerpos" se refiere a fragmentos de anticuerpo pequeños con dos sitios de unión al antígeno, comprendiendo dichos fragmentos un dominio variable de cadena pesada ( $V_H$ ) conectado a un dominio variable de cadena ligera ( $V_L$ ) en la misma cadena polipeptídica ( $V_H-V_L$  o  $V_L-V_H$ ). Usando un enlazador que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, se fuerza a los dominios a emparejarse con los dominios complementarios de otra cadena y a crear dos sitios de unión al antígeno. Los diacuerpos se describen más completamente en, por ejemplo, el documento EP 404.097; el documento WO 93/11161; y Holliger *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 90: 6444-6448. Para una revisión de  
20 variantes de anticuerpo diseñadas por ingeniería genética, véase, en general, Holliger y Hudson (2005) *Nat. Biotechnol.* 23:1126-1136.

Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo humanizado" se refiere a formas de anticuerpos que contienen secuencias de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos), así como anticuerpos humanos. Dichos anticuerpos contienen la secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá esencialmente todo de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables, en los que todos o esencialmente todos los bucles hipervariables corresponden a los de una inmunoglobulina no humana, y todas o esencialmente todas las regiones FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado opcionalmente comprenderá al menos una parte de una región constante (Fc) de inmunoglobulina, normalmente la de una inmunoglobulina humana. El prefijo "hum" se añade a las denominaciones del clon de anticuerpo cuando es necesario distinguir los anticuerpos humanizados (por ejemplo, hum6H12) de los anticuerpos parentales de roedor (por ejemplo, 6H12 de ratón o "m6H12"). Las formas humanizadas de anticuerpos de roedor, en general, comprenderán las mismas secuencias de CDR de los anticuerpos parentales de roedor, aunque pueden incluirse ciertas sustituciones de aminoácidos para aumentar la afinidad o aumentar la estabilidad del anticuerpo humanizado.  
30  
35  
40

Los anticuerpos desvelados en el presente documento también incluyen anticuerpos con regiones Fc modificadas (o bloqueadas) para proporcionar funciones efectoras alteradas. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 5.624.821; el documento W02003/086310; el documento W02005/120571; el documento W02006/0057702; Presta (2006) *Adv. Drug Delivery Rev.* 58:640-656. Dicha modificación se puede usar para potenciar o suprimir diversas reacciones del sistema inmune, con posibles efectos beneficiosos en el diagnóstico y la terapia. Las alteraciones de la región Fc incluyen cambios de aminoácidos (sustituciones, eliminaciones e inserciones), glucosilación o desglucosilación, y la adición de múltiples Fc. Los cambios en Fc también pueden alterar la semivida de los anticuerpos en anticuerpos terapéuticos, y una semivida más larga provocaría una dosificación menos frecuente, con el aumento concomitante de la comodidad y la reducción del uso de material. Véase, Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731 a 734-35.  
45  
50

La expresión "anticuerpo completamente humano" se refiere a un anticuerpo que solo comprende secuencias de la proteína inmunoglobulina humana. Un anticuerpo completamente humano puede contener cadenas murinas de hidrato de carbono si se produce en un ratón, en una célula de ratón o en un híbrido derivado de una célula de ratón. Asimismo, "anticuerpo de ratón" se refiere a un anticuerpo que solo comprende secuencias de inmunoglobulina de ratón.  
55

Como se usa en el presente documento, la expresión "región hipervariable" se refiere a los restos de aminoácido de un anticuerpo que son responsables de la unión al antígeno. La región hipervariable comprende los restos de aminoácido de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (por ejemplo, los restos 24-34 (CDRL1), 50-56 (CDRL2) y 89-97 (CDRL3) del dominio variable de cadena ligera y los restos 31-35 (CDRH1), 50-65 (CDRH2) y 95-102 (CDRH3) del dominio variable de cadena pesada (Kabat *et al.*, (1991) "Sequences of Proteins of Immunological Interest", 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.)) y/o los restos de un "bucle hipervariable" (es decir, los restos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) del dominio variable de cadena ligera y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) del dominio variable de cadena pesada (Chotia y Lesk (1987) *J. Mol.*  
60  
65

*Biol.* 196: 901-917)). Como se usa en el presente documento, la expresión restos "de región marco conservada" o "FR" se refiere a aquellos restos del dominio variable diferentes de los restos de la región hipervariable definidos en el presente documento como restos de CDR. La numeración de los restos anterior se refiere al sistema de numeración de Kabat y no corresponde necesariamente en detalle a la numeración de secuencias del listado de secuencias adjunto.

La expresión "compuesto de unión" se refiere a una molécula, molécula pequeña, macromolécula, polipéptido, anticuerpo o fragmento o análogo del mismo, o receptor soluble, capaz de unirse a una diana. "Compuesto de unión" también puede referirse a un complejo de moléculas, por ejemplo, un complejo no covalente, a una molécula ionizada y a una molécula modificada covalente o no covalentemente, por ejemplo, modificada por fosforilación, acilación, reticulación, ciclación o escisión limitada, que es capaz de unirse a una diana. Cuando se usa con referencia a anticuerpos, la expresión "compuesto de unión" se refiere tanto a anticuerpos como a fragmentos de unión al antígeno de los mismos. "Unión" se refiere a una asociación de la composición de unión con una diana, donde la asociación genera la reducción en el movimiento browniano normal de la composición de unión, en casos en los que la composición de unión pueda disolverse o suspenderse en solución. "Composición de unión" se refiere a una molécula, por ejemplo, un compuesto de unión, en combinación con un estabilizador, excipiente, sal, tampón, disolvente o aditivo, capaz de unirse a una diana.

Las expresiones "variantes modificadas de forma conservativa" o "sustitución conservativa" se refieren a sustituciones de aminoácidos conocidas por los expertos en la materia y que pueden realizarse, en general, sin alterar la actividad biológica de la molécula resultante. Los expertos en la materia reconocen que, en general, las sustituciones de un solo aminoácido en regiones no esenciales de un polipéptido no alteran esencialmente la actividad biológica (véase, por ejemplo, Watson, *et al.*, "Molecular Biology of the Gene", The Benjamin/Cummings Pub. Co., pág. 224 (4ª edición 1987)). Dichas sustituciones ilustrativas se realizan preferentemente de acuerdo con las expuestas en la siguiente Tabla 1:

Tabla 1

Sustituciones conservativas ilustrativas de aminoácidos	
Resto original	Sustitución conservativa
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp(D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
He (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; He; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	He; Leu

La expresión "consiste esencialmente en", o las variaciones tales como "consisten esencialmente en" o "que consiste esencialmente en", como se usan a lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones, indica la inclusión de cualquier elemento o grupo de elementos citados, y la inclusión opcional de otros elementos, de naturaleza similar o diferente a la de los elementos citados, que no cambia sustancialmente las propiedades básicas o nuevas de la pauta de dosificación, del método o de la composición especificados. Como ejemplo no limitante, un compuesto de unión que consiste esencialmente en una secuencia de aminoácidos indicada también puede incluir uno o más aminoácidos, incluyendo sustituciones de uno o más restos de aminoácidos, que no afectan de forma material a las propiedades del compuesto de unión.

La expresión "cantidad eficaz" engloba una cantidad suficiente para mejorar o prevenir un síntoma o signo de la afección médica. Cantidad eficaz también significa una cantidad suficiente para permitir o facilitar el diagnóstico. Una cantidad eficaz para un determinado paciente o sujeto veterinario puede variar dependiendo de factores tales como la afección que se esté tratando, el estado de salud global del paciente, el método, la vía y la dosis de administración, y la gravedad de los efectos secundarios (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 5.888.530, expedida a Netti *et al.*). Una cantidad eficaz puede ser la dosis máxima o el protocolo de dosificación que evite los

- efectos secundarios o efectos tóxicos significativos. El efecto provocará una mejora de una medición o de un parámetro de diagnóstico en al menos un 5 %, habitualmente en al menos un 10 %, más habitualmente en al menos un 20 %, lo más habitualmente en al menos un 30 %, preferentemente en al menos un 40 %, más preferentemente en al menos un 50 %, lo más preferentemente en al menos un 60 %, lo ideal en al menos un 70 %, más ideal en al menos un 80 % y lo más ideal en al menos un 90 %, definiéndose el 100 % como el parámetro de diagnóstico mostrado por un sujeto normal (véase, por ejemplo, Maynard, *et al.* (1996) "A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice", Interpharm Press, Boca Raton, FL; Dent (2001) Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., Londres, RU).
- El término "exógeno" se refiere a sustancias que se producen fuera de un organismo, de una célula o de un cuerpo humano, dependiendo del contexto. El término "endógeno" se refiere a sustancias que se producen dentro de una célula, de un organismo o de un cuerpo humano, dependiendo del contexto.
- Las expresiones "afección inmune" o "trastorno inmune" engloban, por ejemplo, inflamación patológica, un trastorno inflamatorio, y un trastorno o una enfermedad autoinmune. La "afección inmune" también se refiere a infecciones, infecciones persistentes y afecciones proliferativas, tales como cáncer, tumores y angiogénesis, incluyendo infecciones, tumores y cánceres que resisten a ser erradicados por el sistema inmune. La expresión "afección cancerosa" incluye, por ejemplo, cáncer, células cancerosas, tumores, angiogénesis y afecciones precancerosas tales como la displasia.
- La expresión "trastorno inflamatorio" significa un trastorno o una afección patológica en el que la patología se produce, en conjunto o en parte, por, por ejemplo, un cambio en la cantidad, un cambio en la velocidad de migración o un cambio en la activación de las células del sistema inmune. Las células del sistema inmune incluyen, por ejemplo, linfocitos T, linfocitos B, monocitos o macrófagos, células presentadoras de antígeno (APC), células dendríticas, microglia, linfocitos NK, linfocitos NKT, neutrófilos, eosinófilos, mastocitos o cualquier otra célula asociada específicamente con la inmunología, por ejemplo, células endoteliales o epiteliales productoras de citocinas.
- Una "célula productora de IL-17" significa un linfocito T que no es un linfocito T de tipo TH1 clásica o linfocito T de tipo TH2 clásico, conocido como linfocitos TH17. Los linfocitos TH17 se tratan en mayor detalle en Cua y Kastelein (2006) *Nat. Immunol.* 7:557-559; Tato y O'Shea (2006) *Nature* 441:166-168; Iwakura e Ishigame (2006) *J. Clin. Invest.* 116:1218-1222. La expresión "célula productora de IL-17" también significa un linfocito T que expresa un gen o un polipéptido de la Tabla 10B de la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n.º 2004/0219150 (por ejemplo, proteína P sensible a mitógenos; ligando quimiocina 2; interleucina-17 (IL-17); factor de transcripción RAR relacionado; y/o supresor de la señalización de citocinas 3), donde la expresión con tratamiento mediante un agonista de IL-23 es superior que con el tratamiento con un agonista de IL-12, donde "superior a" se define a continuación. La expresión con un agonista de IL-23 es habitualmente al menos 5 veces superior, normalmente al menos 10 veces superior, más normalmente al menos 15 veces superior, lo más normalmente al menos 20 veces superior, preferentemente al menos 25 veces superior y lo más preferentemente al menos 30 veces superior, que con tratamiento con IL-12. La expresión se puede medir, por ejemplo, con el tratamiento de una población de células productoras de IL-17 esencialmente puras.
- Además, la expresión "célula productora de IL-17" incluye una célula progenitora o precursora que está comprometida, en una vía de desarrollo celular o diferenciación celular, a diferenciarse en una célula productora de IL-17, como se ha definido anteriormente. Una célula progenitora o precursora a la célula productora de IL-17 puede encontrarse en un ganglio linfático de drenaje (DLN). Además, "célula productora de IL-17" engloba una célula productora de IL-17, como se ha definido anteriormente, que, por ejemplo, se ha activado, por ejemplo, mediante un éster de forbol, ionóforo y/o carcinógeno, se ha diferenciado además, almacenado, congelado, desecado, inactivado, degradado parcialmente, por ejemplo, por apoptosis, proteólisis u oxidación lipídica, o modificado, por ejemplo, mediante tecnología recombinante.
- Como se usa en el presente documento, la expresión "molécula de ácido nucleico aislada" se refiere a una molécula de ácido nucleico que está identificada y separada de al menos una molécula de ácido nucleico contaminante con la que está habitualmente asociada en la fuente natural del ácido nucleico del anticuerpo. Una molécula de ácido nucleico aislada es diferente de la forma o del entorno en que se encuentra en la naturaleza. Las moléculas de ácido nucleico aisladas, por lo tanto, se distinguen de la molécula de ácido nucleico que existe en células naturales. Sin embargo, una molécula de ácido nucleico aislada incluye una molécula de ácido nucleico contenida en células que expresan habitualmente el anticuerpo donde, por ejemplo, la molécula de ácido nucleico está en una ubicación cromosómica diferente de la de células naturales.
- La expresión "secuencias de control" se refiere a secuencias de ADN necesarias para la expresión de una secuencia codificante unida operativamente en un determinado organismo hospedador. Las secuencias de control que son adecuadas para procariontes incluyen, por ejemplo, un promotor, opcionalmente, una secuencia operadora y un sitio de unión al ribosoma. Se sabe que las células eucariotas utilizan promotores, señales de poliadenilación y potenciadores.

Un ácido nucleico está "unido operativamente" cuando se sitúa en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, el ADN para una presecuencia o líder de secreción está unido operativamente al ADN para un polipéptido si se expresa como una preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o potenciador está unido operativamente a una secuencia codificante si afecta a la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión al ribosoma está unido operativamente a una secuencia codificante si está situado de modo que facilite la traducción. En general, "unido operativamente" significa que las secuencias de ADN que se están uniendo son contiguas y, en el caso de un líder de secreción, contiguas y en fase de lectura. Sin embargo, los potenciadores no tienen que estar contiguos. La unión se consigue mediante enlace en sitios de restricción convenientes. Si dichos sitios no existen, se usan adaptadores o enlazadores oligonucleotídicos sintéticos de acuerdo con la práctica convencional.

Como se usan en el presente documento, el término "célula", y las expresiones "línea celular" y "cultivo celular" se usan indistintamente y la totalidad de dichas denominaciones incluye la descendencia. Así pues, el término "transformantes" y la expresión "células transformadas" incluyen la célula diana primaria y cultivos derivados a partir de la misma independientemente del número de transferencias. También se entiende que toda la descendencia puede no ser exactamente idéntica en el contenido de ADN, debido a mutaciones deliberadas o inadvertidas. Se incluye la descendencia mutante que tiene la misma función o actividad biológica determinada en la célula originalmente transformada. Cuando se pretendan usar denominaciones distintas, quedará claro a partir del contexto.

Como se usa en el presente documento, "reacción en cadena de la polimerasa" o "PCR" se refiere a un procedimiento o a una técnica en los que cantidades insignificantes de un fragmento específico de ácido nucleico, ARN y/o ADN, se amplifican como se describe en, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 4.683.195. En general, se tiene que disponer de la información de secuencia de los extremos de la región de interés o más allá, de modo que puedan diseñarse cebadores oligonucleotídicos; estos cebadores serán idénticos o similares en secuencia a las cadenas opuestas del molde que se vaya a amplificar. Los nucleótidos del extremo 5' de los dos cebadores pueden coincidir con los extremos del material amplificado. La PCR se puede usar para amplificar secuencias específicas de ARN, secuencias específicas de ADN de un ADN genómico total, y ADNc transcrito a partir de un ARN celular total, secuencias bacteriófagas o plasmídicas, etc. Véase, en líneas generales, Mullis *et al.* (1987) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 51:263; Erlich, ed., (1989) PCR TECHNOLOGY (Stockton Press, N.Y.) Como se usa en el presente documento, se considera que la PCR es un ejemplo, aunque no el único, de un método de reacción de la polimerasa del ácido nucleico para amplificar una muestra de ensayo de ácido nucleico que comprende el uso de un ácido nucleico conocido como cebador y una polimerasa de ácido nucleico para amplificar o generar una parte específica de ácido nucleico.

Como se usa en el presente documento, la expresión "secuencia de línea germinal" se refiere a una secuencia de secuencias de ADN de inmunoglobulina no reordenada. Se puede usar cualquier fuente adecuada de inmunoglobulina no reordenada.

Los términos "inhibidores" y "antagonistas" o "activadores" y "agonistas" se refieren a moléculas inhibitoras o activadoras, respectivamente, por ejemplo, para la activación de, por ejemplo, un ligando, receptor, cofactor, un gen, célula, tejido u órgano. Un modulador de, por ejemplo, un gen, un receptor, un ligando o una célula, es una molécula que altera una actividad del gen, receptor, ligando o célula, donde la actividad se puede activar, inhibir o alterar en sus propiedades reguladoras. El modulador puede actuar solo o puede usar un cofactor, por ejemplo, una proteína, ión metálico o molécula pequeña. Los inhibidores son compuestos que reducen, bloquean, previenen, retrasan la activación, inactivan, desensibilizan o regulan negativamente, por ejemplo, un gen, una proteína, un ligando, un receptor o una célula. Los activadores son compuestos que aumentan, activan, facilitan, potencian la activación, sensibilizan o regulan positivamente, por ejemplo, un gen, una proteína, un ligando, un receptor o una célula. Un inhibidor también puede definirse como una composición que reduce, bloquea o inactiva una actividad constitutiva. Un "agonista" es un compuesto que interacciona con una diana para causar o promover un aumento en la activación de la diana. Un "antagonista" es un compuesto que se opone a las acciones de un agonista. Un antagonista evita, reduce, inhibe o neutraliza la actividad de un agonista. Un antagonista también puede prevenir, inhibir o reducir la actividad constitutiva de una diana, por ejemplo, un receptor diana, incluso cuando no hay agonista identificado.

Para examinar el grado de inhibición, por ejemplo, se tratan muestras o ensayos que comprenden, por ejemplo, una proteína, un gen, una célula o un organismo dado, con un agente activador o inhibidor potencial, y se comparan con muestras de control sin el agente. Las muestras de control, es decir, no tratadas con agente, reciben un valor de actividad relativa del 100 %. La inhibición se consigue cuando el valor de actividad con respecto al control es de aproximadamente el 90 % o inferior, normalmente del 85 % o inferior, más normalmente del 80 % o inferior, lo más normalmente del 75 % o inferior, en general, del 70 % o inferior, más en general del 65 % o inferior, mucho más en general del 60 % o inferior, normalmente del 55 % o inferior, habitualmente del 50 % o inferior, más habitualmente del 45 % o inferior, lo más habitualmente del 40 % o inferior, preferentemente del 35 % o inferior, más preferentemente del 30 % o inferior, todavía más preferentemente del 25 % o inferior, y lo más preferentemente inferior al 25 %. La activación se consigue cuando el valor de actividad con respecto al control es del aproximadamente el 110 %, en general, de al menos el 120 %, más en general de al menos el 140 %, más en general de al menos el 160 %, a menudo de al menos el 180 %, más a menudo de al menos el doble, mucho más a

menudo de al menos 2,5 veces, habitualmente de al menos 5 veces, más habitualmente de al menos 10 veces, preferentemente de al menos 20 veces, más preferentemente de al menos 40 veces y lo más preferentemente más de 40 veces superior.

- 5 Los criterios de valoración en la activación o inhibición pueden controlarse del siguiente modo. La activación, inhibición y respuesta al tratamiento, por ejemplo, de una célula, un fluido fisiológico, un tejido, un órgano y un sujeto animal o humano, pueden controlarse por un criterio de valoración. El criterio de valoración puede comprender una cantidad o un porcentaje predeterminado de, por ejemplo, un indicio de inflamación, oncogenicidad o desgranulación o secreción celular, tal como la liberación de una citocina, oxígeno tóxico o una proteasa. El criterio de valoración  
10 puede comprender, por ejemplo, una cantidad predeterminada de flujo o transporte de iones; migración celular; adhesión celular; proliferación celular; potencial de metástasis; diferenciación celular; y cambio en el fenotipo, por ejemplo, cambio en la expresión de los genes relacionados con la inflamación, apoptosis, transformación, ciclo celular o metástasis (véase, por ejemplo, Knight (2000) *Ann. Clin. Lab. Sci.* 30:145-158; Hood y Cheresch (2002) *Nature Rev. Cancer* 2:91-100; Timme, *et al.* (2003) *Curr. Drug Targets* 4:251-261; Robbins y Itzkowitz (2002) *Med. Clin. North Am.* 86:1467-1495; Grady y Markowitz (2002) *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 3:101-128; Bauer, *et al.* (2001) *Glia* 36:235-243; Stanimirovic y Satoh (2000) *Brain Pathol.* 10:113-126).

Un criterio de valoración de la inhibición es, en general, un 75 % del control o menos, preferentemente un 50 % del control o menos, más preferentemente un 25 % del control o menos, y lo más preferentemente un 10 % del control o menos. En general, un criterio de valoración de activación es al menos un 150 % del control, preferentemente al menos dos veces el control, más preferentemente al menos cuatro veces el control y lo más preferentemente al menos 10 veces el control.

