

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 632 583**

51 Int. Cl.:

C07K 16/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.01.2012 PCT/GB2012/050050**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.07.2012 WO12095662**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.01.2012 E 12700433 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.04.2017 EP 2663577**

54 Título: **Anticuerpo que se une a IL-17A e IL-17F**

30 Prioridad:

14.01.2011 US 201161432814 P

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

14.09.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**ADAMS, RALPH;
BAKER, TERENCE SEWARD y
LAWSON, ALASTAIR DAVID GRIFFITHS**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 632 583 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

Anticuerpo que se une a IL-17A e IL-17F

La presente invención se refiere a moléculas de anticuerpo que tienen especificidad por determinantes antigénicos tanto de IL-17A como de IL-17F. La presente invención además se refiere a los usos terapéuticos de las moléculas de anticuerpo y a los métodos para producirlas.

IL-17A (inicialmente denominado CTLA-8 y también conocido como IL-17) es una citocina proinflamatoria y el miembro fundador de la familia IL-17 (Rouvier *et al.* 1993, *J. Immunol.* 150: 5445-5456). Posteriormente se han identificado cinco miembros adicionales de la familia (IL-17B - IL-17F) incluidos los más íntimamente relacionados, IL-17F (ML-1) que comparte aproximadamente el 55% de homología de secuencia de aminoácidos con IL-17A (Moseley *et al.*, 2003, *Cytokine Growth Factor Rev.* 14: 155-174). IL-17A e IL-17F son expresadas por el subconjunto autoinmunitario relacionado, recientemente definido de linfocitos T cooperadores, Th17, que además expresan citocinas características IL-21 e IL-22 (Korn *et al.*, 2009, *Annu. Rev. Immunol.* 27:485-517.:485-517). IL-17A e IL-17F se expresan como homodímeros, pero pueden también expresarse como el heterodímero IL-17A/F (Wright *et al.* 2008, *J. Immunol.* 181: 2799-2805). IL-17A y la señal F mediante los receptores IL-17R, IL-17RC o un complejo receptor IL-17RA/RC (Gaffen 2008, *Cytokine.* 43: 402-407). Tanto IL-17A como IL-17F han estado relacionados con un serie de enfermedades autoinmunitarias.

Por consiguiente los antagonistas dobles de IL-17A e IL-17F pueden ser más eficaces que un solo antagonista en el tratamiento de enfermedades mediadas por IL-17. Los anticuerpos que se unen a IL-17A e IL-17F se han descrito en los documentos WO2007/106769, WO2008/047134, WO2009/136286 y WO2010/025400.

La presente invención proporciona un anticuerpo neutralizante mejorado que es capaz de unirse tanto a IL-17A como a IL-17F con gran afinidad que tiene una cadena ligera y una cadena pesada en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en la SEQ ID n°: 7 y el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia dada en la SEQ ID n°: 9. En particular, el anticuerpo de la presente invención es capaz de unirse específicamente tanto a IL-17A como a IL-17F, es decir el anticuerpo no se une a otras isoformas de IL-17. Preferiblemente el anticuerpo de la presente invención también se une al heterodímero IL-17A/IL-17F. Preferiblemente, el anticuerpo de la presente invención neutraliza la actividad tanto de IL-17A como de IL-17F. En una realización el anticuerpo de la presente invención también neutraliza la actividad del heterodímero IL-17A/IL-17F. Los anticuerpos de la presente invención por consiguiente tienen la ventajosa propiedad de que pueden inhibir la actividad biológica tanto de IL-17A como de IL-17F. Por consiguiente, la presente invención también proporciona el uso de dichos anticuerpos en el tratamiento y/o la profilaxis de una enfermedad mediada por uno o ambos de IL-17A o IL-17F tal como la enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria o cáncer.

Como se emplea en esta memoria, la expresión 'anticuerpo neutralizante' describe un anticuerpo que es capaz de neutralizar la actividad biológica de señalización tanto de IL-17A como de IL-17F, por ejemplo bloqueando la unión de IL-17A e IL-17F a uno o más de sus receptores y bloqueando la unión del heterodímero IL-17A/IL-17F a uno o más de sus receptores. Cabe destacar que el término 'neutralización', como se emplea en esta memoria, se refiere a una reducción en la actividad biológica de señalización que puede ser parcial o completa. Además, cabe destacar que el grado de neutralización de actividad de IL-17A e IL-17F por el anticuerpo puede ser el mismo o diferente. En una realización el grado de neutralización de la actividad del heterodímero IL-17A/IL-17F puede ser el mismo o diferente que el grado de neutralización de actividad de IL-17A o IL-17F.

En una realización los anticuerpos de la presente invención se unen específicamente a IL-17A e IL-17F. Unirse específicamente significa que los anticuerpos tienen una afinidad mayor por los polipéptidos IL-17A e IL-17F (incluido el heterodímero IL-17A/IL-17F) que por otros polipéptidos. Preferiblemente los polipéptidos IL-17A e IL-17F son humanos. En una realización el anticuerpo también se una a IL-17A e IL-17F de macaco.

Los polipéptidos IL-17A o IL-17F o una mezcla de los dos o células que expresan uno o ambos polipéptidos pueden utilizarse para producir anticuerpos que reconocen específicamente ambos polipéptidos. Los polipéptidos IL-17 (IL-17A e IL-17F) pueden ser polipéptidos 'maduros' o uno de sus fragmentos o derivados biológicamente activos que preferiblemente incluyen los puntos de unión al receptor. Preferiblemente los polipéptidos IL-17 son los polipéptidos maduros. Los polipéptidos IL-17 pueden prepararse por procedimientos bien conocidos en la técnica de las células anfitrionas modificadas genéticamente que comprenden sistemas de expresión o pueden recuperarse de fuentes biológicas naturales. En la presente solicitud, el término "polipéptidos" incluyen péptidos, polipéptidos y proteínas. Éstos se utilizan indistintamente a menos que se especifiquen de otra manera. El polipéptido IL-17 puede formar parte en algunos casos de una proteína mayor tal como una proteína de fusión por ejemplo fusionado a una etiqueta de afinidad. Los anticuerpos generados contra estos polipéptidos pueden obtenerse, cuando sea necesaria la inmunización de un animal, administrando los polipéptidos a un animal, preferiblemente a un animal no humano, utilizando protocolos bien conocidos y de rutina, véase por ejemplo Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir (ed.), vol. 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, Inglaterra, 1986). Pueden inmunizarse muchos animales de sangre caliente, tales como conejos, ratones, ratas, ovejas, vacas o cerdos. Sin embargo, se prefieren generalmente ratones, conejos, cerdos y ratas .