El término "ligando" se refiere, por ejemplo, a una molécula pequeña, péptido, polipéptido y molécula asociada a la membrana o unida a la membrana, o complejo de los mismos, que puede actuar como un agonista o antagonista de un receptor. El término "ligando" también engloba un agente que no es un agonista o antagonista, pero que puede unirse al receptor. Por otra parte, "ligando" incluye un ligando unido a la membrana que se ha cambiado, por ejemplo, mediante métodos químicos o recombinantes, a una versión soluble del ligando unido a la membrana. Por convención, cuando un ligando está unido a la membrana en una primera célula, el receptor normalmente se produce en una segunda célula. La segunda célula puede tener la misma o una identidad diferente a la primera célula. Un ligando o receptor puede ser completamente intracelular, es decir, puede residir en el citosol, núcleo o algún otro compartimento intracelular. El ligando o receptor puede cambiar su ubicación, por ejemplo, de un compartimento intracelular a la cara externa de la membrana plasmática. El complejo de un ligando y receptor se denomina "complejo de ligando y receptor". Cuando un ligando y un receptor participan en una vía de señalización, el ligando se produce en una posición cadena arriba y el receptor se produce en una posición cadena abajo de la vía de señalización.

Las "moléculas pequeñas" se proporcionan para el tratamiento de la fisiología y de trastornos del folículo piloso. La expresión "molécula pequeña" se define como una molécula con un peso molecular inferior a 10 kDa, normalmente inferior a 2 kDa y preferentemente inferior a 1 kDa. Las moléculas pequeñas incluyen, pero sin limitación, moléculas inorgánicas, moléculas orgánicas, moléculas orgánicas que contienen un componente inorgánico, moléculas que comprenden un átomo radiactivo, moléculas sintéticas, miméticos de péptidos y miméticos de anticuerpos. Como agente terapéutico, una molécula pequeña puede ser más permeable para las células, menos susceptible a la degradación y menos apta para provocar una respuesta inmune que moléculas grandes. Se describen moléculas pequeñas, tales como miméticos peptídicos de anticuerpos y citocinas, así como toxinas de molécula pequeña (véase, por ejemplo, Casset, *et al.* (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 307:198-205; Muyldermans (2001) *J. Biotechnol.* 74:277-302; Li (2000) *Nat. Biotechnol.* 18:1251-1256; Apostolopoulos, *et al.* (2002) *Curr. Med. Chem.* 9:411-420; Monfardini, *et al.* (2002) *Curr. Pharm. Des.* 40 8:2 1 85-2 1 99; Domingues, *et al.* (1999) *Nat. Struct. Biol.* 6:652-656; Sato y Sone (2003) *Biochem. J.* 371:603-608; patente de EE.UU. n.º 6.326.482 expedida a Stewart, *et al.*).

La expresión que se une "específicamente" o "selectivamente", cuando se refiere a un ligando/receptor, anticuerpo/antígeno u otro par de unión, indica una reacción de unión que es determinante de la presencia de la proteína en una población heterogénea de proteínas y otros agentes biológicos. Así pues, en condiciones designadas, un ligando específico se une a un determinado receptor y no se une en una cantidad significativa a otras proteínas presentes en la muestra.

El anticuerpo, o la composición de unión derivada del sitio de unión al antígeno de un anticuerpo, del método contemplado, se une a su antígeno con una afinidad que es al menos dos veces superior, preferentemente al menos diez veces superior, más preferentemente al menos 20 veces superior y lo más preferentemente al menos 100 veces superior a la afinidad con antígenos no relacionados. En una realización preferida, el anticuerpo tendrá una afinidad que es superior a aproximadamente  $10^9$  litros/mol, determinada, por ejemplo, mediante análisis de Scatchard. (Munsen *et al.* (1980) *Analyt. Biochem.* 107:220-239).

65 Como se usa en el presente documento, la expresión "agente inmunomodulador" se refiere a agentes naturales o sintéticos que suprimen o modulan una respuesta inmune. La respuesta inmune puede ser una respuesta humoral o

celular. Los agentes inmunomoduladores engloban agentes inmunosupresores o antiinflamatorios.

Las expresiones "agentes inmunosupresores" y "fármacos inmunosupresores", o el término "inmunosupresores", como se usan en el presente documento, son agentes terapéuticos que se usan en terapia inmunosupresora para inhibir o evitar la actividad del sistema inmune. Clínicamente, se usan para prevenir el rechazo de órganos y tejidos trasplantados (por ejemplo, médula ósea, corazón, riñón, hígado) y/o en el tratamiento de enfermedades autoinmunes o enfermedades que son lo más probablemente de origen autoinmune (por ejemplo, artritis reumatoide, miastenia grave, lupus sistémico eritematoso, colitis ulcerosa, esclerosis múltiple). Los fármacos inmunosupresores pueden clasificarse en cuatro grupos: glucocorticoides citostáticos; anticuerpos (incluyendo modificadores de respuesta biológica o DMARD); fármacos que actúan sobre inmunofilinas; otros fármacos, incluyendo agentes quimioterapéuticos conocidos usados en el tratamiento de trastornos proliferativos. Para esclerosis múltiple, en particular, los anticuerpos de la presente invención se pueden administrar junto con una nueva clase de agentes terapéuticos de tipo proteína de unión a mielina, conocidos como copaxones.

Las expresiones "agentes antiinflamatorios" o "fármacos antiinflamatorios", se usan para representar agentes terapéuticos tanto esteroideos como no esteroideos. Los esteroideos, también conocidos como corticosteroides, son fármacos que se parecen mucho al cortisol, una hormona producida de forma natural por las glándulas suprarrenales. Los esteroideos se usan como tratamiento principal para ciertas afecciones inflamatorias, tales como: vasculitis sistémica (inflamación de los vasos sanguíneos); y miositis (inflamación del músculo). Los esteroideos también podrían usarse selectivamente para tratar afecciones inflamatorias tales como: artritis reumatoide (artritis inflamatoria crónica en articulaciones en ambos lados del cuerpo); lupus sistémico eritematoso (una enfermedad generalizada causada por una función anómala del sistema inmune); síndrome de Sjögren (trastorno crónico que causa sequedad ocular y sequedad en la boca).

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos, normalmente abreviados como AINE, son fármacos con efectos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios - reducen el dolor, la fiebre y la inflamación. El término "no esteroideo" se usa para distinguir estos fármacos de los esteroideos, que (entre una amplia selección de otros efectos) tienen una acción antiinflamatoria de depresión eicosanoide similar. En general, los AINE están indicados para el alivio sintomático de las siguientes afecciones: artritis reumatoide; osteoartritis; artropatías inflamatorias (por ejemplo, espondilitis anquilosante, artritis soriásica, síndrome de Reiter); gota aguda; dismenorrea; dolor óseo metastásico; cefalea y migraña; dolor postoperatorio; dolor de leve a moderado debido a inflamación y lesión tisular; pirexia; y cólico renal. Los AINE incluyen salicilatos, ácido arilalcanoicos, ácidos 2-arilpropiónicos (profenos), ácidos N-arilntranilicos (ácidos fenámicos), oxicams, coxibs y sulfonanilidas.

## II. General

La presente invención proporciona anticuerpos anti-IL-23 diseñados por ingeniería genética y usos de los mismos para tratar trastornos inflamatorios, autoinmunes y proliferativos.

Hay una serie de citocinas que tiene un papel en la patología o reparación de los trastornos neurológicos. La IL-6, la IL-17, el interferón-gamma (IFN $\gamma$ , IFN-g) y el factor estimulante de colonias de granulocitos (GM-CSF) se han asociado con la esclerosis múltiple (Matusevicius *et al.* (1999) "Multiple Sclerosis" 5:101-104; Lock *et al.* (2002) *Nature Med.* 8:500-508). La IL-1alfa, la IL-1beta y el factor de crecimiento transformante-beta 1 (TGF-beta1) desempeñan un papel en la ELA, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer (Hoozemans *et al.* (2001) *Exp. Gerontol.* 36:559-570; Griffin y Mrak (2002) *J. Leukocyte Biol.* 72:233-238; Ilzecka *et al.* (2002) "Cytokine" 20:239-243. El TNF-alfa, la IL-1beta, la IL-6, la IL-8, el interferón-gamma y la IL-17 parecen modular la respuesta a la isquemia cerebral (véase, por ejemplo, Kostulas *et al.* (1999) "Stroke" 30:2174-2179; Li *et al.* (2001) *J. Neuroimmunol.* 116:5-14). El factor de crecimiento celular endotelial vascular (VEGF) está asociado con la ELA (Cleveland y Rothstein (2001) *Nature* 2:806-819).

Los trastornos inflamatorios del intestino, por ejemplo, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la enfermedad celíaca y el síndrome del intestino irritable están mediados por células del sistema inmune y por citocinas. Por ejemplo, la enfermedad de Crohn está asociada con un aumento de IL-12 e IFN $\gamma$ , mientras que la colitis ulcerosa está asociada con un aumento de IL-5, IL-13, y factor de crecimiento transformante-beta (TGFbeta). La expresión de IL-17 también puede aumentar en la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa (véase, por ejemplo, Podolsky (2002) *New Engl. J. Med.* 347:417-429; Bouma y Strober (2003) *Nat. Rev. Immunol.* 3:521-533; Bhan, *et al.* (1999) *Immunol. Rev.* 169:195-207; Hanauer (1996) *New Engl. J. Med.* 334:841-848; Green (2003) *The Lancet* 362:383-391; McManus (2003) *New Engl. J. Med.* 348:2573-2574; Horwitz y Fisher (2001) *New Engl. J. Med.* 344:1846-1850; Andoh, *et al.* (2002) *Int. J. Mol. Med.* 10:631-634; Nielsen, *et al.* (2003) *Scand. J. Gastroenterol.* 38:180-185; Fujino, *et al.* (2003) *Gut* 52:65-70).

Las enfermedades inflamatorias de la piel, las articulaciones, el SNC, así como los trastornos proliferativos, provocan respuestas inmunes similares, por tanto, el bloqueo de IL-23 debería proporcionar la inhibición de estos trastornos inflamatorios mediados por el sistema inmune, sin comprometer la capacidad del hospedador para combatir las infecciones sistémicas. El antagonismo de la IL-23 debería aliviar la inflamación asociada con la enfermedad inflamatoria del intestino, la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la artritis reumatoide, la artritis

soriásica, la soriasis y la dermatitis atópica. El uso de inhibidores de IL-23 también proporcionará la inhibición de trastornos proliferativos, por ejemplo, cáncer y trastornos autoinmunes, por ejemplo, esclerosis múltiple, diabetes de tipo I y SLE. Pueden encontrarse descripciones de IL-23 en estos diversos trastornos en las siguientes solicitudes PCT publicadas: WO 04/081190; WO 04/071517; WO 00/53631; y WO 01/18051.

- 5 La subunidad p19 de la IL-23 es un miembro de la familia de "cadena larga" de citocinas hematopoyéticas (Oppmann *et al.* (2000) *supra*) y comprende cuatro hélices  $\alpha$  empaquetadas denominadas A, B, C y D, con una topología arriba-arriba-abajo-abajo. Las 4 hélices están conectadas por 3 bucles polipeptídicos. Los bucles A-B y C-D están modelados para ser relativamente largos ya que conectan hélices paralelas. El bucle B-C corto conecta las hélices B y C antiparalelas. La subunidad p19 de la IL-23 es un miembro de la familia de IL-6 de citocinas helicoides.
- 10 Esta familia de citocinas se une a sus receptores afines a través de tres epítomos conservados (sitio I, II y III; Bravo y Heath (2000) *EMBO J.* 19:2399-2411). La subunidad p19 interacciona con tres subunidades de receptor de citocinas para formar el complejo de señalización competente. Cuando se expresa en una célula, la subunidad p19 primero forma un complejo con la subunidad p40, que comparte con IL-12. Como se ha indicado anteriormente, el complejo p19p40 se secreta de la célula en forma de una proteína heterodimérica, y se denomina IL-23 (véase, por ejemplo,
- 15 Oppmann *et al.*, *supra*). El complejo receptor celular necesario para transducir la señal de IL-23 consiste en dos miembros de las subunidades del receptor de señalización TOLL de la familia IL-6/IL-12 de citocinas, el IL-23R específico de IL-23 (véase, por ejemplo, Parham *et al.*, *supra*) y el IL-12Rb1, que está compartido con IL-12.

- 20 La comprensión de la base estructural del reconocimiento de las citocinas de "cadena larga"/receptores han demostrado que, aunque se ocultan grandes áreas de la superficie proteica en la formación de complejos de citocina y receptor, la afinidad de la interacción está dominada por unos cuantos restos de aminoácido a menudo estrechamente agrupados que forman un "punto caliente" energético en el centro de la superficie de contacto de unión. La identidad de los restos que dominan la energía de unión de una gran superficie de contacto de proteína-proteína se ha denominado "epítomo funcional". La afinidad de la interacción (y, por lo tanto, la especificidad biológica) está definida, por consiguiente, por la complementariedad estructural de los epítomos funcionales del
- 25 ligando y el receptor. Estudios detallados de mutagénesis han demostrado que los restos más significativos que componen los epítomos funcionales de las citocinas y los receptores son contactos hidrófobos que implican cadenas laterales no polares tales como el triptófano, los componentes alifáticos de cadenas laterales no polares o la cadena principal polipeptídica. El núcleo "no polar" está rodeado por un halo de restos polares de menor importancia para la energía de unión. Estudios cinéticos indican que el papel principal de los epítomos funcionales es estabilizar la interacción proteína-proteína reduciendo la velocidad de disociación del complejo. Se ha sugerido que el contacto inicial entre la citocina y el receptor está dominado por la difusión aleatoria o el "balanceo" de las superficies proteicas que producen muchos contactos inestables. El complejo se estabiliza después cuando los epítomos funcionales del receptor y el ligando se conectan (véase, por ejemplo, Bravo y Heath, *supra*).
- 30
- 35

### III. Generación de anticuerpos específicos para IL-23

- Se puede usar cualquier método adecuado para generar anticuerpos monoclonales. Por ejemplo, se puede inmunizar a un receptor con una forma unida o no unida (por ejemplo, de origen natural) del heterodímero IL-23, o un fragmento del mismo. Se puede usar cualquier método adecuado de inmunización. Dichos métodos pueden incluir adyuvantes, otros inmunoestimuladores, inmunizaciones de refuerzo repetidas y el uso de una o más vías de inmunización.
- 40

- Se puede usar cualquier fuente adecuada de IL-23 como el inmunógeno para la generación del anticuerpo no humano, específico de la subunidad p19, de las composiciones y métodos desvelados en el presente documento. Dichas formas incluyen, pero sin limitación, la proteína completa, incluyendo heterodímeros unidos y de origen natural, péptidos/s y epítomos, generados a través de medios de degradación recombinante, sintética, química o enzimática conocidos en la técnica.
- 45

- Se puede usar cualquier forma del antígeno para generar el anticuerpo que es suficiente para generar un anticuerpo biológicamente activo. Así pues, el antígeno generador puede ser un solo epítomo, múltiples epítomos, o la proteína completa sola o en combinación con uno o más agentes potenciadores de inmunogenicidad conocidos en la técnica. El antígeno generador puede ser una proteína de longitud completa aislada, una proteína de superficie celular (por ejemplo, inmunizando con células transfectadas con al menos una parte del antígeno), o una proteína soluble (por ejemplo, inmunizando solo con la parte del dominio extracelular de la proteína). El antígeno se puede producir en una célula modificada genéticamente. El ADN que codifica el antígeno puede ser genómico o no genómico (por ejemplo, ADNc), y codifica al menos una parte del dominio extracelular. Como se usa en el presente documento, el término "parte" se refiere a la cantidad mínima de aminoácidos o ácidos nucleicos, según sea apropiado, para constituir un epítomo inmunogénico del antígeno de interés. Se puede emplear cualquier vector genético adecuado para la transformación de las células de interés, incluyendo, pero sin limitación, vectores adenovíricos, plásmidos y vectores no víricos tales como lípidos catiónicos.
- 50
- 55
- 60

- Se puede usar cualquier método adecuado para generar un anticuerpo con las propiedades biológicas deseadas para inhibir la IL-23. Es deseable preparar anticuerpos monoclonales (mAb) a partir de diversos hospedadores mamíferos, tales como ratones, roedores, primates, seres humanos, etc. Por ejemplo, en Stites *et al.* (eds.) "BASIC AND CLINICAL IMMUNOLOGY" (4ª ed.) Lange Medical Publications, Los Altos, CA, y las referencias citadas en
- 65

dicho documento; Harlow y Lane (1988) "ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL" CSH Press; Goding (1986) "MONOCLONAL ANTIBODIES: PRINCIPLES AND PRACTICE" (2ª ed.) Academic Press, Nueva York, NY, se puede encontrar una descripción de las técnicas de preparación de dichos anticuerpos monoclonales. Así pues, se pueden obtener anticuerpos monoclonales mediante varias técnicas familiares para los investigadores especializados en la técnica. Por lo general, se immortalizan esplenocitos de un animal inmunizado con un antígeno deseado, comúnmente por fusión con una célula de mieloma. Véase Kohler y Milstein (1976) *Eur. J. Immunol.* 6:511-519. Los métodos alternativos de immortalización incluyen la transformación con virus de Epstein Barr, oncogenes o retrovirus, u otros métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Doyle *et al.* (eds. 1994 y suplementos periódicos) "CELL AND TISSUE CULTURE: LABORATORY PROCEDURES", John Wiley and Sons, Nueva York, NY. Las colonias que surgen de las células inmortalizadas individuales se exploran en busca de la producción de anticuerpos de la especificidad y afinidad deseadas por el antígeno, y es posible potenciar el rendimiento de los anticuerpos monoclonales producidos por dichas células mediante diversas técnicas, incluyendo inyección en la cavidad peritoneal de un hospedador vertebrado. Como alternativa, es posible aislar secuencias de ADN que codifiquen un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión del mismo explorando una biblioteca de ADN de linfocitos B humanos de acuerdo, por ejemplo, con el protocolo general esbozado por Huse *et al.* (1989) *Science* 246:1275-1281.

Otras técnicas adecuadas implican la selección de bibliotecas de anticuerpos en fagos o vectores similares. Véase, por ejemplo, Huse *et al.*, *Science* 246:1275-1281 (1989); y Ward *et al.*, *Nature* 341:544-546 (1989). Los polipéptidos y anticuerpos de la presente invención se pueden usar con o sin modificación, incluyendo anticuerpos quiméricos o humanizados. Frecuentemente, los polipéptidos y anticuerpos se marcarán uniendo, bien de forma covalente o no covalente, una sustancia que proporcione una señal detectable. Se conoce una amplia variedad de marcadores y técnicas de conjugación, y se presentan de forma exhaustiva en la bibliografía tanto científica como de patentes. Los marcadores adecuados incluyen radionúclidos, enzimas, sustratos, cofactores, inhibidores, fracciones fluorescentes, fracciones quimioluminescentes, partículas magnéticas y similares. Las patentes que enseñan el uso de dichos marcadores incluyen las patentes de EE.UU. n.º 3.817.837; 3.850.752; 3.939.350; 3.996.345; 4.277.437; 4.275.149; y 4.366.241. Además, se pueden producir inmunoglobulinas recombinantes, véase Cabilly, patente de EE.UU. n.º 4.816.567; y Queen *et al.* (1989) *Proc. Nat'l Acad. Sci. EE.UU.* 86:10029-10033; o prepararse en ratones transgénicos, véase Mendez *et al.* (1997) *Nature Genetics* 15:146-156. Véanse también las tecnologías Abgenix y Medarex.

Se pueden generar anticuerpos o composiciones de unión contra fragmentos predeterminados de IL-23 mediante la inmunización de animales con conjugados del polipéptido, fragmentos, péptidos o epitopos con proteínas vehículo. Los anticuerpos monoclonales se preparan a partir de células que secretan el anticuerpo deseado. Estos anticuerpos pueden explorarse en busca de la unión a IL-23 normal o defectuosa. Estos anticuerpos monoclonales normalmente se unirán con al menos una  $K_d$  de aproximadamente 1  $\mu$ M, más normalmente de al menos aproximadamente 300 nM, normalmente de al menos aproximadamente 30 nM, preferentemente de al menos aproximadamente 10 nM, más preferentemente de al menos aproximadamente 3 nM o mejor, normalmente determinada por ELISA. Los anticuerpos no humanos adecuados también se pueden identificar usando los ensayos biológicos descritos en el Ejemplo 5, que se presenta más adelante.

#### IV. Humanización de anticuerpos específicos de IL-23

Se puede usar cualquier anticuerpo no humano adecuado como fuente para la región hipervariable. Las fuentes para anticuerpos no humanos incluyen, pero sin limitación, murinos, lagomorfos (incluyendo conejos), bovinos y primates. En su mayoría, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que los restos de la región hipervariable del receptor están remplazados por restos de la región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como ratón, rata, conejo o primate no humano que tenga la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunos casos, los restos de la región marco conservada (FR) de Fv de la inmunoglobulina humana se remplazan por restos no humanos correspondientes. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender restos que no se encuentran en el anticuerpo receptor ni en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se realizan para perfeccionar más el rendimiento del anticuerpo en la actividad biológica deseada. Para detalles adicionales, véase Jones *et al.* (1986) *Nature* 321:522-525; Reichmann *et al.* (1988) *Nature* 332:323-329; y Presta (1992) *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596.

Se han descrito métodos de diseño de forma recombinante de anticuerpos, por ejemplo, por Boss *et al.* (patente de EE.UU. n.º 4.816.397), Cabilly *et al.* (patente de EE.UU. n.º 4.816.567) Law *et al.* (publicación de solicitud de patente europea n.º 438 310) y Winter (publicación de solicitud de patente europea n.º 239400).