- Los anticuerpos para uso en la presente invención comprenden anticuerpos completos y uno de sus fragmentos o derivados funcionalmente activos y pueden ser, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales, polivalentes, multiespecíficos, biespecíficos, humanizados o híbridos, anticuerpos de dominio p. ej. VH, VL, VHH, anticuerpos monocatenarios, fragmentos Fv, Fab, fragmentos Fab' y F(ab')₂ y fragmentos que se unen a epítopos de cualquiera de los anteriores. Otros fragmentos de anticuerpo incluyen los descritos en las solicitudes de patente internacionales WO2005003169, WO2005003170 y WO2005003171. Otros fragmentos de anticuerpo incluyen los fragmentos Fab-Fv y Fab-dsFv descritos en los documentos WO2009040562 y WO2010035012 respectivamente. Los fragmentos de anticuerpo y los métodos para producirlos son muy conocidos en la técnica, véase por ejemplo, Verma *et al.*, 1998, *Journal of Immunological Methods*, 216, 165-181; Adair y Lawson, 2005. *Therapeutic antibodies. Drug Design Reviews - Online* 2(3):209-217.
- Los anticuerpos para uso en la presente invención incluyen moléculas de inmunoglobulina y porciones de moléculas de inmunoglobulina inmunológicamente activas, es decir moléculas que contienen puntos de unión al antígeno que se unen específicamente a un antígeno. Las moléculas de inmunoglobulina de la invención pueden ser de cualquier clase (p. ej. IgG, IgE, IgM, IgD e IgA) o subclase de molécula de inmunoglobulina.
- Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica, tal como la técnica del hibridoma (Kohler y Milstein, *Nature*, 1975, 256:495-497), la técnica del trioma, la técnica del hibridoma de linfocitos B humanos (Kozbor *et al.*, *Immunology Today*, 1983, 4, 72) y la técnica del EBV-hibridoma (Cole *et al.*, "Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy", págs. 77-96, Alan R. Liss, Inc., 1985).
- También pueden generarse anticuerpos para uso en la invención utilizando métodos de anticuerpos de un solo linfocito clonando y expresando los ADNc de la región variable de inmunoglobulina generados a partir de linfocitos individuales seleccionados para la producción de anticuerpos específicos, por ejemplo por los métodos descritos por Babcook, J. *et al.*, 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93(15):7843-78481; documentos WO92/02551; WO2004/051268 y solicitud de patente internacional número WO2004/106377.
- Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpo procedentes de una especie no humana que tienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) procedentes de una especie no humana, y una región marco procedente de una molécula de inmunoglobulina humana (véase, p. ej., los documentos US 5.585.089; WO91/09967).
- Anticuerpos híbridos son los anticuerpos codificados por genes de inmunoglobulina que han sido modificadas genéticamente de manera que los genes de la cadena ligera y pesada están compuestos de segmentos de gen de inmunoglobulina que pertenecen a diferentes especies. Estos anticuerpos híbridos es probable que sean menos antigénicos.
- Los anticuerpos bivalentes puede prepararse por métodos conocidos en la técnica (Milstein *et al.*, 1983, *Nature* 305:537-539; documento WO 93/08829, Traunecker *et al.*, 1991, *EMBO J.* 10: 3655-3659). Los anticuerpos polivalentes pueden comprender múltiples especificidades o pueden ser monoespecíficos (véanse, por ejemplo, los documentos WO 92/22853 y WO05/113605).
- Los anticuerpos para su utilización en la presente invención también pueden generarse utilizando diversos métodos de presentación en fagos conocidos en la técnica e incluyen los descritos por Brinkman *et al.*, *J. Immunol. Methods*, 1995, 182: 41-50), Ames *et al.* (*J. Immunol. Methods*, 1995, 184:177-186), Kettleborough *et al.* (*Eur. J. Immunol.* 1994, 24:952-958), Persic *et al.* (*Gene*, 1997 187 9-18), Burton *et al.* (*Advances in Immunology*, 1994, 57:191-280) y el documento WO 90/02809; documento WO 91/10737; documento WO 92/01047; documento WO 92/18619; documento WO 93/11236; documento WO 95/15982; documento WO 95/20401; y documentos US nº 5.698.426; nº 5.223.409; nº 5.403.484; nº 5.580.717; nº 5.427.908; nº 5.750.753; nº 5.821.047; nº 5.571.698; nº 5.427.908; nº 5.516.637; nº 5.780.225; nº 5.658.727; nº 5.733.743 y nº 5.969.108. También pueden adaptarse técnicas para la producción de anticuerpos monocatenarios, tales como los descritos en el documento US 4.946.778 para producir anticuerpos monocatenarios que se unen a IL-17A e IL-17F. Además, se pueden utilizar ratones transgénicos u otros organismos, incluyendo otros mamíferos, para expresar anticuerpos humanizados.
- La identificación sistemática de anticuerpos puede realizarse utilizando ensayos para medir la unión a IL-17A humana e IL-17F humana, por ejemplo ensayo BIAcore™ descrito en los ejemplos de la presente memoria. Se conocen en la técnica ensayos de neutralización adecuados, véase por ejemplo el documento WO2008/047134 y los ejemplos de la presente memoria.
- Los restos en los dominios variables de un anticuerpo se numeran convenientemente según un sistema diseñado por Kabat *et al.* Este sistema se expone en Kabat *et al.*, 1987, en *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Departamento de Salud y Servicios Sociales de EE.UU., NIH, EE.UU. (en adelante, "Kabat *et al.* (anteriormente)"). En la presente memoria se usa dicho sistema de numeración, a menos que se indique lo contrario.
- Las denominaciones de los restos de Kabat no siempre se corresponden directamente con la numeración lineal de los restos aminoácidos. La secuencia lineal de aminoácidos real puede contener menos o más aminoácidos que la numeración estricta de Kabat correspondiente a un acortamiento o a una inserción en un componente estructural, marco o región determinante de la complementariedad (CDR), de la estructura del dominio variable básico. La

numeración de Kabat correcta de los restos se puede determinar para un anticuerpo dado por alineación de restos de homología en la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada de Kabat "convencional".

Las CDR del dominio variable de la cadena pesada están situadas en los restos 31-35 (CDR-H1), los restos 50-65 (CDR-H2) y los restos 95-102 (CDR-H3) según el sistema de numeración Kabat. Sin embargo, según Chothia (Chothia, C. y Lesk, A. M. *J. Mol. Biol.*, 196, 901-917 (1987)), el bucle equivalente a CDR-H1 se extiende desde el resto 26 al resto 32. Por tanto, 'CDR-H1', como se emplea en esta memoria, comprende los restos 26 a 35, descritos mediante una combinación del sistema de numeración Kabat y la definición topológica de bucle de Chothia.

Las CDR del dominio variable de la cadena ligera están situadas en los restos 24-34 (CDR-L1), los restos 50-56 (CDR-L2) y los restos 89-97 (CDR-L3) según el sistema de numeración Kabat.

- 10 Un anticuerpo neutralizante que tiene especificidad para IL-17A humana e IL-17F humana, puede comprender una cadena ligera, en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en la SEQ ID n°: 4 para CDR-L1, la secuencia dada en la SEQ ID n°: 5 para CDR-L2 y la secuencia dada en la SEQ ID n°:6 para CDR-L3 (véase la figura 1c).

Las moléculas de anticuerpo de la presente invención comprenden una cadena pesada complementaria.

- 15 Por consiguiente, un anticuerpo neutralizante que tiene especificidad para IL-17A humana e IL-17F humana, puede comprender una cadena pesada, en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende una CDR que tiene la secuencia dada en la SEQ ID n°: 1 para CDR-L1, una CDR que tiene la secuencia dada en la SEQ ID n°: 2 para CDR-H2 y una CDR que tiene la secuencia dada en la SEQ ID n°:3 para CDR-H3 (véase la figura 1c).

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

- 20 En una realización el anticuerpo proporcionado por la presente invención es una CDR molécula de anticuerpo injertada que comprende cada una de las CDR proporcionadas en las SEQ ID n°: 1 a n°: 6. Como se emplea en esta memoria, la expresión 'molécula de anticuerpo injertada en la CDR' se refiere a una molécula de anticuerpo en donde la cadena pesada y/o ligera contiene uno o más CDR (incluidas, si se desea, una o más CDR modificadas) procedentes de un anticuerpo donante (p. ej. un anticuerpo monoclonal murino) injertado en un marco de la región variable de la cadena pesada y/o ligera de un anticuerpo receptor (p. ej. un anticuerpo humano). Para una reseña, véase Vaughan *et al.*, *Nature Biotechnology*, 16, 535-539, 1998. En una realización solamente los restos determinantes de especificidad de cada uno de los CDR descritos en la presente memoria anteriormente se transfieren al marco de anticuerpo humano.

- 30 Cuando las CDR o restos determinantes de especificidad se injertan, cualquier secuencia marco de la región variable receptora apropiada puede utilizarse con respecto a la clase/tipo del anticuerpo donante del que proceden las CDR, incluidas las regiones marco de ratón, primate y humana. Preferiblemente, el anticuerpo injertado en la CDR según la presente invención tiene un dominio variable que comprende regiones marco receptoras humanas así como una o más de las CDR o restos determinantes de especificidad descritos anteriormente. Por lo tanto, se proporciona en una realización un anticuerpo neutralizante injertado en la CDR en donde el dominio variable comprende regiones marco receptoras humanas y CDR donantes no humanas.

- 40 Ejemplos de marcos humanos que pueden utilizarse en la presente invención son KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY y POM (Kabat *et al.*, anteriormente). Por ejemplo, KOL y NEWM pueden utilizarse para la cadena pesada, REI puede utilizarse para la cadena ligera y EU, LAY y POM pueden utilizarse tanto para la cadena pesada como para la cadena ligera. Alternativamente, pueden utilizarse secuencias de la estirpe germinativa humana; éstas están disponibles en: <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>

En un anticuerpo injertado en la CDR de la presente invención, las cadenas pesada y ligera del receptor no necesitan necesariamente proceder del mismo anticuerpo y pueden, si se desea, comprender cadenas de compuestos que tienen regiones marco procedentes de cadenas diferentes.

- 45 La región marco preferida para la cadena pesada del anticuerpo injertado en la CDR de la presente invención procede de la secuencia 1-3 3-07 del subgrupo VH3 humano junto con JH4, como se ha descrito anteriormente en el documento WO2008/047134. Así pues, se proporciona un anticuerpo neutralizante injertado en la CDR que comprende al menos una CDR de donante no humano en donde la región marco de la cadena pesada procede de la secuencia 1-3 3-07 de subgrupo humano junto con JH4. La secuencia de JH4 humano es la siguiente: (YFDY)WGQGTLVTVSS. El motivo YFDY forma parte de CDR-H3 y no forma parte del marco 4 (Ravetch, J. V. *et al.*, 1981, *Cell*, 27, 583-591).

- 55 La región marco preferida para la cadena ligera del anticuerpo injertado en la CDR de la presente invención procede de la secuencia 2-1-(1) del subgrupo VK1 de la estirpe germinativa humana junto con JK1, como se ha descrito anteriormente en el documento WO2008/047134. Así pues, se proporciona un anticuerpo neutralizante injertado en la CDR que comprende al menos una CDR de donante no humano en donde la región marco de la cadena ligera procede de la secuencia VK1 2-1-(1) L4 de subgrupo humano junto con JK1. La secuencia JK1 es la siguiente: (WT)FGQGKTKVEIK. El motivo WT forma parte de CDR-L3 y no forma parte del marco 4 (Hieter, P. A., *et al.*, 1982, *J.*

Biol. Chem., 257, 1516-1522).

- Además, en un anticuerpo injertado en la CDR de la presente invención, las regiones marco no necesitan tener exactamente la misma secuencia que las del anticuerpo receptor. Por ejemplo, restos poco frecuentes pueden cambiarse por restos más frecuentes para esta clase o tipo de cadena receptora. Alternativamente, los restos seleccionados en las regiones marco del receptor pueden cambiarse de modo que correspondan con el resto que se encuentra en la misma posición en el anticuerpo donante (véase Reichmann *et al.*, 1998, *Nature*, 332, 323-324). Dichos cambios deben mantenerse al mínimo necesario para recuperar la afinidad del anticuerpo donante. Un protocolo para seleccionar restos en las regiones marco del receptor que puede ser necesario cambiar se expone en el documento WO 91/09967.
- Preferiblemente, en una molécula de anticuerpo injertada en la CDR de la presente invención, si la cadena pesada del receptor tiene la secuencia 1-3 3-07 del VH3 humano junto con JH4, entonces las regiones marco del receptor de la cadena pesada comprenden, además de una o más CDR del donante, un resto del donante en al menos la posición 94 (según Kabat *et al.*, (anteriormente)). Por consiguiente, se proporciona un anticuerpo injertado en la CDR, en donde al menos el resto en la posición 94 del dominio variable de la cadena pesada es un resto de donante.
- Preferiblemente, en una molécula de anticuerpo injertada en la CDR según la presente invención, si la cadena ligera del receptor tiene la secuencia 2-1-(1) L4 del subgrupo VK1 humano junto con JK1, entonces no se transfieren restos de donante es decir solamente se transfieren las CDR. Por consiguiente, se proporciona un anticuerpo injertado en la CDR en donde solamente se transfieren las CDR al marco del donante.
- Los restos de donantes son restos del anticuerpo donante, es decir el anticuerpo del que procedían originalmente las CDR.
- En la presente invención el anticuerpo conocido como CA028_0496 (anteriormente descrito en el documento WO2008/047134) se mejoró cambiando cinco restos en la cadena ligera. Tres restos estaban en las CDR y dos en el marco. Por consiguiente en una realización el dominio variable de la cadena ligera comprende un resto de arginina en la posición 30, un resto de serina en la posición 54, un resto de isoleucina en la posición 56, un resto de ácido aspártico en la posición 60 y un resto de arginina en la posición 72.
- Por consiguiente, en una realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena ligera, en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en la SEQ ID n° 7 (gL7).
- En una realización, un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena pesada, en donde el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia dada en la SEQ ID n° 9 (gH9).
- En una realización un anticuerpo de la presente invención comprende una cadena pesada, en donde el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia dada en la SEQ ID n° 9 y una cadena ligera, en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en la SEQ ID n° 7.
- "Identidad", como se emplea en esta memoria, indica que en cualquier posición concreta en las secuencias alineadas, el resto aminoácido es idéntico entre las secuencias. "Similitud", como se emplea en esta memoria, indica que en cualquier posición concreta en las secuencias alineadas, el resto aminoácido es de un tipo similar entre las secuencias. Por ejemplo, la leucina pueden ser sustituida por isoleucina o valina. Otros aminoácidos que con frecuencia pueden ser sustituidos por otro incluyen pero no se limitan a:
- fenilalanina, tirosina y triptófano (aminoácidos con cadenas laterales aromáticas);
 - lisina, arginina e histidina (aminoácidos con cadenas laterales básicas);
 - aspartato y glutamato (aminoácidos con cadenas laterales ácidas);
 - asparagina y glutamina (aminoácidos con cadenas laterales amídicas); y
 - cisteína y metionina (aminoácidos con cadenas laterales que contienen azufre). Los grados de identidad y similitud pueden calcularse fácilmente (Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, Nueva York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, Nueva York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Parte 1, Griffin, A. M. y Griffin, H. G., eds., Humana Press, Nueva Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; y Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. y Devereux, J., eds., M. Stockton Press, Nueva York, 1991).
- La molécula de anticuerpo de la presente invención puede comprender una molécula completa de anticuerpo que tiene cadenas pesadas y ligeras completas o uno de sus fragmentos, tal como un anticuerpo de dominio p. ej. un fragmento VH, VL, VHH, Fab, Fab modificado, Fab', F(ab')₂, Fv o scFv. Otros fragmentos de anticuerpo incluyen los fragmentos Fab-Fv y Fab-dsFv descritos en los documentos WO2009040562 y WO2010035012 respectivamente.

En una realización el fragmento de anticuerpo de la presente invención se selecciona del grupo consistente en un fragmento Fab, Fab', F(ab')₂, scFv y Fv .

5 Cabe destacar que los anticuerpos de la presente invención, en concreto los fragmentos de anticuerpo descritos anteriormente, pueden incorporarse en otros formatos de anticuerpo, en especial, anticuerpos multiespecíficos, tales como anticuerpos bi o trispecíficos, donde un anticuerpo de la presente invención proporciona una especificidad es decir, especificidad por IL-17A e IL-17F (incluido el heterodímero IL-17A/F). Por consiguiente, en una realización la presente invención proporciona un anticuerpo multiespecífico que comprende uno o más de los fragmentos de anticuerpo descritos anteriormente en la presente memoria.

10 Ejemplos de anticuerpos multiespecíficos comprenden anticuerpos bi, tri o tetravalentes, Bis-scFv, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, bicuerpos y tricuerpos (véanse por ejemplo Holliger y Hudson, 2005, *Nature Biotech.* 23(9): 1126-1136; Schoonjans *et al.* 2001, *Biomolecular Engineering*, 17 (6), 193-202). Otros anticuerpos multiespecíficos comprenden Fab-Fv, Fab-dsFv, Fab-Fv-Fv. Los fragmentos Fab-Fv-Fc y Fab-dsFv-PEG descritos en los documentos WO2009040562, WO2010035012, WO2011/08609, WO2011/030107 y WO2011/061492 respectivamente.

15 Los dominios de región constante de la molécula de anticuerpo de la presente invención, si los hay, pueden seleccionarse en relación a la función propuesta para la molécula de anticuerpo, y en particular las funciones efectoras que puedan requerirse. Por ejemplo, los dominios de región constante pueden ser dominios de IgA, IgD, IgE, IgG o IgM humanas. En particular, se pueden usar los dominios de región constante de IgG humana, especialmente los isotipos IgG1 e IgG3 cuando la molécula de anticuerpo se destina a usos terapéuticos y se requieren funciones efectoras. Alternativamente, se pueden usar los isotipos IgG2 e IgG4 cuando la molécula de anticuerpo se destine a propósitos terapéuticos y no se requieran funciones efectoras de anticuerpo, p. ej., simplemente para bloquear la actividad de IL-17. Cabe destacar que también se pueden usar variantes de secuencia de dichos dominios de región constante. Por ejemplo, pueden utilizarse las moléculas IgG4 en las que se ha cambiado la serina en la posición 241 por prolina como se describe en Angal *et al.*, *Molecular Immunology*, 1993, 30 (1), 105-108. Se prefiere especialmente el dominio constante de IgG1. Además un experto en la técnica entenderá que los anticuerpos pueden experimentar una variedad de modificaciones después de la traducción. El tipo y alcance de estas modificaciones con frecuencia depende de la estirpe de la célula anfitriona empleada para expresar el anticuerpo así como las condiciones del cultivo. Dichas modificaciones pueden incluir variaciones en glucosilación, oxidación de metionina, formación de dicetopiperazina, isomerización de aspartato y desamidación de asparagina. Una modificación frecuente es la pérdida de un resto básico en el terminal carboxi (tal como lisina o arginina) debido a la acción de carboxipeptidasas (como se describe en Harris, R. J. *Journal of Chromatography* 705:129-134, 1995). Por consiguiente, la lisina en el terminal C de la cadena pesada de anticuerpo, por ejemplo como se da en la figura 2 (a), SEQ ID n° 15, puede faltar

30 En una realización la cadena pesada de anticuerpo comprende un dominio CH1 y la cadena ligera de anticuerpo comprende un dominio CL, ya sea kappa o lambda.

35 En una realización preferida el anticuerpo proporcionado por la presente invención es un anticuerpo neutralizante con especificidad por IL-17A humano e IL-17F humano en el que la región constante de la cadena pesada comprende la región constante IgG1 humana. Por consiguiente, la presente invención proporciona un anticuerpo en el que la cadena pesada comprende o consiste en la secuencia dada en la SEQ ID n° 15 (véase la figura 2a).

40 En una realización una molécula de anticuerpo según la presente invención comprende una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID n° 11 (véase la figura 1d).

En una realización la presente invención proporciona un anticuerpo en el que la cadena pesada comprende o consiste en la secuencia dada en la SEQ ID n° 15 y la cadena ligera comprende o consiste en la secuencia dada en la SEQ ID n° 11.