Se preparan variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-23 humanizado introduciendo cambios apropiados de nucleótidos en el ADN del anticuerpo anti-IL-23 humanizado o mediante síntesis peptídica. Dichas variantes incluyen, por ejemplo, eliminaciones de y/o inserciones en y/o sustituciones de restos dentro de la secuencia de aminoácidos mostrada para el F(ab) anti-IL-23 humanizado (por ejemplo, como en las SEQ ID NO: 1 y 2). Cualquier combinación de eliminación, inserción y sustitución se realiza para llegar a la construcción final, con la condición de que la construcción final posea las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar los procesos posteriores a la traducción del anticuerpo anti-IL-23 humanizado, tal como cambiando el

número o la posición de los sitios de glicosilación.

Un método útil para la identificación de ciertos restos o regiones del polipéptido del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado que son ubicaciones preferidas para la mutagénesis, se denomina "mutagénesis por rastreo de alanina" según lo descrito por Cunningham y Wells (1989) *Science* 244: 1081-1085. En el presente documento, se identifica un resto o grupo de restos diana (por ejemplo, restos cargados tales como Arg, Asp, His, Lys y Glu) y se remplazan por un aminoácido neutro o cargado negativamente (lo más preferentemente alanina o polialanina) para afectar a la interacción de los aminoácidos con el antígeno IL-23. Los restos de aminoácido que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones se perfeccionan entonces introduciendo variantes adicionales o diferentes en o para los sitios de sustitución. Así pues, aunque el sitio de introducción de una variación en la secuencia de aminoácidos está predeterminado, no tiene que predeterminarse la naturaleza de la mutación en sí. Por ejemplo, para analizar el rendimiento de una mutación en un sitio dado, se realiza mutagénesis por rastreo de Ala o aleatoria en el codón o en la región diana, y las variantes expresadas del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado se exploran en busca de la actividad deseada.

Las inserciones en la secuencia de aminoácidos incluyen fusiones amino- y/o carboxil-terminales que varían en longitud desde un resto hasta polipéptidos que contienen cien o más restos, así como inserciones dentro de la secuencia de un solo resto de aminoácido o múltiples restos de aminoácidos. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen el anticuerpo anti-IL-23 humanizado con un resto metionilo N-terminal o el anticuerpo fusionado a una marca epitópica. Otras variantes de inserción de la molécula del anticuerpo anti-IL-23 humanizado incluyen la fusión al extremo N o C del anticuerpo anti-IL-23 humanizado de una enzima o un polipéptido que aumenta la semivida en suero del anticuerpo.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácido. Estas variantes tienen al menos un resto de aminoácido en la molécula del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado eliminado y un resto diferente insertado en su sitio. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis de sustitución incluyen los bucles hipervariables, pero también se contemplan alteraciones en la FR. Los restos de la región hipervariable o restos de FR que participan en la unión al antígeno, en general, están sustituidos de una manera relativamente conservativa.

Otro tipo de variante de aminoácido del anticuerpo modifica el patrón original de glicosilación del anticuerpo. El término "modifica" pretende significar la eliminación de una o más fracciones de hidrato de carbono encontradas en el anticuerpo y/o la adición de uno o más sitios de glicosilación que no están presentes en el anticuerpo. La glicosilación de los anticuerpos normalmente está ligada a N o ligada a O. Ligada a N se refiere a la unión de la fracción de hidrato de carbono a la cadena lateral de un resto de asparagina. Las secuencias tripeptídicas asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido a excepción de prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática de la fracción de hidrato de carbono a la cadena lateral de asparagina. Así pues, la presencia de cualquiera de estas secuencias tripeptídicas en un polipéptido crea un sitio potencial de glicosilación. La glicosilación ligada a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa a un hidroxiaminoácido, lo más comúnmente serina o treonina, aunque también se pueden usar 5-hidroxi prolina o 5-hidroxi lisina.

La adición de sitios de glicosilación al anticuerpo se realiza convenientemente mediante la modificación de la secuencia de aminoácidos de modo que contenga una o más de las secuencias tripeptídicas descritas anteriormente (para los sitios de glicosilación ligados a N). La modificación también puede hacerse realizarse mediante la adición de, o sustitución por, uno o más restos de serina o treonina en la secuencia del anticuerpo original (para los sitios de glicosilación ligados a O).

Otro tipo más de variante de aminoácido es la sustitución de restos para proporcionar mayor estabilidad química del anticuerpo humanizado final. Por ejemplo, se puede cambiar un resto de asparagina (N) para reducir el potencial de formación de isoaspartato en cualquier secuencia NG dentro de una CDR de roedor. En una realización, la asparagina se cambia a glutamina (Q). La formación de isoaspartato puede debilitar o suprimir por completo la unión de un anticuerpo a su antígeno diana. Presta (2005) *J. Allergy Clin. Immunol.* 116:731 en 734. Además, los restos de metionina en las CDR de roedor pueden cambiarse para reducir la posibilidad de que el azufre de la metionina se oxide, lo que podría reducir la afinidad de unión al antígeno y también contribuir a la heterogeneidad molecular en la preparación final de anticuerpos. *Id.* En una realización, la metionina se cambia a alanina (A). Los anticuerpos con dichas sustituciones se exploran posteriormente para asegurar que las sustituciones no reduzcan la afinidad de unión a IL-23p19 a niveles inaceptables.

Las moléculas de ácido nucleico que codifican variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo humanizado específico de IL-23 se preparan mediante varios métodos conocidos en la técnica. Estos métodos incluyen, pero sin limitación, el aislamiento de una fuente natural (en el caso de variantes de secuencia de aminoácidos de origen natural) o preparación por mutagénesis mediada por oligonucleótido (o dirigida), mutagénesis por PCR y mutagénesis con casete de una variante preparada previamente o una versión no variante del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado.

Habitualmente, las variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-IL-23 humanizado tendrán una

5 secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos del anticuerpo humanizado original de bien la cadena pesada o la cadena ligera, más preferentemente al menos un 80 %, más preferentemente al menos un 85 %, más preferentemente al menos un 90 % y lo más preferentemente al menos un 95 %. La identidad u homología con respecto a esta secuencia se define en el presente documento como el porcentaje de restos de aminoácidos de la secuencia candidata que son idénticos a los restos de anti-IL-23 humanizado, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para conseguir el porcentaje máximo de identidad de secuencia, y sin considerar ninguna sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia. Ninguna extensión, eliminación o inserción N-terminal, C-terminal, o interna en la secuencia del anticuerpo se interpretará como aquella que afecta en la identidad u homología de secuencia.

15 El anticuerpo humanizado puede seleccionarse de cualquier clase de inmunoglobulinas, incluyendo IgM, IgG, IgD, IgA e IgE. Preferentemente, el anticuerpo es un anticuerpo IgG. Se puede usar cualquier isotipo de IgG, incluyendo IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgG<sub>4</sub>. También se contemplan variantes de los isotipos IgG. El anticuerpo humanizado puede comprender secuencias de más de una clase o isotipo. La optimización de las secuencias del dominio constante necesarias para generar la actividad biológica deseada se consigue fácilmente explorando los anticuerpos en los ensayos biológicos descritos más adelante.

20 Asimismo, se puede usar cualquier clase de cadena ligera en las composiciones y los métodos del presente documento. En concreto, son útiles kappa, lambda o variantes de las mismas en las presentes composiciones y métodos.

25 Se puede usar cualquier parte adecuada de las secuencias CDR del anticuerpo no humano. Las secuencias CDR pueden mutagenizarse por sustitución, inserción o eliminación de al menos un resto, de modo que la secuencia CDR sea distinta de la secuencia de anticuerpo humano y no humano empleada. Se contempla que dichas mutaciones sean mínimas. Por lo general, al menos el 75 % de los restos del anticuerpo humanizado corresponderá a los de los restos CDR no humanos, más a menudo el 90 % y lo más preferentemente más del 95 %.

30 Se puede usar cualquier parte adecuada de las secuencias de FR del anticuerpo humano. Las secuencias de FR se pueden mutagenizar por sustitución, inserción o eliminación de al menos un resto de modo que la secuencia de FR sea distinta de la secuencia del anticuerpo no humano y humano empleada. Se contempla que dichas mutaciones serían mínimas. Por lo general, al menos el 75 % de los restos del anticuerpo humanizado corresponderá con los de los restos de FR humanos, más a menudo el 90 % y lo más preferentemente más del 95 %.

35 Los restos de CDR y FR se determinan de acuerdo con la definición de secuencia convencional de Kabat. Kabat *et al.*, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda Md. (1987). Las SEQ ID NO: 5-16 y 31-48 muestran las secuencias de dominio variable de cadena pesada de diversos anticuerpos anti-IL-23p19 humana de ratón, y las SEQ ID NO: 17-28 y 49-65 representan las secuencias de dominio variable de cadena ligera. Las SEQ ID NO: 66-68 son secuencias de consenso para las CDR de cadena pesada (CDRH1, CDRH2 y CDRH3), y se componen del resto de aminoácido más común en cada posición en las CDR de cadena pesada para la familia de anticuerpos que consisten en 7G10, 6H12, 13F11, 13B5, 7E2, 13G1, 11C10, 1E10, 30F11, 34E4, 5B12, 6H4, 9C9, 11B10, 30E1, 33D2, 20A9, 22E9, 29D5, 21A10 y 33B12. Las FIG. 1A-1C proporcionan una alineación de secuencia de las cadenas pesadas de diversos anticuerpos de la presente invención.

45 Como se muestra en las FIG. 2A-2C, las CDR de cadena ligera de los anticuerpos de la presente invención desvelada en el presente documento se agrupan en tres subfamilias, conocidas como (a), (b) y (c). La subfamilia de cadena ligera (a) consiste en los anticuerpos 7G10, 6H12, 13F11, 13B5, 7E2, 13G1, 11C10, 30F11, 34E4, 6H4, 33D2 y 33B12. La subfamilia de cadena ligera (b) consiste en anticuerpos 1E10, 20A9, 22E9, 29D5, 5B12, 9C9 y 11B10. La subfamilia de cadena ligera (c) consiste en los anticuerpos 10H11, 19E9, 10G8, 39G2, 35F12, 49A10, 34F9 y 7D7. Estas subfamilias de cadena ligera se usaron para derivar secuencias de consenso de CDR de CDRL1(a), CDRL1(b) y CDRL1(c) (SEQ ID NO: 69-71) y las correspondientes secuencias de consenso CDRL2 (SEQ ID NO: 72-74) y CDRL3 (SEQ ID NO: 75-77) para cada subfamilia. Las secuencias consenso para las CDR de cadena ligera se componen del resto de aminoácido más común en cada posición en las CDR de cadena ligera para cada subfamilia de anticuerpos.

55 Las Tablas 2 y 3 definen diversos dominios de anticuerpos anti-IL-23p19 humanizados 6H12, 7G10, 10H11 y 22E9, así como y los dominios variables de cadena ligera y pesada de varios anticuerpos murinos de la presente invención. Los restos 1-19 de SEQ ID NO: 1-4 representan secuencias de señal para cadenas pesadas y ligeras de hum6H12 y hum7G10. Los dominios constantes de cadena ligera de hum6H12 y hum7G10 están en los restos 130-233 de las SEQ ID NO: 2 y 4, respectivamente. Los dominios constantes de cadena pesada de hum6H12 y hum7G10 están en los restos 135-464 de SEQ ID NO: 1 y 3, respectivamente, con CH1 en los restos 135-242, CH2+bisagra en los restos 243-357 y CH3 en los restos 358-464. El resto de los anticuerpos se presenta como regiones variables de cadena ligera y de cadena pesada (V<sub>L</sub> y V<sub>H</sub>) y, por lo tanto, carecen de secuencias señal y dominios constantes.

65 

Tabla 2 Secuencias y dominios de cadena ligera
---

ES 2 619 845 T3

CLON DEL ANTICUERPO	SEQ ID NO:	RESTOS DE V <sub>L</sub>	RESTOS DE CDR DE CADENA LIGERA		
			CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
hum6H12	2	20-129	43-53	69-75	108-116
hum7G10	4	20-129	43-53	69-75	108-116
hum10H11	91	1-114	24-38	54-60	93-101
hum22E9	93	1-116	24-40	56-62	95-103
m6H12LC	17	1-108	24-34	50-56	89-97
m7G10LC	18	1-108	24-34	50-56	89-97
m13F11 LC	19	1-108	24-34	50-56	89-97
m13B5LC	20	1-108	24-34	50-56	89-97
m21A10 LC	21	1-108	24-34	50-56	89-97
m33B12 LC	22	1-108	24-34	50-56	89-97
m39G2 LC	23	1-112	24-38	54-60	93-101
m35F12 LC	24	1-112	24-38	54-60	93-101
m49A10 LC	25	1-112	24-38	54-60	93-101
m34F9 LC	26	1-112	24-38	54-60	93-101
m7D7 LC	27	1-112	24-38	54-60	93-101
m3D7 LC	28	1-108	24-34	50-56	89-97
m13G1 LC	49	1-108	24-34	50-56	89-97
m11C10 LC	50	1-108	24-34	50-56	89-97
m7E2 LC	51	1-108	24-34	50-56	89-97
m30F11 LC	52	1-108	24-34	50-56	89-97
m34E4 LC	52	1-108	24-34	50-56	89-97
m6H4 LC	54	1-108	24-34	50-56	89-97
m33D2 LC	55	1-108	24-34	50-56	89-97
m1E10LC	56	1-114	24-40	56-62	95-103
m20A9 LC	57	1-114	24-40	56-62	95-103
m22E9 LC	58	1-114	24-40	56-62	95-103
m29D5 LC	59	1-114	24-40	56-62	95-103
m5B12LC	60	1-114	24-40	56-62	95-103
m9C9 LC	61	1-114	24-40	56-62	95-103
m11B10LC	62	1-114	24-40	56-62	95-103
m10G8 LC	63	1-112	24-38	54-60	93-101
m19E9LC	64	1-112	24-38	54-60	93-101
m10H11 LC	65	1-112	24-38	54-60	93-101

Tabla 3

Dominios y secuencias de cadena pesada					
CLON DEL ANTICUERPO	SEQ ID NO:	RESTOS DE V <sub>H</sub>	RESTOS DE CDR DE CADENA PESADA		
			CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
hum6H12	1	20-134	45-54	69-85	118-123
hum7G10	3	20-134	45-54	69-85	118-123
hum10H11	90	1-118	26-35	50-66	99-107
hum22E9	92	1-115	26-35	50-66	99-104
m6H12	5	1-115	26-35	50-66	99-104
m7G10	6	1-115	26-35	50-66	99-104
m13F11	7	1-115	26-35	50-66	99-104
m13B5	8	1-116	26-35	50-66	99-105
m21A10	9	1-115	26-35	50-66	99-104
m33B12	10	1-115	26-35	50-66	99-104
m39G2	11	1-118	26-35	50-66	99-107
m35F12	12	1-118	26-35	50-66	99-107
m49A10	13	1-119	26-35	50-66	99-108
m3D7	14	1-122	26-35	50-66	99-111
m34F9	15	1-124	26-35	50-66	99-113
m7D7	16	1-124	26-35	50-66	99-113
m13G1	31	1-115	26-35	50-66	99-104
m11C10	32	1-115	26-35	50-66	99-104
m7E2	33	1-115	26-35	50-66	99-104
m30F11	34	1-115	26-35	50-66	99-104
m34E4	35	1-115	26-35	50-66	99-104
m6H4	36	1-115	26-35	50-66	99-104
m33D2	37	1-115	26-35	50-66	99-104

m1E10	38	1-115	26-35	50-66	99-104
m20A9	39	1-115	26-35	50-66	99-104
m22E9	40	1-115	26-35	50-66	99-104
m29D5	41	1-115	26-35	50-66	99-104
m5B12	42	1-115	26-35	50-66	99-104
m9C9	43	1-115	26-35	50-66	99-104
m11B10	44	1-115	26-35	50-66	99-104
m30E1	45	1-115	26-35	50-66	99-104
m10G8	46	1-118	26-35	50-66	99-107
m19E9	47	1-118	26-35	50-66	99-107
m10H11	48	1-118	26-35	50-66	99-107

- En una realización, los anticuerpos de la presente divulgación o fragmentos de unión de los mismos comprenden CDR que comprenden uno de los varios aminoácidos variables en ciertas posiciones. En una realización, los anticuerpos de la presente divulgación, o los fragmentos de unión de los mismos, comprenden los dominios "variables de CDR" enumerados en las SEQ ID NO: 78-89. Estas secuencias "variables de CDR" incluyen la secuencia de consenso de cada familia de anticuerpos relacionados, así como posiciones variables que engloban todas las variantes de la secuencia observada dentro de esa familia. Dichas variantes de secuencia se muestran en las FIG. 1A-1C y 2A-2C.
- 10 Los aminoácidos variables de las posibles CDR se pueden seleccionar de los aminoácidos que aparecen dos o más veces en las familias presentadas en el presente documento. Estos anticuerpos son un subconjunto de los anticuerpos "variables de CDR" descritos anteriormente, en los que los aminoácidos que aparecen solo una vez en una posición dada de una CDR de una familia dada de secuencias no están incluidos en el conjunto de posibles CDR. Estas sustituciones de aminoácidos de "una sola aparición" se determinan fácilmente, y por lo tanto, se excluyen de las secuencias "variables de CDR", mediante el simple examen de las FIG. 1A-1C y 2A-2C. Esta selección limitada de posibles secuencias de CDR se denomina en el presente documento una "CDR variable de múltiples apariciones". Esta nomenclatura se usa en el presente documento por conveniencia para referirse a este subconjunto de secuencias "variables de CDR".
- 15 Como alternativa, las posibles CDR no se limitan a las "secuencias variables de CDR" descritas anteriormente, sino que también incluyen variantes de cualquier aminoácido observado modificadas de manera conservativa, según lo determinado usando los datos de la Tabla 1.
- 20 Las posibles CDR pueden incluir variantes de cualquier CDR de una sola secuencia desvelada en el presente documento, incluyendo secuencias de consenso SEQ ID NO: 66-77, en las que la variante comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sustituciones conservativas de aminoácidos con relación a la secuencia desvelada, según lo determinado usando los datos de la Tabla 1
- 25 También se contemplan anticuerpos quiméricos. Como se ha indicado anteriormente, los anticuerpos quiméricos típicos comprenden una parte de la cadena pesada y/o ligera idéntica u homóloga a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie en particular o que pertenecen a una determinada clase o subclase de anticuerpo, mientras que el resto de la/s cadena/s es idéntico u homólogo a secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpo, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que muestren la actividad biológica deseada. (Véase la patente de EE.UU. n.º 4.816.567; y Morrison *et al.* (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 81: 6851-6855).
- 30 También son útiles anticuerpos biespecíficos en los presentes métodos y composiciones. Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo biespecífico" se refiere a un anticuerpo, normalmente un anticuerpo monoclonal, que tiene especificidades de unión por al menos dos epítomos antigénicos diferentes, por ejemplo, IL-23p19 e IL-23p40. En una realización, los epítomos son del mismo antígeno. En otra realización, los epítomos son de dos antígenos diferentes. Los métodos para preparar anticuerpos biespecíficos son conocidos en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos pueden producirse de forma recombinante usando la coexpresión de dos pares de cadena pesada/cadena ligera de inmunoglobulina. Véase, por ejemplo, Milstein *et al.* (1983) *Nature* 305: 537-39. Como alternativa, los anticuerpos biespecíficos pueden prepararse usando enlace químico. Véase, por ejemplo, Brennan *et al.* (1985) *Science* 229:81. Los anticuerpos biespecíficos incluyen fragmentos de anticuerpo biespecífico. Véase, por ejemplo, Holliger *et al.* (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 90:6444-48, Gruber *et al. J. Immunol.* 152:5368 (1994).
- 35 En otras realizaciones más, se pueden añadir diferentes dominios constantes a las regiones V<sub>L</sub> y V<sub>H</sub> humanizadas proporcionadas en el presente documento. Por ejemplo, si un determinado uso deseado de un anticuerpo (o fragmento) de la presente invención fuera exigir funciones efectoras modificadas, se puede usar un dominio constante de cadena pesada diferente de IgG1. Aunque los anticuerpos IgG1 proporcionan una larga semivida y funciones efectoras, tales como activación del complemento y citotoxicidad celular dependiente del anticuerpo, dichas actividades pueden no ser deseables para todos los usos del anticuerpo. En dichos casos, se puede usar un
- 40
- 45
- 50

dominio constante de IgG4, por ejemplo.

#### V. Actividad biológica del anti-IL-23 humanizado

5 Los anticuerpos que tienen las características identificadas en el presente documento como deseables en un anticuerpo anti-IL-23 humanizado pueden explorarse en busca de su actividad biológica inhibidora *in vitro* o la afinidad de unión adecuada. Para explorar anticuerpos que se unen a un epítipo en IL-23 humana (es decir, la subunidad p19) unida por un anticuerpo de interés (por ejemplo, aquellos que bloquean la unión de la citocina a su receptor), se puede realizar un ensayo de bloqueo cruzado rutinario tal como el descrito en "ANTIBODIES, A  
10 LABORATORY MANUAL", Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow y David Lane (1988). Los anticuerpos que se unen al mismo epítipo tienden a realizar el bloqueo cruzado en dichos ensayos, pero no todos los anticuerpos de bloqueo cruzado se unirán necesariamente en precisamente el mismo epítipo, ya que el bloqueo cruzado puede resultar de la impedancia estérica de la unión del anticuerpo por anticuerpos que se unen en epítopos solapantes, o incluso epítopos no solapantes cercanos.