45 La molécula de anticuerpo de cualquier aspecto de la presente invención preferiblemente tiene una gran afinidad de unión, preferiblemente picomolar. Cabe destacar que la afinidad de unión de un anticuerpo según la presente invención por el IL-17A humano puede ser diferente de la afinidad de unión del mismo anticuerpo por IL-17F humano y/o el heterodímero IL-17A/F. En un ejemplo, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad por IL-17A que es mayor que su afinidad por IL-17F. En un ejemplo, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad por IL-17A que es al menos 5 veces mayor que su afinidad de unión por IL-17F. En un ejemplo, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad por IL-17A que es igual que su afinidad por IL-17F. En un ejemplo, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad picomolar tanto por IL-17A como por IL-17F.

50 La afinidad pueden medirse empleando cualquier método adecuado conocido en la técnica, incluido BIAcore™, como se describe en los ejemplos en la presente memoria, utilizando IL-17A e IL-17F naturales o recombinados aislados que ambos existen como homodímeros.

55 Preferiblemente, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión por IL-17A de 50 pM o menor. En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión por IL-

17A de 20 pM o menor. En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión por IL-17A de 10 pM o menor. En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión por IL-17A de 5 pM o menor. En una realización, el anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad por IL-17A de 3,2 pM.

- 5 Preferiblemente, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión por IL-17F de 100 pM o menor. En una realización, el anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad por IL-17F de 50 pM o menor. En una realización, el anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad por IL-17F de 23 pM.

Cabe destacar que la afinidad de anticuerpos proporcionada por la presente invención puede alterarse usando cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por lo tanto, la presente invención también se refiere a variantes de las moléculas de anticuerpo de la presente invención, que presentan una afinidad mejorada por IL-17A y/o IL-17F. Dichas variantes se pueden obtener mediante una serie de protocolos de maduración por afinidad incluida la mutación de las CDR (Yang *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 254, 392-403, 1995), el reordenamiento de cadenas (Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10, 779-783, 1992), el uso de cepas mutadoras de *E. coli* (Low *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 250, 359-368, 1996), el reordenamiento de ADN (Patten *et al.*, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8, 724-733, 1997), la presentación en fagos (Thompson *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 256, 77-88, 1996) y la PCR sexual (Cramer *et al.*, *Nature*, 391, 288-291, 1998). Vaughan *et al.* (anteriormente) expone estos métodos de maduración por afinidad.

Si se desea un anticuerpo para uso en la presente invención puede conjugarse con una o más moléculas efectoras. Cabe destacar que la molécula efectora puede comprender una sola molécula efectora o dos o más de dichas moléculas así unidas para formar un solo grupo que puede estar unido a los anticuerpos de la presente invención. Cuando se desea obtener un fragmento de anticuerpo unido a una molécula efectora, éste puede prepararse por procedimientos químicos o de ADN recombinado convencionales en los que el fragmento de anticuerpo está unido ya sea directamente o mediante un agente de acoplamiento a la molécula efectora. Las técnicas para conjugar dichas moléculas efectoras a anticuerpos son muy conocidas en la técnica (véanse, Hellstrom *et al.*, *Controlled Drug Delivery*, 2ª ed., Robinson *et al.*, eds., 1987, págs. 623-53; Thorpe *et al.*, 1982, *Immunol. Rev.*, 62:119-58 y Dubowchik *et al.*, 1999, *Pharmacology and Therapeutics*, 83, 67-123). Determinados procedimientos químicos incluyen, por ejemplo, los descritos en los documentos WO 93/06231, WO 92/22583, WO 89/00195, WO 89/01476 y WO03031581. Alternativamente, cuando la molécula efectora es una proteína o polipéptido el enlace puede conseguirse empleando procedimientos de ADN recombinado, por ejemplo como los descritos en WO 86/01533 y EP0392745.

La expresión molécula efectora como se emplea en esta memoria comprende, por ejemplo, agentes antineoplásicos, fármacos, vacunas, proteínas biológicamente activas, por ejemplo enzimas, otros anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, polímeros de origen sintético o natural, ácidos nucleicos y uno de sus fragmentos p. ej. ADN, ARN y uno de sus fragmentos, radionúclidos, principalmente radioyoduro, radioisótopos, metales quelados, nanopartículas y grupos indicadores como por ejemplo compuestos fluorescentes o compuestos que pueden detectarse por espectroscopia de RMN o ESR.

Ejemplos de moléculas efectoras pueden incluir citotoxinas o agentes citotóxicos incluido cualquier agente que sea perjudicial para las células (p. ej. mortíferos). Los ejemplos incluyen combrestatinas, dolastatinas, epotilonas, estaurosporina, maitansinoides, espongistatinas, rizoxina, halicondrinas, roridinas, hemiasterlinas, taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colquicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxi-antracina-diona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deshidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol y puomicina y uno de sus análogos u homólogos.

Las moléculas efectoras también incluyen, pero no se limitan a, antimetabolitos (p. ej. metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracil decarbazina), agentes alquilantes (p. ej. meclorethamina, tioepa clorambucilo, melfalán, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C, y cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino), antraciclina (p. ej. daunorrubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (p. ej. dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina, antramicina (AMC), caliqueamicinas o duocarmicinas), y agentes antimitóticos (p. ej. vincristina y vinblastina).

Otras moléculas efectoras pueden incluir radionúclidos quelados como por ejemplo ^{111}In e ^{90}Y , ^{177}Lu , ^{213}Bi , ^{252}Cf , ^{192}Ir y $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$; o fármacos como por ejemplo, pero no se limitados a, alquilfosfocolinas, inhibidores de topoisomerasa I, taxanos y suramina.

Otras moléculas efectoras comprenden proteínas, péptidos y enzimas. Las enzimas de interés comprenden, pero no se limitan a, enzimas proteolíticas, hidrolasas, liasas, isomerasas, transferasas. Las proteínas, polipéptidos y péptidos de interés incluyen, pero no se limitan a, inmunoglobulinas, toxinas como por ejemplo abrina, ricina A, exotoxina de pseudomonas, o toxina diftérica, una proteína como por ejemplo la insulina, el factor de necrosis tumoral, α -interferón, β -interferón, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento derivado de plaquetas o activador histico de plasminógeno, un agente trombótico o un agente antiangiogénico, p. ej. angiostatina o endostatina, o, un modificador de la respuesta biológica tal como una linfocina, interleucina-1 (IL-1), interleucina-2

(IL-2), interleucina-6 (IL-6), factor de estimulación de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), factor de estimulación de colonias de granulocitos (G-CSF), factor de crecimiento nervioso (NGF) u otros factores de crecimiento e inmunoglobulinas.

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

15 En otro ejemplo la molécula efectora puede aumentar la vida media del anticuerpo *in vivo*, y/o reducir la inmunogenicidad del anticuerpo y/o aumentar la administración de un anticuerpo a través de una barrera epitelial al sistema inmunitario. Ejemplos de moléculas efectoras adecuadas de este tipo comprenden polímeros, albumina, proteínas que se unen a la albumina o compuestos que se unen a la albumina tales como los descritos en el documento WO05/117984.

20 Cuando la molécula efectora es un polímero puede ser, en general, un polímero de origen sintético o natural, por ejemplo un polímero de polialquileno, polialquenileno o polioxialquileno con cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituido o un polisacárido ramificado o no ramificado, p. ej. un homo- o hetero-polisacárido.

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

25 Determinados ejemplos de polímeros sintéticos comprenden poli(etilenglicol), poli(propilenglicol), alcohol polivinílico de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos o uno de sus derivados, poli(etilenglicol) especial y opcionalmente sustituido tal como metoxipoli(etilenglicol) o uno de sus derivados.

Determinados polímeros naturales incluyen la lactosa, la amilosa, dextrano, glucógeno o uno de sus derivados.

30 "Derivados" como se emplea en esta memoria pretende incluir derivados reactivos, por ejemplo grupos reactivos selectivos del tiol tales como maleimididas y similares. El grupo reactivo puede estar unido directamente o mediante un segmento enlazador al polímero. Cabe destacar que el resto de dicho grupo en algunos casos formará parte del producto como el grupo enlazador entre el fragmento de anticuerpo y el polímero.

El tamaño del polímero puede variarse como se desee, pero generalmente estará en un intervalo de peso molecular medio de 500 Da a 50.000 Da, preferiblemente de 5.000 a 40.000 Da y más preferiblemente de 20.000 a 40.000 Da. El tamaño del polímero puede en particular seleccionarse sobre la base del uso deseado del producto, por ejemplo, la capacidad para localizar a determinados tejidos tales como tumores o prolongar la vida media en circulación (para reseña véase Chapman, 2002, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 531-545). Así, por ejemplo, cuando el producto está diseñado para abandonar la circulación y penetrar en el tejido, por ejemplo, para su empleo en el tratamiento de un tumor, puede resultar ventajoso utilizar un polímero de pequeño peso molecular, por ejemplo, con un peso molecular de alrededor de 5.000 Da. Para aplicaciones donde el producto permanece en la circulación, puede resultar ventajoso utilizar un polímero de mayor peso molecular, por ejemplo con un peso molecular en el intervalo de 20.000 Da a 40.000 Da.

Los polímeros especialmente preferidos incluyen un polímero de polialquileno, tal como un poli(etilenglicol) o, especialmente, un metoxipoli(etilenglicol) o uno de sus derivados, y especialmente con un peso molecular comprendido en el intervalo entre aproximadamente 15.000 Da y aproximadamente 40.000 Da.