15 Como alternativa, puede realizarse un mapeo de epítopos, por ejemplo, como se describe en Champe *et al.* (1995) *J. Biol. Chem.* 270:1388-1394, para determinar si el anticuerpo se une a un epítipo de interés. También se puede usar la "mutagénesis por rastreo de alanina", según lo descrito por Cunningham y Wells (1989) *Science* 244: 1081-1085, o alguna otra forma de mutagénesis puntual de restos de aminoácidos en IL-23 humana para determinar el  
20 epítipo funcional para un anticuerpo anti-IL-23 de la presente invención. Los estudios de mutagénesis, sin embargo, también pueden revelar restos de aminoácidos que son cruciales para la estructura tridimensional global de IL-23, pero que no están directamente implicados en los contactos de anticuerpo-antígeno, y por tanto pueden ser necesarios otros métodos para confirmar un epítipo funcional determinado usando este método.

25 El epítipo unido por un anticuerpo específico también puede determinarse evaluando la unión del anticuerpo a péptidos que comprenden fragmentos de IL-23p19 humana (SEQ ID NO: 39). Se puede sintetizar una serie de péptidos solapantes que engloban la secuencia de IL-23p19 y explorarse para la unión, por ejemplo, en un ELISA directo, un ELISA competitivo (donde el péptido se evalúa para su capacidad de evitar la unión de un anticuerpo a IL-23p19 unida a un pocillo de una placa de microvaloración) o en un chip. Dichos métodos de exploración de  
30 péptidos pueden no ser capaces de detectar algunos epítopos funcionales discontinuos, es decir, epítopos funcionales que implican restos de aminoácidos que no son contiguos a lo largo de la secuencia primaria de la cadena polipeptídica de IL-23p19.

35 El epítipo unido por los anticuerpos de la presente invención también puede determinarse mediante métodos estructurales, tales como la determinación de la estructura cristalina por rayos X (por ejemplo, el documento WO2005/044853), la modelización molecular y la espectroscopia por resonancia magnética nuclear (RMN), incluyendo la determinación por RMN de las tasas de intercambio H-D de los hidrógenos lábiles de amida en IL-23 cuando están libres y cuando están unidos en un complejo con un anticuerpo de interés (Zinn-Justin *et al.* (1992) *Biochemistry* 31:11335-11347; Zinn-Justin *et al.* (1993) *Biochemistry* 32: 6884-6891).

40 Con respecto a la cristalografía de rayos X, la cristalización se puede realizar usando cualquiera de los métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, Giege *et al.* (1994) *Acta Crystallogr.* D50:339-350; McPherson (1990) *Eur. J. Biochem.* 189:1-23), incluyendo la difusión en microlitos (por ejemplo, Chayen (1997) *Structure* 5:1269-1274), difusión de vapor en gota colgante (por ejemplo, McPherson (1976) *J Biol. Chem.* 251:6300-6303), siembra y diálisis.

45 Es deseable usar un preparado de proteínas que tenga una concentración de al menos aproximadamente 1 mg/ml y preferentemente de aproximadamente 10 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. La cristalización se puede realizar mejor en una solución precipitante que contenga polietilenglicol 1000-20.000 (PEG; peso molecular medio que varía de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 20.000 Da), preferentemente de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 7.000 Da, más preferentemente aproximadamente 6.000 Da, con concentraciones que varían del  
50 aproximadamente 10 % al aproximadamente 30 % (p/v). También puede ser deseable incluir un agente estabilizador de proteínas, por ejemplo, glicerol a una concentración que varía del aproximadamente 0,5 % al aproximadamente 20 %. También puede ser deseable una sal adecuada, tal como cloruro sódico, cloruro de litio o citrato sódico en la solución precipitante, preferentemente a una concentración que varía de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 1.000 mM. El precipitante está preferentemente tamponado a un pH de aproximadamente 3,0 a  
55 aproximadamente 5,0, preferentemente de aproximadamente 4,0. Los tampones específicos útiles en la solución precipitante pueden variar y son bien conocidos en la técnica. (Scopes, "Protein Purification: Principles and Practice", Tercera ed., (1994) Springer-Verlag, Nueva York). Los ejemplos de tampones útiles incluyen, pero sin limitación, HEPES, Tris, MES y acetato. Los cristales pueden cultivarse a un amplio intervalo de temperaturas, incluyendo 2 °C, 4 °C, 8 °C y 26 °C.

60 Los cristales anticuerpo:antígeno pueden estudiarse usando técnicas bien conocidas de difracción de rayos X y pueden refinarse usando un software informático tal como X-PLOR (Yale University, 1992, distribuido por Molecular Simulations, Inc.; véase, por ejemplo, Blundell y Johnson (1985) *Meth. Enzymol.* 114 y 115, H. W. Wyckoff *et al.* eds., Academic Press; la publicación de solicitud de patente de EE.UU. n.º 2004/0014194) y BUSTER (Bricogne (1993) *Acta Cryst.* D49:37-60; Bricogne (1997) *Meth. Enzymol.* 276A:361-423, Carter y Sweet, eds.; Roversi *et al.* (2000) *Acta Cryst.* D56:1313-1323).

Se pueden obtener anticuerpos adicionales que se unan al mismo epítipo que un anticuerpo de la presente invención, por ejemplo, explorando anticuerpos generados contra IL-23 para la unión al epítipo, o por inmunización de un animal con un péptido que comprende un fragmento de IL-23 humana que comprende la secuencia del epítipo. Cabría esperar que los anticuerpos que se unen al mismo epítipo funcional mostraran actividades biológicas similares, tales como bloqueo de la unión al receptor, y dichas actividades pueden confirmarse mediante ensayos funcionales de los anticuerpos.

Las afinidades de los anticuerpos (por ejemplo, por IL-23 humana) se pueden determinar usando análisis convencionales. Los anticuerpos humanizados preferidos son aquellos que se unen a IL-23p19 humana con un valor de  $K_D$  no superior a aproximadamente  $1 \times 10^{-7}$ ; preferentemente no superior a aproximadamente  $1 \times 10^{-8}$ ; más preferentemente no superior a aproximadamente  $1 \times 10^{-9}$ ; y lo más preferentemente no superior a aproximadamente  $2 \times 10^{-10}$ .

Los anticuerpos y fragmentos de los mismos útiles en las presentes composiciones y métodos son anticuerpos y fragmentos biológicamente activos. Como se usa en el presente documento, la expresión "biológicamente activo" se refiere a un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que es capaz de unirse al epítipo antigénico deseado y de ejercer directa o indirectamente un efecto biológico. Por lo general, estos efectos se deben al fracaso de IL-23 para unirse a su receptor. Como se usa en el presente documento, el término "específico" se refiere a la unión selectiva del anticuerpo al epítipo antigénico diana. Los anticuerpos pueden ensayarse para la especificidad de unión comparando la unión a IL-23 con la unión a un antígeno o mezcla de antígenos irrelevante en una serie dada de condiciones. Si el anticuerpo se une a IL-23 al menos 10, y preferentemente 50 veces más que a un antígeno o mezcla de antígenos irrelevante, entonces se considera que es específico. Un anticuerpo que "se une específicamente" a IL-23 no se une a proteínas que no comprenden las secuencias derivadas de IL-23, es decir "especificidad" como se usa en el presente documento, se refiere a especificidad por IL-23, y no por cualquier otra secuencia que pueda estar presente en la proteína en cuestión. Por ejemplo, como se usa en el presente documento, un anticuerpo que "se une específicamente" a IL-23 normalmente se unirá a FLAG-hIL-23, que es una proteína de fusión que comprende IL-23 y un péptido marcador FLAG<sup>®</sup>, pero no se une al péptido marcador FLAG<sup>®</sup> solo o cuando está fusionado con una proteína diferente de IL-23.

Los compuestos de unión específicos de IL-23 de la presente divulgación, tales como anticuerpos inhibidores específicos de IL-23p19, pueden inhibir su actividad biológica de cualquier modo, incluyendo, pero sin limitación, la producción de IL-1 $\beta$  y TNF por macrófagos peritoneales e IL-17 por linfocitos T  $T_H17$  (véase Langrish *et al.* (2004) *Immunol. Rev.* 202:96-105). Los anticuerpos anti-IL-23p19 también serán capaces de inhibir la expresión génica de IL-17A, IL-17F, CCL7, CCL17, CCL20, CCL22, CCR1 y GM-CSF (véase Langrish *et al.* (2005) *J. Exp. Med.* 201:233-240). Los compuestos de unión específicos de IL-23 de la presente divulgación, tales como los anticuerpos anti-IL-23p19 de la invención, también bloquearán la capacidad de IL-23 para potenciar la proliferación o supervivencia de los linfocitos  $T_H17$ . Cua y Kastelein (2006) *Nat. Immunol.* 7:557-559. La actividad inhibidora del anti-IL-23p19 diseñado por ingeniería genética será útil en el tratamiento de trastornos inflamatorios, autoinmunes y proliferativos. Dichos trastornos se describen en las publicaciones de solicitud de patente PCT WO 04/081190; WO 04/071517; WO 00/53631; y WO 01/18051.

#### VI. Composiciones farmacéuticas

Para preparar composiciones farmacéuticas o estériles que incluyan un agonista o antagonista de IL-23, se mezcla el análogo de citocina o muteína, anticuerpo contra la misma, o ácido nucleico del mismo, con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Véase, por ejemplo, "Remington's Pharmaceutical Sciences" y "U.S. Pharmacopeia: National Formulary", Mack Publishing Company, Easton, PA (1984).

Las formulaciones de agentes terapéuticos y de diagnóstico se pueden preparar mezclando con vehículos, excipientes o estabilizadores fisiológicamente aceptables en forma de, por ejemplo, polvos liofilizados, pastas, soluciones o suspensiones acuosas (véase, por ejemplo, Hardman *et al.* (2001) "Goodman y Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics", McGraw-Hill, Nueva York, NY; Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", Lippincott, Williams, y Wilkins, Nueva York, NY; Avis *et al.* (eds.) (1993) "Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications", Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) "Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets", Marcel Dekker, NY; Lieberman *et al.* (eds.) (1990) "Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems", Marcel Dekker, NY; Weiner y Kotkoskie (2000) "Excipient Toxicity and Safety", Marcel Dekker, Inc., Nueva York, NY).

La toxicidad y eficacia terapéutica de las composiciones de anticuerpo, administradas solas o en combinación con un agente inmunosupresor, pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la  $DL_{50}$  (la dosis letal para el 50 % de la población) y la  $DE_{50}$  (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y efectos terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la proporción de  $DL_{50}$  con respecto a  $DE_{50}$ . Se prefieren anticuerpos que muestran elevados índices terapéuticos. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivo celular y estudios con animales se pueden usar para formular una selección de dosis para su uso

en seres humanos. La dosis de dichos compuestos está preferentemente en un intervalo de concentraciones en circulación que incluye la DE<sub>50</sub> con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar en este intervalo dependiendo de la forma farmacéutica empleada y la vía de administración utilizada.

- 5 El modo de administración no es particularmente importante. Las vías adecuadas de administración pueden incluir, por ejemplo, administración oral, rectal, transmucosa o intestinal; suministro parenteral, incluyendo inyecciones intramusculares, subcutáneas, intramedulares, así como inyecciones intratecales, intraventriculares directas, intravenosas, intraperitoneales, intranasales o intraoculares. La administración del anticuerpo usado en la composición farmacéutica o para la práctica del método de la presente invención se puede realizar de varios modos  
10 convencionales, tales como ingestión oral, inhalación, aplicación tópica, o inyección cutánea, subcutánea, intraperitoneal, parenteral, intrarterial o intravenosa. Se prefiere la administración intravenosa al paciente.

Como alternativa, se puede administrar el anticuerpo de una forma local en lugar de sistémica, por ejemplo, mediante inyección del anticuerpo directamente en una articulación artrítica o lesión inducida por patógenos  
15 caracterizada por inmunopatología, a menudo en una formulación de depósito o de liberación sostenida. Además, se puede administrar el anticuerpo en un sistema de suministro de fármaco dirigido, por ejemplo, en un liposoma recubierto con un anticuerpo específico de tejido, dirigiéndose, por ejemplo, a la articulación artrítica o lesión inducida por patógenos caracterizada por inmunopatología. Los liposomas se dirigirán a y se absorberán selectivamente por el tejido afectado.

La selección de una pauta de administración para un agente terapéutico depende de varios factores, incluyendo la tasa de renovación sérica o tisular de la entidad, el nivel de síntomas, la inmunogenicidad de la entidad y la accesibilidad de las células diana en la matriz biológica. Preferentemente, una pauta de administración aumenta al  
20 máximo la cantidad de agente terapéutico suministrado al paciente, en consonancia con un nivel aceptable de efectos secundarios. Por consiguiente, la cantidad de agente biológico suministrado depende, en parte, de la entidad particular y de la gravedad de la afección que se esté tratando. Hay directrices disponibles sobre la selección de las dosis apropiadas de anticuerpos, citocinas y moléculas pequeñas (véase, por ejemplo, Wawrzynczak (1996) "Antibody Therapy", Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, RU; Kresina (ed.) (1991) "Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis", Marcel Dekker, Nueva York, NY; Bach (ed.) (1993) "Monoclonal Antibodies and Peptide  
25 Therapy in Autoimmune Diseases", Marcel Dekker, Nueva York, NY; Baert, *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 348:601-608; Milgrom, *et al.* (1999) *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973; Slamon, *et al.* (2001) *New Engl. J. Med.* 344:783-792; Beniaminovitz, *et al.* (2000) *New Engl. J. Med.* 342:613-619; Ghosh, *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 348:24-32; Lipsky, *et al.* (2000) *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602).

La determinación de la dosis apropiada es realizada por el médico, por ejemplo, usando parámetros o factores conocidos o sospechosos en la técnica por afectar al tratamiento o que se prevé que afectan al tratamiento. En general, la dosis comienza con una cantidad algo inferior a la dosis óptima y después se aumenta en pequeños incrementos hasta que se consigue el efecto deseado u óptimo con relación a cualquier efecto secundario negativo. Las mediciones importantes de diagnóstico incluyen las de los síntomas de, por ejemplo, la inflamación o el nivel de  
35 citocinas inflamatorias producidas. Preferentemente, un agente biológico que se usará se obtiene esencialmente de la misma especie que el animal diana para el tratamiento, reduciendo de este modo al mínimo una respuesta inflamatoria, autoinmune o proliferativa hacia el reactivo.

Se pueden proporcionar anticuerpos, fragmentos de anticuerpo y citocinas por infusión continua, o por dosis a intervalos de, por ejemplo, un día, una semana o de 1 a 7 veces a la semana. Las dosis se pueden proporcionar por  
45 vía intravenosa, subcutánea, tópica, oral, nasal, rectal, intramuscular, intracerebral, intraespinal o por inhalación. Un protocolo de dosis preferido es aquel que implica la dosis o frecuencia de dosis máxima que evita efectos secundarios no deseados significativos. Una dosis semanal total es, en general, de al menos 0,05 µg/kg de peso corporal, más en general de al menos 0,2 µg/kg, lo más generalmente de al menos 0,5 µg/kg, normalmente de al menos 1 µg/kg, más normalmente de al menos 10 µg/kg, lo más normalmente de al menos 100 µg/kg, preferentemente de al menos 0,2 mg/kg, más preferentemente de al menos 1,0 mg/kg, lo más preferentemente de al menos 2,0 mg/kg, óptimamente de al menos 10 mg/kg, más óptimamente de al menos 25 mg/kg y lo más óptimamente de al menos 50 mg/kg (véase, por ejemplo, Yang *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 349:427-434; Herold  
50 *et al.* (2002) *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698; Liu *et al.* (1999) *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67: 451-456; Portielji *et al.* (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:133-144). La dosis deseada de un agente terapéutico de molécula pequeña, por ejemplo, un mimético peptídico, producto natural o agente químico orgánico, es aproximadamente la misma que para un anticuerpo o polipéptido en moles/kg.

Como se usa en el presente documento, "inhibir" o "tratar" o "tratamiento" incluyen un aplazamiento del desarrollo de los síntomas asociados con la enfermedad autoinmune o inmunopatología inducida por patógenos y/o una reducción de la gravedad de dichos síntomas que se desarrollarán o se espera que se desarrollen. Los términos incluyen además mejorar los síntomas inmunopatológicos existentes no controlados o no deseados relacionados con la autoinmunidad o inducidos por patógenos, prevenir síntomas adicionales, y mejorar o prevenir las causas subyacentes de dichos síntomas. Así pues, los términos indican que se ha conferido un resultado beneficioso a un  
60 sujeto vertebrado con una enfermedad o un síntoma inmunopatológico inducido por autoinmunidad o patógenos, o con el potencial de desarrollar dicha enfermedad o síntoma.

Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto de unión específico de IL-23p19, por ejemplo un anticuerpo, que cuando se administra solo o en combinación con un agente terapéutico adicional a una célula, tejido o sujeto es eficaz para prevenir o mejorar la enfermedad autoinmune o la enfermedad o afección inmunopatológica inducida por patógenos, o la progresión de la enfermedad. Una dosis terapéuticamente eficaz se refiere además a la cantidad del compuesto suficiente para producir la mejora de los síntomas, por ejemplo, tratamiento, curación, prevención o mejora de la afección médica relevante, o un aumento en la tasa de tratamiento, curación, prevención o mejora de dichas afecciones. Cuando se aplica a un principio activo individual administrado solo, una dosis terapéuticamente eficaz se refiere a ese ingrediente solo. Cuando se aplica a una combinación, una dosis terapéuticamente eficaz se refiere a cantidades combinadas de los principios activos que provocan el efecto terapéutico, se administran en combinación, en serie o de forma simultánea. Una cantidad eficaz de agente terapéutico reducirá los síntomas normalmente en al menos un 10 %; normalmente en al menos un 20 %; preferentemente en al menos aproximadamente un 30 %; más preferentemente en al menos un 40 %, y lo más preferentemente en al menos un 50 %.

Los métodos para la coadministración o el tratamiento con un segundo agente terapéutico, por ejemplo, una citocina, esteroide, agente quimioterapéutico, antibiótico o radiación, son bien conocidos en la técnica, véase, por ejemplo, Hardman, *et al.* (eds.) (2001) "Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics", 10<sup>a</sup> ed., McGraw-Hill, Nueva York, NY; Poole y Peterson (eds.) (2001) "Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach", Lippincott, Williams & Wilkins, Filadelfia, PA; Chabner y Longo (eds.) (2001) "Cancer Chemotherapy and Biotherapy", Lippincott, Williams & Wilkins, Filadelfia, PA. La composición farmacéutica de la invención también puede contener otros agentes inmunosupresores o inmunomoduladores. Se puede emplear cualquier agente inmunosupresor adecuado incluyendo, pero sin limitación, agentes antiinflamatorios, corticosteroides, ciclosporina, tacrolimus (es decir, FK-506), sirolimus, interferones, receptores solubles de citocinas (por ejemplo, sTNRF y sIL-1R), agentes que neutralizan la actividad de citocina (por ejemplo, inflixmab, etanercept), micofenolato mofetilo, 15-desoxiespergualina, talidomida, glatiramer, azatioprina, leflunomida, ciclofosfamida, metotrexato y similares. La composición farmacéutica también puede emplearse con otras modalidades terapéuticas tales como fototerapia y radiación.

Los sujetos veterinarios, experimentales o de investigación típicos incluyen monos, perros, gatos, ratas, ratones, conejos, cobayas, caballos y seres humanos.

#### VII. Producción de anticuerpos

Para la producción recombinante de los anticuerpos de la presente invención, se aíslan los ácidos nucleicos que codifican las dos cadenas y se insertan en uno o más vectores replicables para su clonación adicional (amplificación del ADN) o para su expresión. El ADN que codifica el anticuerpo monoclonal se aísla fácilmente y se secuencian usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas oligonucleotídicas que son capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesada y ligera del anticuerpo). Hay muchos vectores disponibles. Los componentes vectoriales, en general, incluyen, pero sin limitación, uno o más de los siguientes: una secuencia señal, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y una secuencia de terminación de la transcripción. En una realización, las cadenas tanto ligera como pesada del anticuerpo anti-IL-23p19 humanizado de la presente invención se expresan a partir del mismo vector, por ejemplo, un plásmido o un vector adenovírico.

Los anticuerpos de la presente invención se pueden producir mediante cualquier método conocido en la técnica. Los anticuerpos se pueden expresar en células de mamífero o de insecto en cultivo, tales como células de ovario de hámster chino (CHO), células renales embrionarias humanas (HEK) 293, células NSO de mieloma de ratón, células renales de cría de hámster (BHK), células de ovario de *Spodoptera frugiperda* (Sf9). Los anticuerpos secretados de células CHO se pueden recuperar y purificar mediante métodos cromatográficos convencionales, tales como cromatografía con proteína A, de intercambio catiónico, de intercambio aniónico, de interacción hidrófoba y con hidroxapatita. Los anticuerpos resultantes se concentran y se almacenan en acetato sódico 20 mM, pH 5,5.