En un ejemplo los anticuerpos para su uso en la presente invención están unidos a grupos de poli(etilenglicol) (PEG). En un ejemplo concreto el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo y las moléculas de PEG pueden estar unidas mediante cualquier cadena lateral de aminoácidos disponible o grupo funcional terminal de aminoácidos situado en el fragmento de anticuerpo, por ejemplo cualquier grupo amino, imino, tiol, hidroxilo o carboxilo libre. Dichos aminoácidos pueden ser naturales en el fragmento de anticuerpo o pueden estar modificados genéticamente en el fragmento que emplea métodos de ingeniería genética (véase por ejemplo los documentos US 5.219.996; US 5.667.425; WO98/25971). En un ejemplo la molécula de anticuerpo de la presente invención es un fragmento Fab modificado en donde la modificación es la adición al extremo del terminal C de su cadena pesada de uno o más aminoácidos para permitir el acoplamiento de una molécula efectora. Preferiblemente, los aminoácidos adicionales forman una zona bisagra modificada que contiene uno o más restos de cisteína a los que puede unirse la molécula efectora. Pueden utilizarse múltiples puntos para unir dos o más moléculas de PEG.

Preferiblemente las moléculas de PEG están unidas por enlaces covalentes mediante un grupo tiol de al menos un

resto de cisteína situado en el fragmento de anticuerpo. Cada molécula de polímero unida al fragmento de anticuerpo modificado puede estar unida por enlace covalente al átomo de azufre de un resto de cisteína situado en el fragmento. El enlace covalente será generalmente un enlace disulfuro o, en concreto, un enlace azufre-carbono. Cuando un grupo tiol se utiliza como punto de unión pueden utilizarse moléculas efectoras, por ejemplo derivados selectivos de tiol tales como derivados de maleimidias y de cisteína. Puede utilizarse un polímero activado como material de partida en la preparación de fragmentos de anticuerpo modificados con polímero como se describió anteriormente. El polímero activado puede ser cualquier polímero que contenga un grupo tiol reactivo tal como un ácido o éster α -halocarboxílico, p. ej. yodoacetamida, una imida, p. ej. maleimida, una vinilsulfona o un disulfuro. Dichos materiales de partida pueden obtenerse en el comercio (por ejemplo en Nektar, anteriormente Shearwater Polymers Inc., Huntsville, AL, EE.UU.) o pueden prepararse a partir de materiales de partida disponibles en el mercado utilizando procedimientos químicos convencionales. Determinadas moléculas de PEG incluyen 20K metoxi-PEG-amina (se puede adquirir en Nektar, anteriormente Shearwater; Rapp Polymere; y SunBio) y M-PEG-SPA (se puede adquirir en Nektar, anteriormente Shearwater).

En una realización, el anticuerpo es un fragmento Fab modificado que está PEGilado, es decir tiene PEG (poli(etilenglicol)) unido por enlace covalente a éste, p. ej. según el método descrito en la patente EP 0948544 [véase también "*Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications*", 1992, J. Milton Harris (ed), Plenum Press, Nueva York, "*Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications*", 1997, J. Milton Harris y S. Zalipsky (eds.), American Chemical Society, Washington DC y "*Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences*", 1998, M. Aslam y A. Dent, Grove Publishers, Nueva York; Chapman, A. 2002, *Advanced Drug Delivery Reviews* 2002, 54:531-545]. En un ejemplo PEG está unido a una cisteína en la zona de bisagra. En un ejemplo, un fragmento de Fab modificado con PEG tiene un grupo maleimida unido por enlace covalente a un solo grupo tiol en una zona de bisagra modificada. Un resto de lisina puede estar unido por enlace covalente al grupo y a cada uno de los grupos amina en el resto de lisina puede estar unido a un polímero de metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20.000 Da. El peso molecular total del PEG unido al fragmento Fab puede ser por consiguiente de aproximadamente 40.000 Da.

En una realización, la presente invención proporciona una molécula de anticuerpo neutralizante que tiene especificidad para IL-17A humano e IL-17F, que es un fragmento Fab que tiene una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID n° 9 y una cadena que comprende la secuencia dada en la SEQ ID n° 7 y que tiene en el extremo terminal C de su cadena pesada una zona de bisagra que contiene al menos un resto de cisteína al que está unida una molécula efectora. Preferiblemente la molécula efectora es PEG y está unida empleando los métodos descritos en los documentos (WO98/25971 y WO2004072116) por los cuales un grupo lisil-maleimida se une al resto de cisteína en el extremo terminal C de la cadena pesada, y cada grupo amino del resto lisilo tiene unido por enlace covalente al mismo un resto metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20.000 Da. El peso molecular total del PEG unido al anticuerpo es por consiguiente de aproximadamente 40.000 Da.

En otro ejemplo las moléculas efectoras pueden estar unidas a fragmentos de anticuerpo empleando los métodos descritos en las solicitudes de patente internacionales WO2005/003169, WO2005/003170 y WO2005/003171.

La presente invención también proporciona una secuencia de ADN aislada que codifica la(s) cadena(s) pesada y/o ligera de una molécula de anticuerpo de la presente invención. Preferiblemente, la secuencia de ADN codifica la cadena pesada o ligera de una molécula de anticuerpo de la presente invención. La secuencia de ADN de la presente invención puede comprender ADN sintético, por ejemplo producido mediante tratamiento químico, ADNc, ADN genómico o cualquiera de sus combinaciones.

Las secuencias de ADN que codifican una molécula de anticuerpo de la presente invención pueden obtenerse mediante métodos muy conocidos por los especialistas en la técnica. Por ejemplo, las secuencias de ADN que codifican una parte o la totalidad de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo pueden sintetizarse según se desee a partir de determinadas secuencias de ADN, o en base a las correspondientes secuencias de aminoácidos.

El ADN que codifica las secuencias marco del receptor está ampliamente disponible para los expertos en la técnica y puede sintetizarse fácilmente basándose en sus conocidas secuencias de aminoácidos.

Se pueden usar técnicas normalizadas de biología molecular para preparar secuencias de ADN que codifican la molécula de anticuerpo de la presente invención. Las secuencias de ADN deseadas pueden sintetizarse completa o parcialmente mediante el uso de técnicas de síntesis de oligonucleótidos. Pueden emplearse técnicas de mutagenia dirigida al sitio y de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) según convenga.

Ejemplos de secuencias adecuadas se proporcionan en la SEQ ID n° 8; SEQ ID n° 10; SEQ ID n° 13; SEQ ID n° 14; SEQ ID n° 17, SEQ ID n° 18 y SEQ ID n° 19.

La presente invención también se refiere a un vector de clonación o de expresión que comprende una o más secuencias de ADN de la presente invención. Por consiguiente, se proporciona un vector de clonación o de expresión que comprende una o más secuencias de ADN que codifican un anticuerpo de la presente invención. Preferiblemente, el vector de clonación o de expresión comprende dos secuencias de ADN, que codifican la cadena ligera y la cadena pesada de la molécula de anticuerpo de la presente invención, respectivamente junto con

secuencias señal adecuadas. Preferiblemente, un vector según la presente invención comprende las secuencias dadas en la SEQ ID n° 14 y SEQ ID n° 18. En una realización un vector según la presente invención comprende las secuencias dadas en la SEQ ID n° 13 y la SEQ ID n° 17.

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

10 También se proporciona una célula anfitriona que comprende uno o más vectores de clonación o expresión que comprenden una o más secuencias de ADN que codifican un anticuerpo de la presente invención. Se puede usar cualquier sistema célula anfitriona/vector adecuado para la expresión de las secuencias de ADN que codifican la molécula de anticuerpo de la presente invención. Se pueden utilizar sistemas bacterianos, por ejemplo *E. coli*, y otros sistemas microbianos, o también se pueden utilizar sistemas de expresión de células anfitrionas eucariotas, por ejemplo de mamífero. Las células anfitrionas de mamífero idóneas incluyen células CHO, de mieloma o de hibridoma.

15 La presente invención también proporciona un procedimiento para la producción de una molécula de anticuerpo según la presente invención que comprende el cultivo de una célula anfitriona que contiene un vector de la presente invención en condiciones adecuadas para conducir a la expresión de proteínas a partir de ADN que codifica la molécula de anticuerpo de la presente invención, y el aislamiento de la molécula de anticuerpo.

20 La molécula de anticuerpo puede comprender solamente un polipéptido de la cadena pesada o ligera, en cuyo caso solamente una secuencia que codifica el polipéptido de la cadena pesada o la cadena ligera se necesita utilizar para transfectar las células anfitrionas. Para la producción de productos que comprenden tanto cadenas pesadas como ligeras, la estirpe celular puede transfectarse con dos vectores, un primer vector que codifica un polipéptido de la cadena ligera y un segundo vector que codifica un polipéptido de la cadena pesada. Alternativamente, puede utilizarse un solo vector, incluyendo el vector secuencias que codifican polipéptidos de la cadena ligera y la cadena pesada.

25 Como los anticuerpos de la presente invención son útiles en el tratamiento y/o profilaxis de un proceso patológico, la presente invención también proporciona una composición farmacéutica o de diagnóstico que comprende una molécula de anticuerpo de la presente invención en combinación con uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables. Por consiguiente, se proporciona el uso de un anticuerpo según la presente invención para la preparación de un medicamento. La composición normalmente se suministrará como parte de una composición farmacéutica estéril, que normalmente incluirá un vehículo farmacéuticamente aceptable. Una composición farmacéutica de la presente invención puede además comprender un adyuvante farmacéuticamente aceptable.

30 La presente invención también proporciona un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica o de diagnóstico que comprende añadir y mezclar la molécula de anticuerpo de la presente invención junto con uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

35 La molécula de anticuerpo puede ser el único principio activo en la composición farmacéutica o de diagnóstico o puede estar acompañada por otros principios activos incluidos otros ingredientes del anticuerpo, por ejemplo anti-TNF, anti-IL-1 β , anti-linfocito T, anticuerpos anti-IFN γ o anti-LPS, o ingredientes que no son de anticuerpos tales como xantinas o un inhibidor de pequeñas moléculas.

40 Las composiciones farmacéuticas preferiblemente comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo de la invención. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" como se emplea en esta memoria se refiera a una cantidad de un agente terapéutico necesario para tratar, mejorar o evitar una enfermedad o afección elegida como objetivo, o para presentar un efecto terapéutico o preventivo detectable. Para cualquier anticuerpo, la cantidad terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente bien en ensayos en cultivo celular o en modelos animales, normalmente en roedores, conejos, perros, cerdos o primates. El modelo animal puede además utilizarse para determinar el intervalo de concentración apropiado y la vía de administración. Dicha información puede utilizarse entonces para determinar las dosis y vías de administración útiles en personas.

45 La cantidad exacta terapéuticamente eficaz para un paciente humano dependerá de la gravedad de la enfermedad, la salud general del paciente, la edad, el peso y el sexo del paciente, la alimentación, el tiempo y frecuencia de administración, la combinación o combinaciones de fármacos, las sensibilidades a la reacción y la tolerancia/respuesta al tratamiento. Esta cantidad puede determinarse por experimentación rutinaria y está en el criterio del médico. Generalmente, una cantidad terapéuticamente eficaz estará entre 0,01 mg/kg y 50 mg/kg, preferiblemente entre 0,1 mg/kg y 20 mg/kg. Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse convenientemente en formas de dosis unitaria que contienen una cantidad predeterminada de un principio activo de la invención por dosis.

55 Las composiciones pueden administrarse individualmente a un paciente o pueden administrarse en combinación (p. ej. simultánea, sucesivamente o por separado) con otros agentes, fármacos u hormonas.

La dosis a la que se administra la molécula de anticuerpo de la presente invención depende de la naturaleza de la afección que debe tratarse, de la magnitud de la inflamación presente y de si la molécula de anticuerpo se está utilizando profilácticamente o para tratar una afección existente.

5 La frecuencia de la dosis dependerá de la vida media de la molécula de anticuerpo y de la duración de su efecto. Si la molécula de anticuerpo tiene una corta vida media (p. ej. 2 a 10 horas) puede ser necesario administrar una o más dosis al día. Alternativamente, si la molécula de anticuerpo tiene una larga vida media (p. ej. 2 a 15 días) puede ser necesario solamente administrar una dosis una vez al día, una vez a la semana o incluso una vez cada 1 o 2 meses.

10 El vehículo farmacéuticamente aceptable no debería inducir la producción de anticuerpos perjudiciales para quien recibe la composición y no debería ser tóxico. Los vehículos idóneos pueden ser macromoléculas grandes, metabolizadas lentamente tales como proteínas, polipéptidos, liposomas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas de virus inactivos.

Pueden utilizarse sales, por ejemplo sales de ácidos minerales, tales como hidroclouros, hidrobromuros, fosfatos y sulfatos, o sales de ácidos orgánicos, tales como acetatos, propionatos, malonatos y benzoatos.

15 Vehículos farmacéuticamente aceptables en composiciones terapéuticas pueden contener líquidos tales como agua, solución salina, glicerol y etanol. Además, en dichas composiciones pueden estar presentes sustancias, tales como agentes humectantes o emulsionantes o sustancias amortiguadoras del pH. Dichos vehículos permiten que las composiciones farmacéuticas sean formuladas como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, lechadas y suspensiones, para ingestión por el paciente.

20 Las formas preferidas para administración incluyen formas adecuadas para administración parenteral, p. ej. por inyección o infusión, por ejemplo por inyección intravenosa rápida o infusión continua. Cuando el producto es inyectable o por infusión, puede tomar la forma de una suspensión, solución o emulsión en un vehículo aceitoso o acuoso y puede contener agentes formuladores, tales como agentes de suspensión, conservantes, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, la molécula de anticuerpo puede estar en forma anhidra, para redisolución antes de su uso con un líquido estéril apropiado.

25 Una vez formuladas, las composiciones de la invención pueden administrarse directamente al paciente. Los pacientes a tratar pueden ser animales. Sin embargo, se prefiere que las composiciones se adapten para administración a pacientes humanos.

30 Las composiciones farmacéuticas de esta invención puede ser administrada por cualquier número de vías incluidas, pero no limitadas a, las vías oral, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intramedular, intratecal, intraventricular, transdérmica, transcutánea (por ejemplo, véase el documento WO 98/20734), subcutánea, intraperitoneal, intranasal, entérica, tópica, sublingual, intravaginal o rectal. Pueden utilizarse también inyectores para administrar las composiciones farmacéuticas de la invención. Por lo general, las composiciones terapéuticas pueden prepararse como inyectables, bien como soluciones o suspensiones líquidas. Pueden prepararse también formas sólidas adecuadas para solución en, o suspensión en, vehículos líquidos antes de la inyección.

35 La administración directa de las composiciones generalmente se llevará a cabo por inyección, por vía subcutánea, intraperitoneal, intravenosa o intramuscular, o se administrará al espacio intersticial de un tejido. Las composiciones pueden administrarse también en una lesión. El tratamiento a dosis puede ser un programa de una sola dosis o un programa de múltiples dosis.

40 Cabe destacar que el principio activo en la composición será una molécula de anticuerpo. Como tal, será sensible a la degradación en el tubo digestivo. Por lo tanto, si la composición ha de administrarse por una vía que utiliza el tubo digestivo, la composición necesitará contener agentes que protejan el anticuerpo de la degradación pero que liberen el anticuerpo una vez ha sido absorbido en el tubo digestivo.

Una exposición completa de vehículos farmacéuticamente aceptables está disponible en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, N.J. 1991).

45 En una realización se proporciona la formulación en forma de una formulación para administraciones tópicas, que incluyen la inhalación.

50 Los preparados inhalables adecuados incluyen polvos inhalables, aerosoles dosimétricos que contienen gases propulsores o disoluciones inhalables sin gases propulsores. Los polvos inhalables según la descripción que contienen la sustancia activa pueden consistir solamente en las sustancias activas anteriormente mencionadas o en una mezcla de las sustancias activas anteriormente mencionadas con un excipiente fisiológicamente aceptable.

55 Estos polvos inhalables pueden incluir monosacáridos (por ejemplo, glucosa o arabinosa), disacáridos (por ejemplo, lactosa, sacarosa, maltosa), oligo- y polisacáridos (por ejemplo, dextranos), polialcoholes (por ejemplo, sorbitol, manitol, xilitol), sales (por ejemplo, cloruro de sodio, carbonato de calcio) o mezclas de estos entre sí. Se utilizan de modo adecuado mono- o disacáridos, y la lactosa o la glucosa, en particular, pero no exclusivamente, se utilizan en forma de sus hidratos.

Las partículas para deposición en el pulmón requieren un tamaño de partícula menor de 10 micras, tal como 1-9 micras por ejemplo de 0,1 a 5 µm, en particular de 1 a 5 µm. El tamaño de partícula del principio activo (tal como el anticuerpo o fragmento) tiene una gran importancia.

5 Los gases propulsores que se pueden utilizar para preparar los aerosoles inhalables son conocidos en la técnica. Los gases propulsores adecuados se seleccionan entre hidrocarburos tales como n-propano, n-butano o isobutano e hidrocarburos halogenados, tales como derivados clorados y/o fluorados de metano, etano, propano, butano, ciclopropano o ciclobutano. Los gases propulsores anteriormente mencionados se pueden utilizar como tales o en mezclas de los mismos.

10 Los gases propulsores particularmente adecuados son derivados de alcano halogenados seleccionados entre TG 11, TG 12, TG 134a y TG227. De los hidrocarburos halogenados mencionados anteriormente, TG134a (1,1,1,2-tetrafluoroetano) y TG227 (1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano) y sus mezclas son particularmente adecuados.

Los aerosoles inhalables que contienen gas propulsor también pueden contener otros ingredientes, tales como codisolventes, estabilizantes, agentes tensioactivos, antioxidantes, lubricantes y medios para ajustar el pH. Todos estos ingredientes son conocidos en la técnica.