Los anticuerpos de la presente invención se pueden producir en levaduras de acuerdo con los métodos descritos en el documento WO2005/040395. En resumen, los vectores que codifican las cadenas ligera o pesada individuales de un anticuerpo de interés se introducen en diferentes células haploides de levadura, por ejemplo, diferentes tipos de apareamiento de la levadura *Pichia pastoris*, siendo dichas células haploides de levadura opcionalmente auxótrofos complementarios. Las células haploides de levadura transformadas se pueden aparear o fusionar luego para dar una célula diploide de levadura capaz de producir la cadena tanto pesada como ligera. La cepa diploide entonces es capaz de secretar el anticuerpo completamente ensamblado y biológicamente activo. Los niveles de expresión relativa de las dos cadenas pueden optimizarse, por ejemplo, usando vectores con diferente número de copias, usando promotores de transcripción de diferente fuerza, o induciendo la expresión a partir de promotores inducibles que dirigen la transcripción de los genes que codifican una o ambas cadenas.

Se pueden introducir las respectivas cadenas pesada y ligera de una pluralidad de diferentes anticuerpos anti-IL-23p19 (los anticuerpos "originales") en células haploides de levadura para crear una biblioteca de cepas haploides

de levadura de un tipo de apareamiento que expresa una pluralidad de cadenas ligeras, y una biblioteca de cepas haploides de levadura de un tipo diferente de apareamiento que expresa una pluralidad de cadenas pesadas. Estas bibliotecas de cepas haploides pueden aparearse (o fusionarse como esferoplastos) para producir una serie de células diploides de levadura que expresan una biblioteca combinatoria de anticuerpos compuestos de las diversas posibles permutaciones de cadenas ligera y pesada. Entonces, se puede explorar la biblioteca combinatoria de anticuerpos para determinar si alguno de los anticuerpos tiene propiedades que sean superiores (por ejemplo, afinidad superior por IL-23) a las de los anticuerpos originales. Véase, por ejemplo, el documento WO2005/040395.

En otra realización, los anticuerpos de la presente divulgación son anticuerpos de dominio humanos en los que partes de un dominio variable del anticuerpo están unidas en un polipéptido de peso molecular de aproximadamente 13 kDa. Véase, por ejemplo, la publicación de patente de EE.UU. n.º 2004/0110941. Dichos agentes de bajo peso molecular, de un solo dominio, proporcionan numerosas ventajas en términos de facilidad de síntesis, estabilidad y vía de administración.

#### VIII. Usos

La presente divulgación proporciona métodos de uso de anticuerpos anti-IL-23 diseñados por ingeniería genética para el tratamiento y el diagnóstico de trastornos y afecciones inflamatorias, por ejemplo, del sistema nervioso central, del sistema nervioso periférico y del tracto gastrointestinal, así como trastornos autoinmunes y proliferativos.

Se proporcionan métodos para el tratamiento de, por ejemplo, la esclerosis múltiple (MS), incluyendo MS remitente-recurrente y MS progresiva primaria, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (a.k.a. ELA; enfermedad de Lou Gehrig), lesión cerebral isquémica, enfermedades por priones y demencia asociada con el VIH. También se proporcionan métodos de tratamiento del dolor neuropático, neuropatías postraumáticas, síndrome de Guillain-Barre (GBS), polineuropatía periférica y regeneración nerviosa.

Se proporcionan métodos para el tratamiento o la mejora de una o más de las siguientes características, síntomas, aspectos, manifestaciones o signos de esclerosis múltiple, u otro trastorno o afección inflamatorio del sistema nervioso: lesiones cerebrales, lesiones de la mielina, desmielinización, placas desmielinizadas, alteración visual, pérdida de equilibrio o coordinación, espasticidad, alteraciones sensoriales, incontinencia, dolor, debilidad, fatiga, parálisis, alteración cognitiva, bradifrenia, diplopía, neuritis óptica, parestesia, ataxia del caminar, fatiga, síntoma de Uhthoff, neuralgia, afasia, apraxia, convulsiones, pérdida de campos visuales, demencia, fenómenos extrapiramidales, depresión, sensación de bienestar u otros síntomas emocionales, mielopatía progresiva crónica y un síntoma detectado por imágenes de resonancia magnética (MRI), incluyendo lesiones potenciadas por el gadolinio, registros de potencial provocado o examen de líquido cefalorraquídeo (véase, por ejemplo, Kenealy *et al.* (2003) *J. Neuroimmunol.* 143:7-12; Noseworthy *et al.* (2000) *New Engl. J. Med.* 343:938-952; Miller *et al.* (2003) *New Engl. J. Med.* 348:15-23; Chang *et al.* (2002) *New Engl. J. Med.* 346:165-173; Bruck y Stadelmann (2003) *Neurol. Sci.* 24 Supl.5:S265-S267).

Además, la presente divulgación proporciona métodos de tratamiento y de diagnóstico de enfermedades inflamatorias del intestino, por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad celíaca y síndrome del intestino irritable. Se proporcionan métodos de tratamiento o de mejora de uno o más de los siguientes síntomas, aspectos, manifestaciones o signos de un trastorno inflamatorio del intestino: mala absorción de alimentos, motilidad alterada del intestino, infección, fiebre, dolor abdominal, diarrea, hemorragia rectal, pérdida de peso, signos de malnutrición, enfermedad perianal, masa abdominal e insuficiencia en el crecimiento, así como complicaciones intestinales tales como estenosis, fistulas, megacolon tóxico, perforación y cáncer, e incluyendo hallazgos endoscópicos tales como friabilidad, úlceras aftosas y lineales, aparición de cálculos, pseudopólipos, e implicación rectal y, además, anticuerpos anti-levadura (véase, por ejemplo, Podolsky, *supra*; Hanauer, *supra*; Horwitz y Fisher, *supra*).

También se contempla el tratamiento de trastornos inflamatorios tales como soriasis, dermatitis atópica, artritis, incluyendo artritis reumatoide, osteoartritis y artritis soriásica, trastornos autoinmunes tales como lupus eritematoso sistémico y diabetes de tipo I, y trastornos proliferativos tales como cáncer (véanse, por ejemplo, las publicaciones de patente PCT WO 04/081190; WO 04/071517; WO 00/53631; y WO 01/18051).

Los anticuerpos contra IL-23p19 o los fragmento de unión al antígeno de los mismos de la presente invención también se pueden usar en combinación con uno o más antagonistas de otras citocinas (por ejemplo, anticuerpos), incluyendo, pero sin limitación, IL-17A, IL-1 $\beta$ , IL-6 y TGF- $\beta$ . Véase, por ejemplo, Veldhoen (2006) *Immunity* 24:179-189; Dong (2006) *Nat. Rev. Immunol.* 6(4):329-333. Se puede administrar un compuesto de unión a IL-23p19 de la invención antes, de forma concurrente con o después de la administración del otro antagonista o antagonistas, tal como un anticuerpo anti-IL-17A. Se puede usar un compuesto de unión a IL-17A en el tratamiento de la fase temprana aguda de una respuesta inmune adversa (por ejemplo, MS, enfermedad de Crohn) solo o en combinación con un anticuerpo antagonista de IL-23 de la presente invención. En el último caso, el compuesto de unión a IL-17A se puede reducir gradualmente y continuarse el tratamiento con el antagonista de IL-23 solo para mantener la supresión de la respuesta adversa. Como alternativa, se pueden administrar antagonistas de IL-1 $\beta$ , IL-6 y/o TGF- $\beta$  de forma concurrente con, antes o después de un anticuerpo contra IL-23p19 o fragmento de unión al antígeno del

mismo de la presente invención. Véase Cua y Kastelein (2006) *Nat. Immunol.* 7:557-559; Tato y O'Shea (2006) *Nature* 441: 166-168; Iwakura e Ishigame (2006) *J. Clin. Invest.* 116:1218-1222.

La invención es como se define en las reivindicaciones, y se comprende mejor con referencia a los siguientes ejemplos, que no pretenden limitar las invenciones a las realizaciones específicas.

5 Las realizaciones específicas descritas en el presente documento se ofrecen a modo meramente ilustrativo, y la invención estará limitada por los términos de las reivindicaciones adjuntas; asimismo, la invención no estará limitada por las realizaciones específicas que se han presentado en el presente documento a modo de ejemplo.

## 10 Ejemplos

### Ejemplo 1

#### Métodos generales

15 Se describen métodos convencionales en Biología molecular (Maniatis *et al.* (1982) "Molecular Cloning, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook y Russell (2001) "Molecular Cloning", 3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) "Recombinant DNA", Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). Los métodos convencionales también aparecen en Ausubel *et al.* (2001) "Current Protocols in Molecular Biology", Vol.1-4, John Wiley and Sons, Inc. Nueva York, NY, que describe la clonación en células bacterianas y la mutagénesis del ADN (Vol. 1), la clonación en células de mamífero y levadura (Vol. 2), los glicoconjugados y la expresión de proteínas (Vol. 3) y la bioinformática (Vol. 4).

25 Se describen métodos de purificación de proteínas incluyendo inmunoprecipitación, cromatografía, electroforesis, centrifugación y cristalización (Coligan *et al.* (2000) "Current Protocols in Protein Science", Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York). Se describen el análisis químico, la modificación química, la modificación posterior a la traducción, la producción de proteínas de fusión, la glicosilación de (véase, por ejemplo, Coligan *et al.* (2000) "Current Protocols in Protein Science", Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York; Ausubel *et al.* (2001) "Current Protocols in Molecular Biology", Vol. 3, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pág. 16.0.5-16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) "Products for Life Science Research", St. Louis, MO; pág. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) BioDirectory, Piscataway, N.J., pág. 384-391). Se describen la producción, purificación y fragmentación de anticuerpos policlonales y monoclonales (Coligan *et al.* (2001) "Current Protocols in Immunology", Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York; Harlow y Lane (1999) "Using Antibodies", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow y Lane, *supra*). Se dispone de técnicas convencionales para caracterizar las interacciones de ligando/receptor (véase, por ejemplo, Coligan *et al.* (2001) "Current Protocols in Immunology", Vol. 4, John Wiley, Inc., Nueva York).

40 Se dispone de métodos de citometría de flujo, incluyendo los sistemas de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS) (véase, por ejemplo, Owens *et al.* (1994) "Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice", John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) "Flow Cytometry", 2ª ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) "Practical Flow Cytometry", John Wiley and Sons, Hoboken, NJ). Se dispone de reactivos fluorescentes adecuados para modificar ácidos nucleicos, incluyendo cebadores y sondas de ácido nucleico, polipéptidos y anticuerpos para su uso, por ejemplo, como reactivos de diagnóstico. (Catálogo de Molecular Probes (2003), Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; catálogo de Sigma-Aldrich (2003), St. Louis, MO).

45 Se describen métodos convencionales de histología del sistema inmune (véase, por ejemplo, Muller-Harmelink (ed.) (1986) "Human Thymus: Histopathology and Pathology", Springer Verlag, Nueva York, NY; Hiatt, *et al.* (2000) "Color Atlas of Histology", Lippincott, Williams y Wilkins, Filadelfia, PA; Louis, *et al.* (2002) "Basic Histology: Text and Atlas", McGraw-Hill, Nueva York, NY).

50 Se dispone de paquetes de software y bases de datos para determinar, por ejemplo, fragmentos antigénicos, secuencias líder, plegamiento de proteínas, dominios funcionales, sitios de glicosilación y alineaciones de secuencia (véase, por ejemplo, GenBank, Vector NTI® Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DeCypher® (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne *et al.* (2000) "Bioinformatics" 16: 741-742; Menne *et al.* (2000) "Bioinformatics Applications Note" 16:741-742; Wren *et al.* (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68:177-181; von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21; von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:4683-4690.

### Ejemplo 2

#### Humanización de anticuerpos anti-IL-23p19 humana

60 La humanización de los anticuerpos anti-IL-23p19 humana de ratón 6H12 y 7G10 se realizó como se describe esencialmente en las publicaciones de solicitud de patente PCT WO 2005/047324 y WO 2005/047326.

65 Se clonaron los dominios variables de cadena ligera y pesada de los anticuerpos monoclonales anti-IL-23

seleccionados (6H12 y 7G10) y se fusionaron a una cadena ligera kappa humana (dominio CL) y una cadena pesada de IgG1 humana (CH1-bisagra-CH2-CH3), respectivamente.

Se comparó la secuencia de aminoácidos del dominio VH no humano con un grupo de cinco secuencias de aminoácidos de la línea germinal VH humanas; un representante de los subgrupos IGHV1 e IGHV4 y tres representantes del subgrupo IGHV3. Los subgrupos de VH se enumeran en M.-P. Lefranc, "Nomenclature of the Human Immunoglobulin Heavy (IGH) Genes", *Experimental and Clinical Immunogenetics*, 18:100-116, 2001. Los anticuerpos H12 y 7G10 obtuvieron la mayor puntuación contra la línea germinal de cadena pesada humana DP-14 del subgrupo VH1.

10 Para todos los anticuerpos no humanos, las secuencias de VL fueron de la subclase kappa de VL. La secuencia de aminoácidos del dominio VL no humano se comparó con un grupo de cuatro secuencias de ácidos amino de la línea germinal kappa de VL humanas. El grupo de cuatro se compone de un representante de cada uno de los cuatro subgrupos de VL humanos establecidos enumerados en V. Barbie y M.-P. Lefranc, "The Human Immunoglobulin Kappa Variable (IGKV) Genes and Joining (IGKJ) Segments", *Experimental and Clinical Immunogenetics*, 15:171-183, 1998 y M.-P. Lefranc, "Nomenclature of the Human Immunoglobulin Kappa (IGK) Genes", *Experimental and Clinical Immunogenetics*, 18:161-174, 2001. Los cuatro subgrupos también se corresponden con los cuatro subgrupos enumerados en Kabat *et al.* "Sequences of Proteins of Immunological Interest", Departamento estadounidense de servicios sanitarios y sociales, publicación del NIH. 91-3242, 5ª Ed., 1991, pág. 103-130. Los anticuerpos H12 y 7G10 obtuvieron la mayor puntuación contra la línea germinal de cadena ligera humana Z-012 del subgrupo VLkI.

Una vez que se determinaron las secuencias diana de aminoácidos de las cadenas pesadas y ligeras variables, se generaron plásmidos codificantes del anticuerpo humanizado de longitud completa. A partir de un plásmido codificante de un anticuerpo anti-IL-10 humanizado que tiene los marcos de la línea germinal VH3 DP-46 y VLkI Z-012, se modificaron los plásmidos usando mutagénesis de Kunkel (véase, por ejemplo, Kunkel T. A. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci EE.UU.* 82: 488-492) para cambiar la secuencia de ADN a las secuencias humanizadas de 6H12 o 7G10 diana. Al mismo tiempo, se incorporó la optimización de codones en los cambios para proporcionar la expresión potencialmente óptima. Las secuencias de cadena pesada y ligera humanizadas resultantes, que incluyen secuencias señal, se proporcionan en las SEQ ID NO: 1 y 2 (anticuerpo 6H12) y en las SEQ ID NO: 3 y 4 (para el anticuerpo 7G10), respectivamente.

Se realizó un procedimiento análogo para determinar los marcos humanos adecuados para la humanización de anticuerpos 10H11 y 22E9. El anticuerpo 10H11 obtuvo la mayor puntuación contra la línea germinal de cadena pesada de anticuerpo humano DP-46 del subgrupo VH3 y la línea germinal de cadena ligera Z-A27 del subgrupo VLkIII. El anticuerpo 22E9 obtuvo la mayor puntuación contra la línea germinal de cadena pesada de anticuerpo humano DP-14 del subgrupo VH1 y la línea germinal de cadena ligera Z-B3 del subgrupo VLkIV. Las secuencias de los dominios variables de cadena pesada y ligera humanizadas resultantes se proporcionan en las SEQ ID NO: 90 y 91 (anticuerpo 10H11) y en las SEQ ID NO: 92 y 93 (para el anticuerpo 22E9), respectivamente.

### 40 Ejemplo 3

Determinación de la constante de disociación en equilibrio ( $K_D$ ) para el anticuerpo humanizado anti-IL-23 humana usando tecnología KinExA

45 La constante de disociación en equilibrio ( $K_D$ ) para los anticuerpos anti-IL-23 humana se determinó usando el instrumento KinExA 3000 (Sapidyne Instruments Inc., [www.sapidyne.com](http://www.sapidyne.com)). KinExA usa el principio del método de ensayo de exclusión cinética basado en la medición de la concentración de anticuerpo no complejo en una mezcla de anticuerpo, antígeno y complejo de anticuerpo-antígeno. La concentración de anticuerpo libre se mide exponiendo la mezcla a un antígeno inmovilizado en fase sólida durante un período de tiempo muy corto. En la práctica, esto se consigue haciendo fluir la mezcla de antígeno-anticuerpo en fase de solución pasando por las partículas recubiertas con antígeno atrapadas en una celda de flujo. Los datos generados por el instrumento se analizan usando un software adaptado. Las constantes de equilibrio se calculan usando una teoría matemática basada en las siguientes suposiciones:

55 1. La unión sigue la siguiente ecuación de unión reversible para el equilibrio:

$$K_{on} [Ab] [Ag] = K_{off} [AbAg]$$

2. El anticuerpo y el antígeno se unen 1:1 y el anticuerpo total equivale al complejo de antígeno-anticuerpo más el anticuerpo libre.

60 3. La señal del instrumento está linealmente relacionada con la concentración de anticuerpo libre.

Se recubren partículas PMMA de 98 micrómetros (Sapidyne, n.º de Cat. 440198) con rhIL-23 biotinilada de acuerdo con el "Protocolo de recubrimiento de partículas PMMA con ligandos biotinilados que tienen brazos conectores cortos o inexistentes" de Sapidyne. Para la biotinilación de rhIL-23, se usó EZ-link TFP PEO-biotina (Pierce, n.º de Cat. 21219) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (boletín Pierce 0874). Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con el manual KinExA 3000.

5 Se usaron tres formas de la proteína heterodimérica IL-23. La proteína IL-23 humana nativa o no unida compuesta de dos cadenas, P19 y p40, que están unidas covalentemente por un enlace disulfuro. La IL-23 "no unida" se compone de p40 humana coexpresada en células 293T con p19:péptido con marcador FLAG humano y purificada sobre una columna de afinidad de péptido anti-FLAG. Mediante SDS-PAGE no reductora, la IL-23 no unida purificada mostró la presencia de formas multiméricas de IL-23 en los pesos moleculares correspondientes a dímeros, trímeros, etc.

10 La IL-23 "Elastikina" es un péptido monocatenario compuesto de péptido con marcador FLAG:péptido con marcador GLU:p40 humana:conector Elasti:p19 humana. La secuencia del péptido de conector Elasti se deriva de la forma de R & D Systems de IL-23 comercial. La Elastikina se expresó en células 293T y se purificó sobre una columna de afinidad de péptido anti-FLAG. Mediante SDS-PAGE no reductora, la elastikina IL-23 purificada mostró la presencia de formas de IL-23 multiméricas a los pesos moleculares correspondientes a dímeros, trímeros, etc.

15 Se adquirió una forma no unida, no dirigida, de IL-23p19/p40 humana nativa coexpresada en células SF9 en eBioscience (n.º de cat. 34-8239). Mediante SDS-PAGE no reductora, la IL-23 humana purificada de eBioscience no mostró la presencia de formas de IL-23 multiméricas.

20 Todas las series se realizaron por duplicado en las siguientes condiciones: Volumen de la muestra: 1,5 ml; caudal de la muestra: 0,25 ml/min; volumen del marcador: 0,5 ml; caudal del marcador: 0,25 ml/min; concentración de anticuerpo monoclonal: 0,1 nM; concentración más alta de Ag(hIL-23): 4,0 nM; concentración más baja de Ag(hIL-23): 3,91 pM. Se prepararon diluciones en serie con factor de dilución de dos del antígeno y se mezclaron con el anticuerpo a concentración constante. La mezcla se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente hasta el equilibrio.

25

Tabla 4  
Valores de  $K_D$  determinados mediante KinExa

IL-23 humana	Anticuerpo	$K_D$ (pM)
elastikina	6H12	54,48
no unida	6H12	>1.200
eBioscience	6H12	>1.000, >920
elastikina	hu6H12	28, 36
elastikina	7G10	41, 9,2
elastikina	hu7G10	49, 16
elastikina	39G2	19
no unida	39G2	34
eBioscience	39G2	620
elastikina	35F12	53
eBioscience	35F12	> 700
elastikina	13B5	22
eBioscience	13B5	55
elastikina	7D7	2,7
elastikina	3D7	0,84
elastikina	49A10	7,4
elastikina	13F11	11
elastikina	33B12	6,8

#### Ejemplo 4

30 Determinación de la constante de disociación en equilibrio ( $K_D$ ) para anticuerpos humanizados anti-IL-23p19 humana usando tecnología BIAcore

35 Se inmovilizaron todos los ligandos (anticuerpos monoclonales anti-IL-23) en un chip detector BIAcore CM5 usando un procedimiento convencional de acoplamiento con amina. Todos los experimentos se llevaron a cabo a 25 °C y a un caudal de 10  $\mu$ l/min en PBS. Todas las formas de IL-23 se diluyeron en PBS para producir diversas concentraciones. Las constantes cinéticas para las diversas interacciones se determinan usando el software BIAevaluation 3.1. La  $K_D$  se determinó usando las constantes de velocidad de disociación y asociación calculadas. Las proteínas se usaron a las siguientes concentraciones: anticuerpo monoclonal anti-IL-23 hu7G10 en PBS a 0,33 mg/ml; anticuerpo monoclonal anti-IL-23 hu6H12 en PBS a 0,2 mg/ml; IL-23 humana bac-wt en PBS a 0,30 mg/ml; IL-23 humana de eBioscience en PBS a 0,10 mg/ml; IL-23 humana N222Q en PBS a 0,33 mg/ml.

45 Además de las proteínas indicadas anteriormente, se usaron otras formas. La IL-23 humana "Bac-wt" es idéntica a la IL-23 humana "elastikina" en secuencia. Esta IL-23 se expresó en células SF9 y se purificó sobre una columna de afinidad de péptido anti-FLAG. Mediante SDS-PAGE no reductora, la IL-23 purificada no mostró presencia de las formas multiméricas de IL-23. La IL-23 humana "N222Q" es idéntica a la IL-23 humana "elastikina" en secuencia a excepción de la modificación de Asn222 en Gln en la subunidad p40 (n.º de acceso del GenBank P29460). Esta IL-

23 se expresó en células SF9 y se purificó sobre una columna de afinidad de péptido anti-FLAG. Mediante SDS-PAGE no reductora, IL-23 N222Q purificada no mostró presencia de formas multiméricas de IL-23.

Se usaron las siguientes condiciones de inmovilización y de regeneración para todos los experimentos: caudal: 5 µl/min; NHS/EDC: 10 µl; proteína: 5 µg/ml en acetato sódico 10 mM, pH 5,0: 10 µl; etanolamina: 40 µl; regeneración: 5 µl de NaOH 50 mM.

La Tabla 5 proporciona los valores de  $K_D$  determinados mediante BIAcore.

Tabla 5  
Determinación de  $K_D$  mediante BIAcore

IL-23 humana	Anticuerpo	$K_D$ (pM)
bac-wt	hu7G10	10
N222Q	hu7G10	0,3, 1,0
eBioscience	hu7G10	3,2, 9,0
bac-wt	hu6H12	5,1
N222Q	hu6H12	0,5
eBioscience	hu6H12	4,1

10

### Ejemplo 5

Bioensayos de proliferación para la evaluación de anticuerpos anti-IL-23 neutralizantes

15 Se evaluó la capacidad de un anticuerpo monoclonal para neutralizar biológicamente IL-23 mediante la aplicación de bioensayos de proliferación a corto plazo que emplean células que expresan receptores recombinantes de IL-23. Las células transfectantes Ba/F3-2.2lo proliferan en respuesta a la IL-23 humana, y la respuesta puede ser inhibida por un anticuerpo anti-IL-23 neutralizante. Se valora un anticuerpo frente a una concentración de IL-23 seleccionada de la región lineal de la curva de respuesta a la dosis, casi plana y por encima de la  $CE_{50}$ . La proliferación, o la ausencia de la misma, se miden por medios colorimétricos usando azul de Alamar, un colorante indicador de crecimiento basado en la detección de la actividad metabólica. La capacidad de un anticuerpo para neutralizar la IL-23 se evalúa mediante su valor de  $CI_{50}$ , o la concentración del anticuerpo que induce la mitad de la inhibición máxima de la proliferación de IL-23.

25 *Línea de células transfectantes de IL-23R y cultivo celular*

Línea celular	Expresión de IL-23R	Respuesta de IL-23
Ba/F3-2.2lo-hIL-23R	hIL-23R, hIL-12RB1	Humana, Cyno

Los transfectantes Ba/F3 se mantienen en medio RPMI-1640, suero de ternera fetal al 10 %, 2-mercaptoetanol 50 µM, L-Glutamina 2 mM, 50 µg/ml de penicilina-estreptomycinina y 10 ng/ml de IL-3 de ratón. "Cyno" se refiere a IL-23 de mono Cynomolgus.

30

#### *Medio de bioensayo de proliferación*

Los bioensayos de proliferación de Ba/F3 se realizaron en medio RPMI-1640, suero de ternera fetal al 10 %, 2-mercaptoetanol 50 µM, L-Glutamina 2 mM y 50 µg/ml de penicilina-estreptomycinina.

35

#### *Procedimiento*

Los ensayos se realizaron en placas de 96 pocillos de fondo plano (Falcon 3072 o similar). Todas las preparaciones de reactivos y las suspensiones de células utilizaron el medio bioensayo apropiado. El volumen de ensayo fue de 150 µl por pocillo. Las valoraciones de un anticuerpo anti-IL-23 se incubaron previamente con IL-23 durante 30-60 minutos a temperatura ambiente, tiempo durante el que se prepararon las células. Las células se añadieron a placas después de la preincubación del anticuerpo-citocina. Se incubaron las placas de bioensayo en una cámara de cultivo de tejidos humidificada (37 °C, CO<sub>2</sub> al 5 %) durante 40 a 48 h. Una vez finalizado el tiempo de cultivo, se añadió azul de Alamar (Biosource n.º de cat. DAL1100) a 16,5 µl/pocillo y se dejó desarrollar durante 5-12 horas. Entonces, se leyó la absorbancia a 570 nm y 600 nm (lector de microplacas VERSAmax, Molecular Probes), y se obtuvo una  $DO_{570-600}$ . Se realizaron duplicados para cada muestra.

45

#### *Preparación de las células*

50

Las células se usaron en un estado de crecimiento sano, en general, a densidades de 3-8 x 10<sup>5</sup>/ml. Las células se contaron, se sedimentaron, se lavaron dos veces en medio de bioensayo y se suspendieron a la densidad apropiada para la siembra en placa.

55 *Respuesta a la dosis de IL-23*

Se preparó la IL-23 a la concentración de trabajo (3 ng/ml) y se añadió al primer pocillo a 75 µl. Se realizaron diluciones en serie de 1:3 mediante la valoración de 25:50 µl en un medio de bioensayo a través de pocillos, dejando 50 µl/pocillo. Las células se suspendieron a la densidad apropiada para la siembra en placa a 100 µl por pocillo.

5 *Respuesta a la dosis del anticuerpo neutralizante*

10 El anticuerpo se preparó a la concentración de trabajo (30 µg/ml) y se añadió al primer pocillo a 75 µl. Se realizaron diluciones en serie de 1:3 mediante la valoración de 25:50 µl en un medio de bioensayo a través de los pocillos, dejando 50 µl por pocillo. Se añadió la IL-23 a la concentración apropiada a 50 µl por pocillo a los pocillos que contenían el anticuerpo valorado. Las células se suspendieron a la densidad adecuada para la siembra en las placas a 50 µl por pocillo, y se añadieron tras la preincubación de anticuerpo y citocina.

15 *Determinación de CI<sub>50</sub>*

Usando el software GraphPad Prism 3.0, se representa la absorbancia en función de la concentración de citocina o anticuerpo, y se determinan los valores de CI<sub>50</sub> usando regresión no lineal (ajuste de curva) de dosis-respuesta sigmoidal.

20 La Tabla 6 muestra los valores de CI<sub>50</sub> para el bloqueo de la proliferación de células Ba/F3 por anticuerpos anti-IL-23p19.

Tabla 6  
Valores de CI<sub>50</sub> para el bloqueo de la proliferación de células Ba/F3 por anticuerpos anti-IL-23p19

IL-23 humana	Anticuerpo	CI <sub>50</sub> (nM)
elastikina	7G10	22, 18
no unida	7G10	3.000
eBioscience	7G10	3.100,510
elastakina	hu7G10	29
no unida	hu7G10	10.000
eBioscience	hu7G10	7.800
elastakina	6H12	9, 11
no unida	6H12	1.500
eBioscience	6H12	1.300,500
elastakina	hu6H12	27
no unida	hu6H12	4.000
eBioscience	hu6H12	3.200
elastakina	13B5	7, 5
no unida	13B5	113
eBioscience	13B5	31
elastakina	33B12	4, 3
no unida	33B12	193
eBioscience	33B12	57
elastakina	39G2	9, 5
no unida	39G2	67
eBioscience	39G2	11
elastakina	35F12	15, 5
no unida	35F12	73
eBioscience	35F12	12
elastakina	3D7	3, 3
no unida	3D7	37
eBioscience	3D7	2

**Ejemplo 6**

Epitopo para el anticuerpo anti-IL-23p19 7G10

30

Se determinó el epítipo para la unión del anticuerpo 7G10 a IL-23p19 humana (SEQ ID NO: 29) por cristalografía de rayos X. Se determinaron las coordenadas para un complejo de un fragmento Fab de la forma quimérica del anticuerpo 7G10 y la IL-23 humana no unida, que comprende las subunidades p19 y p40. La secuencia de IL-23p19 humana se encuentra en la SEQ ID NO: 29 y la secuencia de la forma madura de IL-12/IL-23 p40 humana se encuentra en los restos 23-328 del número de acceso del GenBank P29460. La forma quimérica del anticuerpo 7G10 comprende i) una cadena pesada que comprende el dominio V<sub>H</sub> de 7G10 de ratón (SEQ ID NO: 6) fusionado a una región constante de la cadena pesada humana (restos 135-464 de SEQ ID NO: 3) e ii) una cadena ligera que comprende el dominio V<sub>L</sub> de 7G10 de ratón (SEQ ID NO: 18) fusionado a una región constante de cadena ligera humana (restos 130-233 de SEQ ID NO: 4).

Los restos de aminoácidos de IL-23 en una distancia de 4,0 Å de restos en el anticuerpo 7G10 E82, G86, S87, D88, T91, G92, E93, P94, S95, H106, P133, S134, Q135, P136, W137, R139, L140. Los restos adicionales K83, F90 y L110 estaban en una distancia de 5,0 Å. Un resto de aminoácido en IL-23p19 se considera dentro de una distancia dada del anticuerpo (por ejemplo, 4,0 Å o 5,0 Å) si las coordenadas de cualquier átomo del resto están dentro de la distancia dada de las coordenadas de cualquier átomo del anticuerpo.

La mayoría de estos restos contactados pertenecen a dos grupos principales a lo largo de la estructura primaria de IL-23p19, comprendiendo el primer grupo los restos 82-95 (estando 11 de los 14 restos dentro de una distancia de 5,0 Å del anticuerpo y estando 9 de los 14 dentro de una distancia de 4,0 Å) y comprendiendo el segundo grupo los restos 133-140 (estando 7 de los 8 restos dentro de una distancia de 4,0 Å del anticuerpo). Estos grupos definen epítipos que comprenden tramos de 8 o más restos de aminoácidos contiguos de IL-23p19 en los que el 50 %, 70 % u 85 % o más de los restos están dentro de una distancia de 5,0 Å del anticuerpo.

Cabría esperar que los anticuerpos que se unen a uno cualquiera o ambos grupos bloquearan la unión del anticuerpo 7G10. Dada la potente homología de secuencia entre las seis secuencias de CDR (véanse las FIG. 1A-1C y 2A-2C), es probable que los otros anticuerpos que comprenden la "(a) subfamilia de cadena ligera" (6H12, 33B12, 13F11, 13B5, 13G1, 11C10, 7E2, 30F11, 34E4, 6H4, 33D2) también se unan a esencialmente el mismo epítipo en IL-23p19 que el anticuerpo 7G10. Las secuencias de consenso de CDR de los anticuerpos de la secuencia de dominio variable de la "(a) subfamilia de cadena ligera" se proporcionan en las SEQ ID NO: 69, 72 y 75. Las correspondientes secuencias de consenso de dominio variable de cadena pesada se proporcionan en las SEQ ID NO: 66-68. Cabría esperar que los anticuerpos que se unen al mismo epítipo que el anticuerpo 7G10 presentan actividades biológicas similares, tales como el bloqueo de la proliferación de células Ba/F3 en el ensayo descrito en el Ejemplo 5 y la Tabla 6, aunque quizás con afinidades y C<sub>150</sub> algo variables.

La Tabla 7 proporciona una breve descripción de las secuencias de la lista de secuencias.

Tabla 7

Identificadores de secuencia	
SEQ ID NO:	Descripción
1	HC de hum6H12
2	LC de hum6H12
3	HC de hum7G10
4	LC de hum7G10
5	V <sub>H</sub> de m6H12
6	V <sub>H</sub> de m7G10
7	V <sub>H</sub> de m13F11
8	V <sub>H</sub> de m13B5
9	V <sub>H</sub> de m21A10
10	V <sub>H</sub> de m33B12
11	V <sub>H</sub> de m39G2
12	V <sub>H</sub> de m35F12
13	V <sub>H</sub> de m49A10
14	V <sub>H</sub> de m3D7
15	V <sub>H</sub> de m34F9
16	V <sub>H</sub> de m7D7
17	V <sub>L</sub> de m6H12
18	V <sub>L</sub> de m7G10
19	V <sub>L</sub> de m13F11
20	V <sub>L</sub> de m13B5
21	V <sub>L</sub> de m21A10
22	V <sub>L</sub> de m33B12
23	V <sub>L</sub> de m39G2
24	V <sub>L</sub> de m35F12
25	V <sub>L</sub> de m49A10

## ES 2 619 845 T3

26	V <sub>L</sub> de m34F9
27	V <sub>L</sub> de m7D7
28	V <sub>L</sub> de m3D7
29	IL23p19 humana
30	IL-23p19 murina
31	V <sub>H</sub> de m13G1
32	V <sub>H</sub> de m11C10
33	V <sub>H</sub> de m7E2
34	V <sub>H</sub> de m30F11
35	V <sub>H</sub> de m34E4
36	V <sub>H</sub> de m6H4
37	V <sub>H</sub> de m33D2
38	V <sub>H</sub> de m1E10
39	V <sub>H</sub> de m20A9
40	V <sub>H</sub> de m22E9
41	V <sub>H</sub> de m29D5
42	V <sub>H</sub> de m5B12
43	V <sub>H</sub> de m9C9
44	V <sub>H</sub> de m11B10
45	V <sub>H</sub> de m30E1
46	V <sub>H</sub> de m10G8
47	V <sub>H</sub> de m19E9
48	V <sub>H</sub> de m10H11
49	V <sub>L</sub> de m13G1
50	V <sub>L</sub> de m11C10
51	V <sub>L</sub> de m7E2
52	V <sub>L</sub> de m30F11
53	V <sub>L</sub> de m34E4
54	V <sub>L</sub> de m6H4
55	V <sub>L</sub> de m33D2
56	V <sub>L</sub> de m1E10
57	V <sub>L</sub> de m20A9
58	V <sub>L</sub> de m22E9
59	V <sub>L</sub> de m29D5
60	V <sub>L</sub> de m5B12
61	V <sub>L</sub> de m9C9
62	V <sub>L</sub> de m11B10
63	V <sub>L</sub> de m10G8
64	V <sub>L</sub> de m19E9
65	V <sub>L</sub> de m10H11
66	CDR-H1 Consenso
67	CDR-H2 Consenso
68	CDR-H3 Consenso
69	CDR-L1(a) Consenso
70	CDR-L1(b) Consenso
71	CDR-L1(c) Consenso
72	CDR-L2(a) Consenso
73	CDR-L2(b) Consenso
74	CDR-L2(c) Consenso
75	CDR-L3(a) Consenso
76	CDR-L3(b) Consenso
77	CDR-L3(c) Consenso
78	CDR-H1 Variable
79	CDR-H2 Variable
80	CDR-H3 Variable
81	CDR-L1(a) Variable
82	CDR-L1(b) Variable
83	CDR-L1(c) Variable
84	CDR-L2(a) Variable
85	CDR-L2(b) Variable
86	CDR-L2(c) Variable
87	CDR-L3(a) Variable
88	CDR-L3(b) Variable

# ES 2 619 845 T3

89	CDR-L3(c) Variable
90	hum10H11 V <sub>H</sub>
91	hum10H11 V <sub>L</sub>
92	hum22E9 V <sub>H</sub>
93	hum22E9 V <sub>L</sub>

## LISTADO DE SECUENCIAS

- 5        <110> Schering Corporation
- <120> Anticuerpos anti-IL-23 diseñados por ingeniería genética
- <130> BP06380
- 10       <150> 60/713.585
- <151> 31-08-2005
- <160> 93
- 15       <170> PatentIn versión 3.3
- <210> 1
- <211> 464
- <212> PRT
- 20       <213> Artificial
- <220>
- <223> Regiones marco conservadas humanas, CDR de roedor
- 25       <220>
- <221> SEÑAL
- <222> (1)..(19)
- <220>
- 30       <221> DOMINIO
- <222> (20)..(134)
- <223> Dominio variable de cadena pesada
- <220>
- 35       <221> MISC\_FEATURE
- <222> (45)..(54)
- <223> CDR-H1
- <220>
- 40       <221> MISC\_FEATURE
- <222> (69)..(85)
- <223> CDR-H2
- <220>
- 45       <221> MISC\_FEATURE
- <222> (118)..(123)
- <223> CDR-H3
- <220>
- 50       <221> DOMINIO
- <222> (135)..(242)
- <223> Dominio constante de cadena pesada 1
- <220>
- 55       <221> DOMINIO
- <222> (243)..(357)
- <223> Dominio constante de cadena pesada 2 y bisagra
- <220>
- 60       <221> DOMINIO

ES 2 619 845 T3

<222> (358)..(464)

<223> Dominio constante de cadena pesada 3

<400> 1

5

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

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

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe  
35 40 45

Asn Arg Tyr Leu Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu  
50 55 60

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn Pro Asn Asn Ala Gly Thr Asn Tyr Asn  
65 70 75 80

Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser  
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val  
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asn Trp Asp Gln Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
115 120 125

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

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
165 170 175

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
180 185 190

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser



ES 2 619 845 T3

420

425

430

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

- 5 <210> 2
- <211> 233
- <212> PRT
- <213> Artificial
  
- 10 <220>
- <223> Regiones marco conservadas humanas, CDR de roedor
  
- <220>
- <221> SEÑAL
- <222> (1)..(19)
  
- 15 <220>
- <221> DOMINIO
- <222> (20)..(129)
- <223> Dominio variable de la cadena ligera
  
- 20 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (43)..(53)
- <223> CDR-L1
  
- 25 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (69)..(75)
- <223> CDR-L2
  
- 30 <220>
- <221> MISC\_FEATURE
- <222> (108)..(116)
- <223> CDR-L3
  
- 35 <220>
- <221> DOMINIO
- <222> (130)..(233)
- <223> Dominio constante de cadena ligera
  
- 40 <400> 2

Met Ala Pro Val Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Phe Leu Pro Ala  
 1 5 10 15

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

ES 2 619 845 T3

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

Ser Asp Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys  
 50 55 60

Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg  
 65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser  
 85 90 95

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser  
 100 105 110

Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 115 120 125

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu  
 130 135 140

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro  
 145 150 155 160

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly  
 165 170 175

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr  
 180 185 190

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

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val  
 210 215 220

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

- <210> 3
- <211> 464
- 5 <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- 10 <223> Regiones marco conservadas humanas, CDR de ratón
- <220>
- <221> SEÑAL
- <222> (1)..(19)
- 15 <220>

ES 2 619 845 T3

<221> DOMINIO  
 <222> (20)..(134)  
 <223> Dominio variable de cadena pesada  
  
 5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (45)..(54)  
 <223> CDR-H1  
  
 10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (69)..(85)  
 <223> CDR-H2  
  
 15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (118)..(123)  
 <223> CDR-H3  
  
 20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (135)..(242)  
 <223> Dominio CH1  
  
 25 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (243)..(357)  
 <223> Dominio CH2 y bisagra  
  
 30 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (358)..(464)  
 <223> Dominio CH3  
  
 35 <400> 3

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

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

ES 2 619 845 T3

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

ES 2 619 845 T3

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

<210> 4  
 <211> 233  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

5

<220>  
 <223> Regiones marco conservadas humanas, CDR de ratón

10

<220>  
 <221> SEÑAL  
 <222> (1)..(19)

15

<220>  
 <221> DOMINIO

ES 2 619 845 T3

<222> (20)..(129)  
 <223> Dominio variable de la cadena ligera

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (43)..(53)  
 <223> CDR-L1

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (69)..(75)  
 <223> CDR-L2

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (108)..(116)  
 <223> CDR-L3

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (130)..(233)  
 <223> Dominio constante de cadena ligera

25 <400> 4

Met Ala Pro Val Gln Leu Leu Gly Leu Leu Val Leu Phe Leu Pro Ala  
 1 5 10 15

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

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

Ser Asp Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys  
 50 55 60

Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg  
 65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser  
 85 90 95

ES 2 619 845 T3

Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Ser  
 100 105 110

Phe Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr  
 115 120 125

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu  
 130 135 140

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro  
 145 150 155 160

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly  
 165 170 175

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr  
 180 185 190

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

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val  
 210 215 220

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

5 <210> 5  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 5

ES 2 619 845 T3

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Asn Arg Tyr  
 20 25 30

Leu Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

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

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

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

Ala Ala Asn Trp Asp Gln Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ala  
 115

5 <210> 6  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 6

ES 2 619 845 T3

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asn  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Val Ser Ala  
 115

5 <210> 7  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 7

ES 2 619 845 T3

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly His Thr Leu Thr Arg Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Val Ser Ala  
 115

<210> 8  
 <211> 116  
 5 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<220>  
 <221> DOMINIO  
 10 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