15 Los aerosoles inhalables que contienen un gas propulsor según la invención pueden contener hasta 5% en peso de principio activo. Los aerosoles según la invención contienen, por ejemplo, de 0,002 a 5% en peso, de 0,01 a 3% en peso, de 0,015 a 2% en peso, de 0,1 a 2% en peso, de 0,5 a 2% en peso o de 0,5 a 1% en peso de principio activo.

20 Como alternativa, las administraciones tópicas en el pulmón también pueden ser mediante la administración de una disolución líquida o una formulación en suspensión, por ejemplo empleando un dispositivo tal como un nebulizador, por ejemplo, un nebulizador conectado a un compresor (por ejemplo, el nebulizador Pari LC-Jet Plus(R) conectado a un compresor Pari Master(R) fabricado por Pari Respiratory Equipment, Inc., Richmond, Va.).

25 El anticuerpo de la invención puede administrarse dispersado en un disolvente, p. ej., en forma de una solución o una suspensión. Puede ponerse en suspensión en una disolución fisiológica apropiada, por ejemplo, disolución salina u otro disolvente o disolución tamponada farmacológicamente aceptable. Las disoluciones tamponadas conocidas en la técnica pueden contener de 0,05 mg a 0,15 mg de edetato disódico, de 8,0 mg a 9,0 mg de NaCl, de 0,15 mg a 0,25 mg de polisorbato, de 0,25 mg a 0,30 mg de ácido cítrico anhidro, y de 0,45 mg a 0,55 mg de citrato de sodio por 1 ml de agua de manera que se logre un pH de aproximadamente 4,0 a 5,0. Una suspensión puede contener, por ejemplo, el anticuerpo liofilizado.

30 Las suspensiones o en formulaciones en disolución terapéuticas también pueden contener uno o más excipientes. Los excipientes son muy conocidos en la técnica e incluyen tampones (p. ej., tampón citrato, tampón fosfato, tampón acetato y tampón bicarbonato), aminoácidos, urea, alcoholes, ácido ascórbico, fosfolípidos, proteínas (p. ej., albúmina del suero), EDTA, cloruro de sodio, liposomas, manitol, sorbitol, y glicerol. Las disoluciones o suspensiones se pueden encapsular en liposomas o microesferas biodegradables. La formulación se proporcionará generalmente en una forma sustancialmente estéril empleando procedimientos de fabricación estériles.

35 Esto puede incluir la producción y esterilización por filtración del disolvente/solución tamponado utilizado para la formulación, la suspensión aséptica del anticuerpo en la solución disolvente tamponada, y la distribución de la formulación en receptáculos estériles mediante métodos conocidos para los expertos en la técnica.

40 La formulación nebulizable según la presente descripción puede ser proporcionada, por ejemplo, en forma de unidades de dosis unitaria (p. ej., recipientes de plástico o viales sellados) envasados en sobres de aluminio. Cada vial contiene una dosis unitaria en un volumen, p. ej., de 2 ml de disolvente/disolución tampón.

Los anticuerpos descritos en la presente memoria pueden ser adecuados para administración mediante nebulización.

45 Está previsto también que el anticuerpo de la presente invención pueda administrarse empleando genoterapia. Para conseguir esto, se introducen en un paciente secuencias de ADN que codifican las cadenas pesada y ligera de la molécula de anticuerpo bajo el control de componentes de ADN apropiados de manera que las cadenas de anticuerpo se expresan en las secuencias de ADN y se ensamblan *in situ*.

La presente invención proporciona además una molécula de anticuerpo para su empleo en el control de enfermedades inflamatorias. Preferiblemente, la molécula de anticuerpo puede utilizarse para reducir el proceso inflamatorio o para prevenir el proceso inflamatorio.

50 La presente invención además proporciona la molécula de anticuerpo de la presente invención para su empleo en el tratamiento o profilaxis de un trastorno patológico que está mediado por IL-17A e/o IL-17F o está relacionado con un aumento en la concentración de IL-17A e/o IL-17F. Preferiblemente, el proceso patológico se selecciona del grupo consistente en infecciones (vírica, bacteriana, micótica y parasitaria), choque endotóxico relacionado con infección, artritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis idiopática juvenil generalizada (JIA), lupus eritematoso
55 diseminado (SLE), asma, enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias (COAD), neumopatía obstructiva

- crónica (COPD), lesión pulmonar aguda, enfermedad inflamatoria pélvica, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, síndrome del intestino irritable, colitis ulcerosa, enfermedad de Castleman, espondilitis anquilosante y otras espondiloartropatías, dermatomiositis, miocarditis, uveítis, exoftalmia, tiroiditis autoinmunitaria, enfermedad de Peyronie, celiacía, colecistopatía, enfermedad pilonidal, peritonitis, psoriasis, dermatitis atópica, vasculitis, adherencia quirúrgicas, ictus, diabetes autoinmunitaria, diabetes tipo I, artritis de Lyme, meningoencefalitis, trastornos inflamatorios inmunomediados del sistema nervioso central y periférico tales como la esclerosis múltiple y el síndrome de Guillain-Barré, otros trastornos autoinmunitarios, pancreatitis, traumatismo (intervención quirúrgica), enfermedad de injerto contra anfitrión, rechazo del trasplante, trastornos fibrosantes incluidas la fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, esclerodermia o esclerosis generalizada, cáncer (tanto tumores sólidos tales como melanomas, hepatoblastomas, sarcomas, carcinomas escamosos, leucemias monocíticas, cánceres de ovario y tumores malignos hematológicos y en especial leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfática crónica, cáncer gástrico y cáncer de colon), cardiopatías incluidas las enfermedades isquémicas tales como el infarto de miocardio así como la aterosclerosis, la coagulación intravascular, la resorción ósea, la osteoporosis, la periodontitis y la hipoclorhidia.
- 5 En una realización el anticuerpo de la presente invención se utiliza en el tratamiento o profilaxis de un trastorno patológico seleccionado del grupo consistente en artritis, artritis reumatoide, psoriasis, artritis psoriásica, artritis idiopática juvenil generalizada (JIA), lupus eritematoso diseminado (SLE), asma, enfermedad de las vías respiratorias obstructiva crónica, neumopatía obstructiva crónica, dermatitis atópica, esclerodermia, esclerosis generalizada, fibrosis pulmonar, enfermedades inflamatorias del intestino, espondilitis anquilosante y otras espondiloartropatías y cáncer.
- 10 En una realización el anticuerpo de la presente invención se utiliza en el tratamiento o profilaxis de un trastorno patológico seleccionado del grupo consistente en artritis, artritis reumatoide, psoriasis, artritis psoriásica, artritis idiopática juvenil generalizada (JIA), lupus eritematoso diseminado (SLE), asma, enfermedad de las vías respiratorias obstructiva crónica, neumopatía obstructiva crónica, dermatitis atópica, esclerodermia, esclerosis generalizada, fibrosis pulmonar, enfermedades inflamatorias del intestino, espondilitis anquilosante y otras espondiloartropatías y cáncer.
- 15 En una realización el anticuerpo de la presente invención se utiliza en el tratamiento o profilaxis de un trastorno patológico seleccionado del grupo consistente en artritis, artritis reumatoide, psoriasis, artritis psoriásica, artritis idiopática juvenil generalizada (JIA), lupus eritematoso diseminado (SLE), asma, enfermedad de las vías respiratorias obstructiva crónica, neumopatía obstructiva crónica, dermatitis atópica, esclerodermia, esclerosis generalizada, fibrosis pulmonar, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, espondilitis anquilosante y otras espondiloartropatías.
- 20 En una realización el anticuerpo de la presente invención se utiliza en el tratamiento o profilaxis de un trastorno patológico seleccionado del grupo consistente en artritis, artritis reumatoide, psoriasis, artritis psoriásica, artritis idiopática juvenil generalizada (JIA), lupus eritematoso diseminado (SLE), asma, enfermedad de las vías respiratorias obstructiva crónica, neumopatía obstructiva crónica, dermatitis atópica, esclerodermia, esclerosis generalizada, fibrosis pulmonar, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, espondilitis anquilosante y otras espondiloartropatías.
- 25 En una realización el trastorno patológico es la artritis reumatoide.
- En una realización el trastorno patológico es la enfermedad de Crohn.
- 30 En una realización el trastorno patológico es la colitis ulcerosa.
- En un ejemplo el anticuerpo de la presente invención se utiliza en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria o inmunitaria. En un ejemplo la enfermedad inflamatoria o inmunitaria se selecciona del grupo consistente en artritis reumatoide, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa.
- 35 La presente invención proporciona además una molécula de anticuerpo según la presente invención para su utilización en el tratamiento o profilaxis del dolor, especialmente del dolor asociado con la inflamación.
- La presente invención además proporciona la utilización de una molécula de anticuerpo según la presente invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de un trastorno patológico que está mediado por IL-17A e/o IL-17F o está relacionado con un aumento en la concentración de IL-17A e/o IL-17F. Preferiblemente el trastorno patológico es una de las indicaciones médicas descrita en la presente memoria anteriormente. La presente invención además proporciona la utilización de una molécula de anticuerpo según la presente invención en la preparación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis del dolor, especialmente el dolor asociado a la inflamación.
- 40 Una molécula de anticuerpo de la presente invención puede utilizarse en cualquier tratamiento cuando se desee reducir los efectos de IL-17A e/o IL-17F en el cuerpo humano o animal. IL-17A e/o IL-17F puede estar circulando en el cuerpo o puede estar presente en una indeseable alta concentración localizada en un determinado lugar en el cuerpo, por ejemplo un lugar de inflamación.
- 45 Una molécula de anticuerpo según la presente invención se utiliza preferiblemente para el control de enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunitarias o cánceres.
- 50 La presente invención proporciona además un método de tratamiento de pacientes humanos o animales que padecen o están en situación de riesgo de un trastorno mediado por IL-17A e/o IL-17F, comprendiendo el método la administración al paciente de una cantidad eficaz de una molécula de anticuerpo de la presente invención.
- 55

Una molécula de anticuerpo según la presente invención puede utilizarse también en diagnóstico, por ejemplo en el diagnóstico *in vivo* y por la imagen de enfermedades que involucran a IL-17A e/o IL-17F.