<220>  
 <221> DOMINIO  
 15 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

<220>  
 <221> DOMINIO  
 20 <222> (99)..(105)  
 <223> CDRH3

<400> 8

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

ES 2 619 845 T3

```

1             5             10             15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
                20                25                30

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

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser
                115

```

```

5 <210> 9
  <211> 115
  <212> PRT
  <213> Mus musculus

```

```

10 <220>
    <221> DOMINIO
    <222> (26)..(35)
    <223> CDRH1

```

```

15 <220>
    <221> DOMINIO
    <222> (50)..(66)
    <223> CDRH2

```

```

20 <220>
    <221> DOMINIO
    <222> (99)..(104)
    <223> CDRH3

```

<400> 9

```

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

```

ES 2 619 845 T3

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

Val Met His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Asp Trp Ile  
 35 40 45

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

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

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

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

Val Ser Ser  
 115

5 <210> 10  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 10

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

25 Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr



ES 2 619 845 T3

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

Gly Met Ile His Pro Ser Asp Ser Glu Thr Arg Thr Asn Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Met Ile Thr Ala Pro Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala  
 115

5 <210> 12  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(107)  
 <223> CDRH3

<400> 12

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

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

25 Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

ES 2 619 845 T3

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

5 <210> 13  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(108)  
 <223> CDRH3

<400> 13

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

25

ES 2 619 845 T3

Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe  
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Arg Pro His Tyr Arg Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly  
 100 105 110

Thr Thr Val Ile Val Ser Ser  
 115

5 <210> 14  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(111)  
 <223> CDRH3

<400> 14

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

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

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

25 Gly Trp Ile Phe Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

ES 2 619 845 T3

	50		55		60											
	Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Thr	Ser	Ser	Thr	Thr	Ala	Tyr
	65					70					75					80
	Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Ala	Ser	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys
					85					90					95	
	Ala	Arg	Glu	Gly	Leu	His	Tyr	Phe	Gly	Leu	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp
				100					105					110		
	Gly	His	Gly	Thr	Ser	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
			115					120								

5 <210> 15  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(113)  
 <223> CDRH3

<400> 15

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

ES 2 619 845 T3

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

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

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

Val Trp Gly Thr Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser  
115 120

5 <210> 16  
<211> 124  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

10 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (26)..(35)  
<223> CDRH1

15 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (50)..(66)  
<223> CDRH2

20 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (99)..(113)  
<223> CDRH3

<400> 16

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

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

Trp Met Asp Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
35 40 45

25 Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Gly Tyr Val Glu Tyr Asn Gln Lys Phe  
50 55 60

ES 2 619 845 T3

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

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

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

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

<210> 17  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

5

<220>  
<221> DOMINIO  
<222> (24)..(34)  
<223> CDRL1

10

<220>  
<221> DOMINIO  
<222> (50)..(56)  
<223> CDRL2

15

<220>  
<221> DOMINIO  
<222> (89)..(97)  
<223> CDRL3

20

<400> 17

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

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

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

Lys Tyr Thr Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

25

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

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

<210> 18

ES 2 619 845 T3

<211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(34)  
 <223> CDRL1

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(56)  
 <223> CDRL2

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (89)..(97)  
 <223> CDRL3

20 <400> 18

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

25 <210> 19  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

30 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(34)  
 <223> CDRL1

35 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(56)  
 <223> CDRL2

40 <220>  
 <221> DOMINIO

ES 2 619 845 T3

<222> (89)..(97)  
 <223> CDRL3

<400> 19

5

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Ser His Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro  
 65 70 75 80

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

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

<210> 20  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10

<220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(34)  
 <223> CDRL1

15

<220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(56)  
 <223> CDRL2

20

<220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (89)..(97)  
 <223> CDRL3

25

<400> 20



ES 2 619 845 T3

```

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

```

```

5 <210> 22
   <211> 108
   <212> PRT
   <213> Mus musculus

10 <220>
   <221> DOMINIO
   <222> (24)..(34)
   <223> CDRL1

15 <220>
   <221> DOMINIO
   <222> (50)..(56)
   <223> CDRL2

20 <220>
   <221> DOMINIO
   <222> (89)..(97)
   <223> CDRL3

<400> 22

```

ES 2 619 845 T3

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

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

Leu His Trp Phe Gln Gln Arg Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45

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

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

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

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

5 <210> 23  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(38)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (54)..(60)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (93)..(101)  
 <223> CDRL3

<400> 23

ES 2 619 845 T3

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

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

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

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95

Glu Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Pro  
 100 105 110

<210> 24  
 <211> 112  
 5 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<220>  
 10 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(38)  
 <223> CDRL1

<220>  
 15 <221> DOMINIO  
 <222> (54)..(60)  
 <223> CDRL2

<220>  
 20 <221> DOMINIO  
 <222> (93)..(101)  
 <223> CDRL3

<400> 24

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

ES 2 619 845 T3

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

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

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

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

Pro Val Glu Glu Gly Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95

Glu Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Arg  
 100 105 110

<210> 25  
 <211> 112  
 5 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<220>  
 <221> DOMINIO  
 10 <222> (24)..(38)  
 <223> CDRL1

<220>  
 <221> DOMINIO  
 15 <222> (54)..(60)  
 <223> CDRL2

<220>  
 <221> DOMINIO  
 20 <222> (93)..(101)  
 <223> CDRL3

<400> 25

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

Gly Tyr Ser Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

25

ES 2 619 845 T3

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

5 <210> 26  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(38)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (54)..(60)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (93)..(101)  
 <223> CDRL3

<400> 26

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

ES 2 619 845 T3

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

Ala Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
85 90 95

Glu Leu Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg  
100 105 110

<210> 27  
<211> 112  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

5

<220>  
<221> DOMINIO  
<222> (24)..(38)  
<223> CDRL1

10

<220>  
<221> DOMINIO  
<222> (54)..(60)  
<223> CDRL2

15

<220>  
<221> DOMINIO  
<222> (93)..(101)  
<223> CDRL3

20

<400> 27

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser  
20 25 30

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

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

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
85 90 95

25

Glu Leu Pro Leu Ala Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Thr Pro  
100 105 110

<210> 28  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

30

ES 2 619 845 T3

<220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(34)  
 5 <223> CDRL1  
  
 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(56)  
 10 <223> CDRL2  
  
 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (89)..(97)  
 15 <223> CDRL3  
  
 <400> 28  
  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly  
 1 5 10 15  
  
 Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
  
 Leu Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
  
 Tyr Tyr Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro  
 65 70 75 80  
  
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Tyr  
 85 90 95  
  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105  
  
 20  
 <210> 29  
 <211> 170  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 25  
 <400> 29

ES 2 619 845 T3

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

Leu Ser Gln Lys Leu Cys Thr Leu Ala Trp Ser Ala His Pro Leu Val  
 20 25 30

Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr Thr Asn Asp  
 35 40 45

Val Pro His Ile Gln Cys Gly Asp Gly Cys Asp Pro Gln Gly Leu Arg  
 50 55 60

Asp Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile His Gln Gly Leu Ile Phe  
 65 70 75 80

Tyr Glu Lys Leu Leu Gly Ser Asp Ile Phe Thr Gly Glu Pro Ser Leu  
 85 90 95

Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu Leu Gly Leu  
 100 105 110

Ser Gln Leu Leu Gln Pro Glu Gly His His Trp Glu Thr Gln Gln Ile  
 115 120 125

Pro Ser Leu Ser Pro Ser Gln Pro Trp Gln Arg Leu Leu Leu Arg Phe  
 130 135 140

Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val Ala Ala Arg Val  
 145 150 155 160

Phe Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Ser Pro  
 165 170

<210> 30  
 <211> 175  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 <400> 30

5

ES 2 619 845 T3

Val Pro Arg Ser Ser Ser Pro Asp Trp Ala Gln Cys Gln Gln Leu Ser  
 1 5 10 15

Arg Asn Leu Cys Met Leu Ala Trp Asn Ala His Ala Pro Ala Gly His  
 20 25 30

Met Asn Leu Leu Arg Glu Glu Glu Asp Glu Glu Thr Lys Asn Asn Val  
 35 40 45

Pro Arg Ile Gln Cys Glu Asp Gly Cys Asp Pro Gln Gly Leu Lys Asp  
 50 55 60

Asn Ser Gln Phe Cys Leu Gln Arg Ile Arg Gln Gly Leu Ala Phe Tyr  
 65 70 75 80

Lys His Leu Leu Asp Ser Asp Ile Phe Lys Gly Glu Pro Ala Leu Leu  
 85 90 95

Pro Asp Ser Pro Met Glu Gln Leu His Thr Ser Leu Leu Gly Leu Ser  
 100 105 110

Gln Leu Leu Gln Pro Glu Asp His Pro Arg Glu Thr Gln Gln Met Pro  
 115 120 125

Ser Leu Ser Ser Ser Gln Gln Trp Gln Arg Pro Leu Leu Arg Ser Lys  
 130 135 140

Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Leu Ala Ile Ala Ala Arg Val Phe  
 145 150 155 160

Ala His Gly Ala Ala Thr Leu Thr Glu Pro Leu Val Pro Thr Ala  
 165 170 175

5 <210> 31  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 31

ES 2 619 845 T3

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

5 <210> 32  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

25 <400> 32

ES 2 619 845 T3

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr  
 20 25 30

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Val Pro Asn Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

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

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

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

Ser Ala

- <210> 33
- <211> 115
- 5 <212> PRT
- <213> *Mus musculus*
  
- <220>
- 10 <221> DOMINIO
- <222> (26)..(35)
- <223> CDRH1
  
- <220>
- 15 <221> DOMINIO
- <222> (50)..(66)
- <223> CDRH2
  
- <220>
- 20 <221> DOMINIO
- <222> (99)..(104)
- <223> CDRH3
  
- <400> 33

ES 2 619 845 T3

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

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

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

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

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

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

Thr Lys Asn Trp Asp Lys Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

5 <210> 34  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 34

ES 2 619 845 T3

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

- 5 <210> 35
- <211> 115
- <212> PRT
- <213> *Mus musculus*
- 10 <220>
- <221> DOMINIO
- <222> (26)..(35)
- <223> CDRH1
- 15 <220>
- <221> DOMINIO
- <222> (50)..(66)
- <223> CDRH2
- 20 <220>
- <221> DOMINIO
- <222> (99)..(104)
- <223> CDR3
- <400> 35

ES 2 619 845 T3

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

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

Asn Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Asn Asn Gly Ile Pro Asn Tyr Asn Gln Lys Phe  
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asn Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

Ala Leu Asn Trp Asp Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Ser  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

5 <210> 36  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 36

ES 2 619 845 T3

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

5 <210> 37  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 37

ES 2 619 845 T3

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Trp Asp Val Thr Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ala  
 115

5 <210> 38  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 38

ES 2 619 845 T3

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

5 <210> 39  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 39

ES 2 619 845 T3

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala His  
 20 25 30

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

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Phe  
 65 70 75 80

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

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

Val Ser Ser  
 115

5 <210> 40  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 40

ES 2 619 845 T3

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

<210> 41  
 <211> 115  
 5 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

<220>  
 <221> DOMINIO  
 10 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

<220>  
 <221> DOMINIO  
 15 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

<220>  
 <221> DOMINIO  
 20 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 41

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

ES 2 619 845 T3

```

1           5           10           15

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser
          115

```

5 <210> 42  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 42

```

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

```

ES 2 619 845 T3

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

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

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

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

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

Thr Ser Asn Trp Asp Val Gly Phe Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

5 <210> 43  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 43

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

25 Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

ES 2 619 845 T3

20

25

30

Leu Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Asn Phe  
 50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser  
 115

5 <210> 44  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 44

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

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

ES 2 619 845 T3

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

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

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

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

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

Val Ser Ser  
 115

5 <210> 45  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRH3

<400> 45

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

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

25 Asn Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

ES 2 619 845 T3

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

5 <210> 46  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(107)  
 <223> CDRH3

<400> 46

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

ES 2 619 845 T3

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

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 47  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRH1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRH2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(107)  
 <223> CDRH3

<400> 47

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

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

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

25 Ala Thr Ile Ser Arg Gly Gly Gly Asn Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

ES 2 619 845 T3

50

55

60

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 48  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

10 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (26)..(35)  
<223> CDRH1

15 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (50)..(66)  
<223> CDRH2

20 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (99)..(107)  
<223> CDRH3

<400> 48

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

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

Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val  
35 40 45

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

ES 2 619 845 T3

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 49  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

10 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (24)..(34)  
<223> CDRL1

15 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (50)..(56)  
<223> CDRL2

20 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (89)..(97)  
<223> CDRL3

<400> 49

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

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

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

Lys Phe Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

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

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

ES 2 619 845 T3

5 <210> 50  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(34)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(56)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (89)..(97)  
 <223> CDRL3

<400> 50

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

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

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

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

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

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

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

25 <210> 51  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

30 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(34)  
 <223> CDRL1

35 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(56)  
 <223> CDRL2

ES 2 619 845 T3

5 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (89)..(97)  
 <223> CDRL3

<400> 51

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

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

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

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

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

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

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

10 <210> 52  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(34)  
 <223> CDRL1

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(56)  
 <223> CDRL2

25 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (89)..(97)  
 <223> CDRL3

30 <400> 52

ES 2 619 845 T3

```

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

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

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

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

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

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

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

```

5 <210> 53  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(34)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(56)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (89)..(97)  
 <223> CDRL3

<400> 53

ES 2 619 845 T3

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

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

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

Lys Phe Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

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

<210> 54  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5

<220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(34)  
 <223> CDRL1

10

<220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(56)  
 <223> CDRL2

15

<220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (89)..(97)  
 <223> CDRL3

20

<400> 54

ES 2 619 845 T3

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

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

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

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

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

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

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

- <210> 55
- <211> 108
- 5 <212> PRT
- <213> *Mus musculus*
  
- <220>
- 10 <221> DOMINIO
- <222> (24)..(34)
- <223> CDRL1
  
- <220>
- 15 <221> DOMINIO
- <222> (50)..(56)
- <223> CDRL2
  
- <220>
- 20 <221> DOMINIO
- <222> (89)..(97)
- <223> CDRL3
  
- <400> 55

ES 2 619 845 T3

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

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

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

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

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

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

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

5 <210> 56  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(40)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (56)..(62)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (95)..(103)  
 <223> CDRL3

<400> 56

ES 2 619 845 T3

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

Glu Lys Ile Thr Met Thr Cys Lys Ser Ser Gln Thr Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

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

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

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys Arg

- <210> 57
- <211> 114
- 5 <212> PRT
- <213> *Mus musculus*
- <220>
- 10 <221> DOMINIO
- <222> (24)..(40)
- <223> CDRL1
- <220>
- 15 <221> DOMINIO
- <222> (56)..(62)
- <223> CDRL2
- <220>
- 20 <221> DOMINIO
- <222> (95)..(103)
- <223> CDRL3
- <400> 57

ES 2 619 845 T3

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val  
 50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys Arg

5 <210> 58  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(40)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (56)..(62)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (95)..(103)  
 <223> CDRL3

<400> 58

ES 2 619 845 T3

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

Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

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

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

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

Ile Ser Ser Val Arg Ala Glu Asp Leu Ala Phe Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys Arg

5 <210> 59  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(40)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (56)..(62)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (95)..(103)  
 <223> CDRL3

<400> 59

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

ES 2 619 845 T3

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

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile His Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val  
 50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys Arg

5 <210> 60  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(40)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (56)..(62)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (95)..(103)  
 <223> CDRL3

<400> 60

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

ES 2 619 845 T3

Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val  
 50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys Arg

5 <210> 61  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(40)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (56)..(62)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (95)..(103)  
 <223> CDRL3

<400> 61

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

25 Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

ES 2 619 845 T3

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val  
 50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Lys Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln  
 85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys Arg

5 <210> 62  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(40)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (56)..(62)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (95)..(103)  
 <223> CDRL3

<400> 62

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

25 Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Gln Asn Leu Leu Tyr Ser  
 20 25 30

ES 2 619 845 T3

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

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val  
 50 55 60

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

Ile Ser Ser Val Arg Ala Glu Asp Leu Ala Phe Tyr Tyr Cys Gln Gln  
 85 90 95

Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 100 105 110

Lys Arg

5 <210> 63  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(38)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (54)..(60)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (93)..(101)  
 <223> CDRL3

<400> 63

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

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

ES 2 619 845 T3

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

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95

Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110

5 <210> 64  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(38)  
 <223> CDRL1

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (54)..(60)  
 <223> CDRL2

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (93)..(101)  
 <223> CDRL3

<400> 64

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

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

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

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95

Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg Arg  
 100 105 110

<210> 65

ES 2 619 845 T3

<211> 112  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

5 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (24)..(38)  
 <223> CDRL1

10 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (54)..(60)  
 <223> CDRL2

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (93)..(101)  
 <223> CDRL3

20 <400> 65

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser  
 20 25 30

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

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

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

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg  
 85 90 95

Glu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg  
 100 105 110

25 <210> 66  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

30 <400> 66

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

35 <210> 67  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

ES 2 619 845 T3

<400> 67

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

Gly

5

<210> 68  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

10

<400> 68

Asn Trp Asp Val Gly Tyr  
1 5

15

<210> 69  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

20

<400> 69

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

25

<210> 70  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

30

<400> 70

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Phe Leu  
1 5 10 15

Ala

35

<210> 71  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

<400> 71

40

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

45

<210> 72  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> *Mus musculus*

<400> 72

50

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser  
1 5

ES 2 619 845 T3

5 <210> 73  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 <400> 73

Trp Ala Ser Thr Arg Lys Ser  
 1 5

10 <210> 74  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 15 <400> 74

Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser  
 1 5

20 <210> 75  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 25 <400> 75

Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Phe Thr  
 1 5

30 <210> 76  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 <400> 76

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr  
 1 5

40 <210> 77  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 <400> 77

Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Tyr Thr  
 1 5

45 <210> 78  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

50 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Puede ser Gly o Ala

55 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (2)..(2)

<223> Puede ser Tyr o His  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 5 <222> (3)..(3)  
 <223> Puede ser Thr o Ser  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 10 <222> (4)..(4)  
 <223> Puede ser Phe o Leu  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 15 <222> (6)..(6)  
 <223> Puede ser Ser, Arg, Ala o Thr  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 20 <222> (7)..(7)  
 <223> Puede ser Tyr, Asn o His  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 25 <222> (8)..(8)  
 <223> Puede ser Leu, Asn o Val  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 30 <222> (9)..(9)  
 <223> Puede ser Leu, Met o Ile  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 35 <222> (9)..(9)  
 <223> Puede ser Lys o His  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 40 <222> (10)..(10)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural  
 <400> 78  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 45 1 5 10  
 <210> 79  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 50 <213> *Mus musculus*  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 55 <222> (5)..(5)  
 <223> Puede ser Tyr o Asn  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 60 <222> (7)..(7)  
 <223> Puede ser Asp, Gly o Ala  
 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (8)..(8)

ES 2 619 845 T3

<223> Puede ser Ile, Gly o Val

<220>  
 <221> VARIANTE  
 5 <222> (9)..(9)  
 <223> Puede ser Thr o Pro

<220>  
 <221> VARIANTE  
 10 <222> (10)..(10)  
 <223> Puede ser Asn o Lys

<220>  
 <221> VARIANTE  
 15 <222> (13)..(13)  
 <223> Puede ser Glu o Gln

<220>  
 <221> VARIANTE  
 20 <222> (14)..(14)  
 <223> Puede ser Asn o Lys

<220>  
 <221> VARIANTE  
 25 <222> (16)..(16)  
 <223> Puede ser Arg o Lys

<220>  
 <221> VARIANTE  
 30 <222> (17)..(17)  
 <223> Puede ser Gly o His

<400> 79

Tyr Ile Asn Pro Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Asn Xaa Xaa Phe Xaa  
 1 5 10 15

35 Xaa

<210> 80  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 40 <213> *Mus musculus*

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (4)..(4)  
 45 <223> Puede ser Val, Arg, Leu, Gln o Phe

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (5)..(5)  
 50 <223> Puede ser Gly, Ala, Asp o Thr

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (6)..(6)  
 55 <223> Puede ser Tyr, Cys o Phe

<400> 80

Asn Trp Asp Xaa Xaa Xaa  
 1 5

ES 2 619 845 T3

5 <210> 81  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

10 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Puede ser Ser, Thr o Arg

15 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Puede ser Ser o Arg

<400> 81

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

20 <210> 82  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

25 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Puede ser Ser, Asn o Thr

30 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Puede ser Ser o Thr

35 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (11)..(11)  
 <223> Puede ser Asn o Ser

40 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Puede ser Phe o Tyr

45 <400> 82

Lys Ser Ser Gln Xaa Leu Leu Tyr Ser Xaa Xaa Gln Lys Asn Xaa Leu  
 1 5 10 15

Ala

50 <210> 83  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

55 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Puede ser Thr o Ala

ES 2 619 845 T3

5 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (9)..(9)  
 <223> Puede ser Ser o Phe

10 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> Puede ser Asp, Gly o Ala

15 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (12)..(12)  
 <223> Puede ser Ser o Asn

20 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (13)..(13)  
 <223> Puede ser Tyr o Phe

25 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (14)..(14)  
 <223> Puede ser Met, Phe o Leu

30 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Puede ser His o Asn

<400> 83

Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15

35 <210> 84  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

40 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Puede ser Tyr o Phe

45 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Puede ser Ala o Thr

50 <400> 84

Xaa Xaa Ser Gln Ser Ile Ser  
 1 5

55 <210> 85  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

60 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Puede ser Ala o Thr

ES 2 619 845 T3

<220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (6)..(6)  
 5 <223> Puede ser Lys o Glu  
 <400> 85

Trp Xaa Ser Thr Arg Xaa Ser  
 1 5

10 <210> 86  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

15 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (6)..(6)  
 20 <223> Puede ser Glu o Asp  
 <400> 86

Leu Ala Ser Asn Leu Xaa Ser  
 1 5

25 <210> 87  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

30 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (8)..(8)  
 <223> Puede ser Phe o Tyr  
 35 <400> 87

Gln Asn Gly His Ser Phe Pro Xaa Thr  
 1 5

40 <210> 88  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*

45 <220>  
 <221> VARIANTE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Puede ser Gln o His  
 <400> 88

50 Xaa Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr  
 1 5

55 <210> 89  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> *Mus musculus*  
 <220>

ES 2 619 845 T3

<221> VARIANTE  
<222> (8)..(8)  
<223> Puede ser Tyr, Leu o Trp

5 <400> 89

Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Xaa Thr  
1 . 5

10 <210> 90  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Regiones marco conservadas humanas, CDR de roedor

20 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (26)..(35)  
<223> CDRH1

25 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (50)..(66)  
<223> CDRH2

30 <220>  
<221> DOMINIO  
<222> (99)..(107)  
<223> CDRH3

<400> 90

ES 2 619 845 T3

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

115

5 <210> 91  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Artificial

10 <220>  
 <223> Regiones marco conservadas humanas, CDR de roedor

15 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (26)..(35)  
 <223> CDRL1

20 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (50)..(66)  
 <223> CDRL2

25 <220>  
 <221> DOMINIO  
 <222> (99)..(104)  
 <223> CDRL3

<400> 91



ES 2 619 845 T3

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser  
 115

- <210> 93
- <211> 116
- 5 <212> PRT
- <213> Artificial
  
- <220>
- 10 <223> Regiones marco conservadas humanas, CDR de roedor
  
- <220>
- <221> DOMINIO
- <222> (24)..(40)
- <223> CDRL1
- 15
  
- <220>
- <221> DOMINIO
- <222> (56)..(62)
- <223> CDRL2
- 20
  
- <220>
- <221> DOMINIO
- <222> (95)..(103)
- <223> CDRL3
- 25
  
- <400> 93

ES 2 619 845 T3

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

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, que se une a IL-23p19 humana en un epítipo que comprende los restos 82-95 y los restos 133-140 de SEQ ID NO: 29.
2. El anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 1 que se une a un epítipo que comprende los restos E82, G86, S87, D88, T91, G92, E93, P94, S95, H106, P133, S134, Q135, P136, W137, R139 y L140 de SEQ ID NO: 29.
- 10 3. El anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 1, comprendiendo el anticuerpo:
- 15 una CDRL1 que consiste en los restos 43-53 de SEQ ID NO: 4;  
una CDRL2 que consiste en los restos 69-75 de SEQ ID NO: 4;  
una CDRL3 que consiste en los restos 108-116 de SEQ ID NO: 4;  
una CDRH1 que consiste en los restos 45-54 de SEQ ID NO: 3;  
una CDRH2 que consiste en los restos 69-85 de SEQ ID NO: 3; y  
una CDRH3 que consiste en los restos 118-123 de SEQ ID NO: 3.
- 20 4. El anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 3, en el que:
- 25 la región variable de cadena ligera del anticuerpo, o del fragmento de unión del mismo, comprende la secuencia de los restos 20-129 de SEQ ID NO: 4, o una variante de la misma; y  
la región variable de cadena pesada del anticuerpo, o del fragmento de unión del mismo, comprende la secuencia de los restos 20-134 de SEQ ID NO: 3, o una variante de la misma;  
en donde la variante comprende hasta 20 sustituciones de aminoácidos modificadas de manera conservativa.
5. El anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 4, en donde el compuesto de unión es un anticuerpo o un fragmento de unión del mismo que comprenden:
- 30 una región variable de cadena ligera que comprende los restos 20-129 de SEQ ID NO: 4; y  
una región variable de cadena pesada que comprende los restos 20-134 de SEQ ID NO: 3.
- 35 6. El anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 3 que bloquea la actividad mediada por IL-23.
7. Un ácido nucleico aislado que codifica la región variable de cadena ligera y la región variable de cadena pesada del anticuerpo, o del fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 4.
- 40 8. Un vector de expresión que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 7 unido operativamente a secuencias de control que son reconocidas por una célula hospedadora cuando la célula hospedadora está transfectada con el vector.
9. Una célula hospedadora que comprende el vector de expresión de la reivindicación 8.
- 45 10. Un método de producción de un polipéptido que comprende:
- 50 cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 9 en medio de cultivo en condiciones en las que se expresa la secuencia de ácido nucleico, produciendo así los polipéptidos que comprenden las regiones variables de cadenas ligera y pesada; y  
recuperar los polipéptidos de la célula hospedadora o del medio de cultivo.
- 55 11. El anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 2 que comprende una región constante de cadena pesada humana  $\gamma$ 1.
12. El anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 2 que comprende una región constante de cadena pesada humana  $\gamma$ 4.
- 60 13. El anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 1 que comprende un fragmento de anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en Fab, Fab', Fab'-SH, Fv, scFv, F(ab')<sub>2</sub> y un diacuerpo.
14. Una composición que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 4 en combinación con un vehículo o un diluyente farmacéuticamente aceptables.
- 65 15. La composición de la reivindicación 14, que comprende además un agente inmunosupresor o antiinflamatorio.
16. Una célula hospedadora que comprende:

(a) un vector de expresión que comprende una secuencia de ácido nucleico codificante de la cadena ligera del anticuerpo, o del fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 4; y

(b) un vector de expresión que comprende una secuencia de ácido nucleico codificante de la cadena pesada del anticuerpo, o del fragmento de unión al antígeno del mismo, de la reivindicación 4.

- 5
17. Un método de producción de un compuesto de unión que comprende:
- 10 cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 16 en medio de cultivo en condiciones en las que se expresan las secuencias de ácido nucleico, produciendo así los polipéptidos que comprenden las cadenas ligera y pesada del anticuerpo, o del fragmento de unión al antígeno del mismo; y recuperar el anticuerpo, o el fragmento de unión al antígeno del mismo, de la célula hospedadora o del medio de cultivo.

```

                                     ---CDRH1---
7G10  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTSNVMH  WVKQKPGQGLEWIG
6H12  EVHLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFNRYLIH  WVKQKPGQGLEWIG
13F11 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GHTLTRYLMH  WVQQKPGQGLEWIG
13B5  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTRYLMH  WVKQKPGQGLEWIG
7E2   EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTTYLMH  WVKQKPGQGLEWIG
13G1  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTSYLMH  WVKQKPGQGLEWIG
11C10 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTRYVMH  WVKQKPGQGLEWIG
1E10  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTSYVMH  WVKQKPGQGLEWIG
30F11 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  AYTFTRYLIH  WVKQKPRQGLEWIG
34E4  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFAYNMH  WVKQSHGKSLEWIG
5B12  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTSYVMH  WVKQKPGQGLEWIG
6H4   EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTRYLMH  WVKQKPGQGLEWIG
9C9   EVQLQQSGPELVKPGASVRMSCKAS  GYTFTSYLIH  WVKQKPGQGLEWIG
11B10 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTSYVMH  WVKQKPGQGLEWIG
30E1  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFAYNMH  WVKQSHGKSLEWIG
33D2  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTSYLMH  WVKQKPGQGLEWIG
20A9  EVQLKQSGLEVVKPGASVKMSCKAS  GYTFTAHLMH  WVKQRPGQGLEWIG
22E9  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTSYVMH  WVKQKPGQGLEWIG
29D5  EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYSFTSYVMH  WVKQKPGQGLEWIG
21A10 EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKAS  GYTFTSYVMH  WVKQKPGQGLDWIG
33B12 QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKAS  GYTFTSYSLK  WVKQRTGQGLEWIG
con   GYTFTSYLMH

10H11 EVMLVESGGGLVKPGGSLKLSKAAS  GFTFSSYSMS  WVRQTPEKRLEWVA
19E9  EVMLVESGGGLVKPGGSLKLSKAAS  GFTFSTYDMS  WVRQTPEKRLEWVA
10G8  EVMLVESGGGLVKPGGSLKLSKAAS  GFTFSSYSMS  WVRQTPEKRLEWVA

3D7   QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKAS  GYSFTSYIHI  WVKQRPGQGLEWIG

39G2  QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKAS  GYSFTSSWMN  WVKQRPGQGLEWIG
35F12 QVQLQQPGAELMRPGASVRLSCKAS  GYSFTTSWMN  WVKQRPGQGLEWIG
49A10 EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKAS  GYTFDYYMN  WVKQSHGKSLEWFG
34F9  QVQLQQSGAELAKPGASVKLSCKAS  GYTFPTFWMH  WVKQRPGQGLEWIG
7D7   QVQLQQSGAELAKPGASVKLSCKAS  GYFTNYWMD  WVKQRPGQGLEWIG

```

**Figura 1A**

```

-----CDRH2-----
7G10  YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAR
6H12  YINPNNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAA
13F11 YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAR
13B5  YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAR
7E2   YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTK
13G1  YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMDLSSLTSEDSAVYYCAI
11C10 YINPYNDVPTNYNENFKG KATLTSKSSSTASMELSSLTSEDSAVYYCAV
1E10  YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAS
30F11 YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAR
34E4  YINPNNGIPNYNQKFKG KATLTVNKSSSTAYMELRSLTSEDSAVFYCAL
5B12  YINPYNDGTTYNEKFKH KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTS
6H4   YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAR
9C9   YINPYNDGTTYNENFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAS
11B10 YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELGSLTSEDSAVYYCAS
30E1  YINPNNGGTTYNQKFKG KATLTVNKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCTL
33D2  YINPYNDGPKYNEQFKG KATLTSKSSNTAYMELSSLTSEDSAVYYCAR
20A9  YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAFMELSSLTSEDSAVYYCAS
22E9  YINPYNAGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCAS
29D5  YINPYNDGTTYNEKFRG KATLTSKSSNTAYLDLSSLTSEDSAVYYCAS
con   YINPYNDGTTYNEKFKG

21A10 YINPYNDGTTYNEKFKG KATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCTS
33B12 EIHPRSGNTHYNEKFKG KATLTADKSSSTAYMDLRSLTSEDSAVYFCAT

10H11 TISRGGGNTYYPDSVKG RFTISRDNANNNLFLRLSSLRSEDALYYCAR
19E9  TISRGGGNTYYPDSVKS RFTISRDNAKNNLYLQMSLRSVDTALYYCSR
10G8  TISRGGGNTYYPDSVKG RFTISRDNAKNNLYLRMSSLRSEDALYYCAR

3D7   WIFPGSGNTKYNEKFKG KATLTADTSSTAYMQLSSLTSEASAVYFCAR

39G2  MIHPSDSETRTNQKFKD KATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYCAR
35F12 MIHPSDSETRLNQNFKD KATLTVDRSSSTAYMQLNSPTSEDSAVYYCAR
49A10 DINPNNGDTSYNQKFKG KATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSADYYCAR
34F9  YINPSSGYTEYNQKFKD KATLTADKSSSTAYMQLSSLTYEDSAVYYCAR
7D7   YINPSSGYVEYNQKFKY KATLTADKTSSTAYMQLSSLTYDDSAVYYCAR

```

**Figura 1B**

```

-----CDRH3-----
7G10  NWDVAY          WGQGTLVTVSA
6H12  NWDQAY          WGQGTLVTVSA
13F11 NWDVAY          WGQGTLVTVSA
13B5  NWDVGGY        WGQGTTTLTVSS
7E2   NWDKGY          WGQGTTTLTVSS
13G1  NWDLAY          WGQGTLVTVSA
11C10 -WDFTY          WGQGTLVTVSA
1E10  NWDVGY          WGQGTTTLTVSS
30F11 NWDVAY          WGQGTLVTVSA
34E4  NWDLDY          WGQGTTLSVSS
5B12  NWDVGF          WGQGTTTLTVSS
6H4   NWDVTC          WGQGTLVTVSA
9C9   NWDVGY          WGQGTTTLTVSS
11B10 NWDVGY          WGQGTTTLTVSS
30E1  NWDLDY          WGQGTTTLTVSS
33D2  NWDVTC          WGQGTLVTVSA
20A9  NWDVGY          WGQGTTTLTVSS
22E9  NWDVGY          WGQGTTTLTVSS
29D5  NWDVGY          WGQGTTTLTVSS
con   NWDVGY

21A10 NWDRGY          WGQGTTTLTVSS
33B12 NWDLGY          WGQGTTITVSS

10H11 WPFSYGMDY        WGQGTSVTVSS
19E9  WPFSYAMDY        WGQGTSVTVSS
10G8  WPFSYGMDY        WGQGTSVTVSS

3D7   EGLHYFGLYAMDY   WGHGTSVTVSS

39G2  GMITAPTVY        WGQGTLVTVSA
35F12 GMITAPSVY        WGQGTLVTVSA
49A10 PHYRNWYFDV      WGTGTTVIIVSS
34F9  SPPYYYDSTYWSFDV WGTGTAVTVSS
7D7   SPPYYYANTYWSFDV WGTGTTVTVSS

```

Figura 1C

```

-----CDRL1-----
7G10  DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSISD-----YLN
6H12  DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSISD-----YLN
33B12 DIVLTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSISD-----YLN
13F11 DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQTISD-----YLN
13B5  DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSISD-----YLN
13G1  DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSISD-----YLN
11C10 DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQRISD-----YLY
7E2   DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSISD-----YLN
30F11 DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSISD-----YLN
34E4  DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSIRD-----YLY
6H4   DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSISD-----YLN
33D2  DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSC  RASQSISD-----YLN
con   RASQSISD-----YLN

1E10  DIVMSQSPSSLAVSVGEEKITMTC  KSSQTLLYSSNQNFLA
20A9  DIVMSQSPSSVAVSVGEEKVTMSC  KSSQSLLYSSNQNFLA
22E9  DIVMSQSPSSVAVSVGEEKVTMSC  KSSQSLLYSSNQNFLA
29D5  DIVMSQSPSSQTVSVGERVTMSC  KSSQSLLYSSNQNFLA
5B12  DIVMSQSPSSLAVSVGEEKVTMNC  KSSQSLLYSTNQNFLA
9C9   DIVMSQSPSSLPVSVGEEKVTMSC  KSSQSLLYSSSQKNYLA
11B10 DIVMSQSPSSVAVSVGEEKVTMNC  KSSQNLLYSSNQNFLA
con   KSSQSLLYSSNQNFLA

3D7   DIQMTQTTSSLSASLGDRVITSC  SASQGISN-----YLN

21A10 DIQMTQSPASLSASVGETVTITC  RASGNIHN-----YLT

10G8  DIVLTQSPASFAVALGQRATISC  RASKSVSTSDYS--YMH
19E9  DIVLTQSPATSLAVSLGQRATISC  RASKSVSTSDYS--YMH
10H11 DIVLTQSPASLAVALGQRATISC  RASKSVSTSDYS--YMH
39G2  DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC  RASKSVSTSAYS--YFH
35F12 DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC  RASKSVSTSAYS--YFH
49A10 DIVLTQSPASLVVSLGQRATISC  RASKSVSTSGYS--FLN
34F9  DIGLTQSPASLAVSLGQRATISC  RASKSVSAFGYN--YMH
7D7   DIGLTQSPASLAVSLGQRATISC  RASKSVSTSGYS--FMH
con   RASKSVSTSDYS--YMH

```

Figura 2A

-CDRL2-

7G10	WYRQKSHESPRLLIK	YASQSI	GIPSRFSGSGSGS
6H12	WYQOKSHESPRLLIK	YTSQSI	GIPSRFSGSGSGS
33B12	WFQQRSHESPRLLIK	YASQSI	GIPSRFSGSGSGS
13F11	WYQOKSHESPRLLIK	YASQSI	GIPSRFSGSGSGS
13B5	WYQOKSHESPRLLIK	YASQSI	GIPSRFSGSGSGS
13G1	WYQOKSHESPRLLIK	FASQSI	GIPSRFSGSGSGS
11C10	WYQOKSHESPRLLIK	YASQSI	GIPSRFSGSGSGS
7E2	WYQOKSHESPRLLIK	YASQSI	GIPSRFSGSGSGS
30F11	WYQOKSHESPRLLIK	YASQSI	GIPTRFSGSGSGS
34E4	WYQOKSHESPRLLIK	FASQSI	GIPSRFSGSGSGS
6H4	WYHQKSHESPRLLIK	YASQSI	GIPSRFSGSGSGS
33D2	WYQOKSHESPRLLIK	YASQSI	GIPSRFSGSGSGS
con		YASQSI	
1E10	WYRQKPGQSPKLLIY	WTSTRES	GVPDRFTGSGSGT
20A9	WYQOKPGQSPKLLIF	WTSTRKS	GVPDRFTGSGSGT
22E9	WYQOKPGQSPKLLIY	WASTRES	GVPDRFTGSGSGT
29D5	WYQOKPGQSPKLLIH	WASTRES	GVPDRFTGSGSGT
5B12	WYQOKPGQSPKLLIY	WASTRKS	GVPDRFTGSGSGT
9C9	WSQOKPGQSPKLLIY	WASTRKS	GVPDRFTGSGSGT
11B10	WYQOKPGQSPKLLIY	WASTRKS	GVPDRFTGSGSGT
con		WASTRKS	
3D7	WFQOKPDGTVKLLIY	YTSSLHS	GVPSRFSGSGSGT
21A10	WYQOKQGKSPQLLVY	NAKTLAD	GVPSRFSGSGSGT
10G8	WYQOKPGQPPKLLIY	LASNLD	GVPARFSGSGSGT
19E9	WYQOKPGQPPKLLIY	LASNLE	GVPARFSGSGSGT
10H11	WYQOKPGQPPKLLIY	LASNLD	GVPARFSGSGSGT
39G2	WYQOKPGQPPKLLIY	LASNLE	GVPARFSGSGSGT
35F12	WYQOKPGQPPKLLIY	LASNLE	GVPARFSGSGSGT
49A10	WYQOKPGQPPKLLIY	LASNLE	GVPARFSGSGSGT
34F9	WYQOKPGQPPKLLIY	LASNLE	GVPARFSGSGSGT
7D7	WYQOKPGQPPKLLIY	LASNLE	GVPARFSGSGSGT
con		LASNLE	

Figura 2B

--CDRL3--

7G10	DFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPFT	FGSGTKLEIKR
6H12	DFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPFT	FGSGTKLEIKR
33B12	DFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPFT	FGSGTKLEIKR
13F11	HFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPFT	FGSGTKLEIKR
13B5	DFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPFT	FGSGTKLEIKR
13G1	DFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPYT	FGGGTKLEIKR
11C10	DFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPYT	FGGGTKLEIKR
7E2	EFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPFT	FGSGTKLEIKR
30F11	DFTLTINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPFT	FGSGTKLEIKR
34E4	DFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPYT	FGGGTKLEIKR
6H4	DFTLTINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPFT	FGSGTKLEIKR
33D2	DFTLSINSVEPEDVGVYYC	QNGHSFPFT	FGSGTKLEIKR
con		QNGHSFPFT	
1E10	DFTLTISSVKAEDLAVYYC	QQYYSYPFT	FGSGTKLEIKR
20A9	DFTLTISSVKAEDLAVYYC	QQYYSYPFT	FGSGTKLEIKR
22E9	DFILTISSVRAEDLAFYYC	QQYYSYPFT	FGSGTKLEIKR
29D5	DFTLTISSVKAEDLALYYC	QQYYSYPFT	FGSGTKLEIKR
5B12	DFTLTISSVKAEDLAVYYC	QQYYSYPFT	FGSGTKLEIKR
9C9	DFTLTISSVKAEDLAVYYC	HQYYSYPFT	FGSGTKLEIKR
11B10	DFTLTISSVRAEDLAFYYC	QQYYSYPFT	FGSGTKLEIKR
con		QQYYSYPFT	
3D7	DYSLTISNLEPEDIATYYC	QQYSKLPYT	FGGGTKLEIKR
21A10	QFSLKINSLQPEDFGSYYC	QHFWSTPFT	FGSGTKLEIKR
10G8	DFTLNIHPVEEEDAATYYC	QHSRELPLYT	FGGGTKLEIKR
19E9	DFTLNIHPVEEEDAATYYC	QHSRELPLYT	FGGGTKLEIRR
10H11	DFTLNIHPVEEEDAATYYC	QHSREFPYT	FGGGTKLEIKR
39G2	DFTLNIHPVEEEDAATYYC	QHSRELPLYT	FGGGTKLEITP
35F12	DFTLNIHPVEEGDAATYYC	QHSRELPLYT	FGGGTKLEITR
49A10	DFTLNIHPVEAEDATYYC	QHSRELPLT	FGSGTKLEMKR
34F9	DFTLNIHAVEEEDAATYYC	QHSRELPLT	FGAGTKLELKR
7D7	DFILNIHPVEEEDAATYYC	QHSRELPLA	FGAGTKLELTP
con		QHSRELPLYT	

Figura 2C