La presente invención se describe además a modo de ilustración únicamente en los siguientes ejemplos, que hacen referencia a las figuras adjuntas, en que:

5 Figura 1

- a) Región V de la cadena ligera del anticuerpo CA028_0496g3 (SEQ ID nº 7).
- b) Región V de la cadena pesada del anticuerpo CA028_0496g3 (SEQ ID nº 9).
- c) CDRH1 (SEQ ID nº 1), CDRH2 (SEQ ID nº 2), CDRH3 (SEQ ID nº 3), CDRL1 (SEQ ID nº 4), CDRL2 (SEQ ID nº 5), CDRL3 (SEQ ID nº 6) del anticuerpo CA028_496g3.

10 d) Cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 (SEQ ID nº 11).

- e) Cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal (SEQ ID nº 12).

Figura 2

- a) Cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 (SEQ ID nº 15).
- b) Cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal (SEQ ID nº 16).

15 c) ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 (sin secuencia señal) (SEQ ID nº 13).

Figura 3

- a) ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal (SEQ ID nº 14)
- b) ADN que codifica la región variable de la cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 (SEQ ID nº 8)
- c) ADN que codifica la región variable de la cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal (SEQ ID nº 10)

20 Figura 4: ADN (incluidos los exones) que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 sin secuencia señal (SEQ ID nº 17)

Figura 5: ADN (incluidos los exones y la secuencia señal) que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 (SEQ ID nº 18)

25 Figura 6: ADNc que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal (SEQ ID nº 19).

Figura 7: El efecto de los anticuerpos CA028_0496 (denominado 496g1 en la leyenda) y CA028_00496.g3 (denominado 496.g3 en la leyenda) en IL-17F humano indujo la producción de IL-6 en células Hela.

Ejemplo 1: Producción de un anticuerpo neutralizante mejorado que se une a IL-17A e IL-17F

30 El aislamiento y humanización del anticuerpo CA028_0496 se ha descrito previamente en el documento WO2008/047134. CA028_0496 es un anticuerpo neutralizante humanizado que se une tanto a IL-17A como a IL-17F y comprende las regiones variables gL7 y gH9 trasplantadas, cuyas secuencias se proporcionan en el documento WO2008/047134. El marco receptor de la cadena pesada es la secuencia VH3 1-3 3-07 de la estirpe germinativa humana con marco 4 que procede de esta porción de la estirpe germinativa JH4 de la región JH humana. El marco receptor de la cadena ligera es la secuencia VK1 2-1-(1) L4 de la estirpe germinativa humana con marco 4 que procede de esta porción de la estirpe germinativa JK1 de la región JK humana.

40 El anticuerpo CA028_00496 se maduró por afinidad para mejorar la afinidad del anticuerpo por IL-17F conservando a la vez la afinidad por IL-17A. A diferencia del anticuerpo CA028_00496, el anticuerpo madurado por afinidad, conocido como CA028_00496.g3, se expresó como una IgG1 en lugar de una IgG4. Se modificaron genes para generar las versiones maduras por afinidad por mutagenia dirigida al oligonucleótido. La secuencia génica (gL57) de la región variable de la cadena ligera madurada por afinidad se subclonó en el vector de expresión pKH10.1 de la cadena ligera humana UCB Celltech, que contiene ADN que codifica la región constante C-Kappa humana (alotipo Km3). La secuencia (gH9) de la región variable de la cadena pesada inalterada se subclonó en el vector de expresión pVhg1 FL de UCB Celltech, que contiene ADN que codifica regiones constantes gamma-1 de la cadena pesada humana. Se cotransfectaron plásmidos en células CHO usando el procedimiento de Lipofectamina™ 2000 según las instrucciones del fabricante (Invitrogen, nº de catálogo 11668).

45 La secuencia final de las regiones variables maduras por afinidad del anticuerpo CA028_00496.g3 se dan en las

figuras 1a y 1b. En el anticuerpo CA028_00496.g3 la secuencia de la región variable de la cadena pesada es la misma que la del anticuerpo CA028_00496 original. En cambio, la región variable de la cadena ligera difiere en 5 aminoácidos. Los cinco restos que difieren entre la cadena ligera del anticuerpo CA028_00496 y del anticuerpo CA028_00496.g3 están subrayados en la figura 1a.

5 Ejemplo 2: Biacore

Como se describe a continuación, el formato de ensayo fue captura del anticuerpo CA028_00496.g3 por un anticuerpo específico para IgG Fc anti-humano inmovilizado, seguido de valoración de IL-17A humano e IL-17F humano sobre la superficie capturada.

10 análisis por interacción Se llevó a cabo análisis por interacción biomolecular utilizando un Biacore 3000 (Biacore AB). Los análisis se llevaron a cabo a 25°C. Fc específico de IgG anti-humano en cabra del fragmento F(ab')₂ Affinipure (Jackson ImmunoResearch) se inmovilizó en un CM5 Sensor Chip (Biacore AB) mediante química de acoplamiento de aminos hasta un nivel de aproximadamente 6.000 unidades de respuesta (UR). Se utilizó tampón HBS-EP (HEPES 10 mM pH 7,4, NaCl 0,15M, EDTA 3 mM, tensioactivo P20 0,005%, Biacore AB) como tampón corriente con un caudal de 10 µl/minuto (min). Una inyección de 10 µl de CA028_00496.g3 a 0,5 µg/ml se utilizó para
15 captura por el Fc de IgG anti-humana inmovilizado. IL-17A humana (generada en la propia empresa por UCB) se valoró sobre el CA028_00496.g3 capturado de 5nM a un caudal de 30 µl/min durante 3 min seguido de una disociación de 20 min. IL-17F humana (R&D systems) se valoró sobre el CA028_00496.g3 capturado de 10nM a un caudal de 30 µl/min durante 3 min seguido de una disociación de 5 min. La superficie se regeneró a un caudal de 10 µl/min mediante una inyección de 10 µl de HCl 40 mM seguida de una inyección de 5 µl de NaOH 5 mM.

20 Tabla 1 Afinidad de CA028_00496.g3 contra IL-17F e IL-17A humanos

	$K_a (M^{-1}s^{-1})$	$K_d (s^{-1})$	$K_D (M)$	KD (pM)
hIL-17F	2,49E+06	8,74E-05	3,51E-11	35
	3,49E+06	5,08E-05	1,46E-11	15
	2,99E+06	6,91E-05	2,31E-11	23
hIL-17A	4,66E+06	2,04E-05	4,38E-12	4,4
	4,52E+06	8,66E-06	1,92E-12	1,9
	4,59E+06	1,45E-05	3,17E-12	3,2

Se analizaron curvas de unión sustraído el fondo dos veces referenciado empleando el programa informático BIAevaluation (versión 4.1) siguiendo procedimientos normalizados. Se determinaron parámetros cinéticos del algoritmo de ajuste. Los datos se detallan en la tabla 1, los valores promedio se destacan en gris.

25 El valor de la afinidad determinado para IL-17A que se une al anticuerpo original CA028_0496 fue 16 pM y 1.750 pM para IL-17F. En cambio, el anticuerpo CA028_0496 g3 mejorado tiene una afinidad por IL-17A de 3,2 pM y por IL-17F de 23 pM. La afinidad del anticuerpo CA028_0496 por IL-17F se mejoró 70 veces sin reducir la afinidad del anticuerpo por IL-17A. De hecho, la afinidad por IL-17A se aumentó cinco veces.

30 La afinidad de CA028_0496 g3 por el heterodímero IL-17A/F aumentó también (se hizo como se describe en el documento WO2008/047134) donde se encontró que la afinidad era de 26 pM (datos no mostrados).

Ejemplo 3

La potencia de CA028_00496.g1 (previamente descrita en el documento WO2008/047134) y CA028_00496.g3 para la neutralización de IL-17F humano se determinó empleando un bioanálisis de células HeLa. Se obtuvieron células Hela del banco de células en ATCC (ATCC CCL-2). Se cultivaron células en medio de Eagle modificado por
35 Dulbecco (DMEM) enriquecido con suero de ternero fetal al 10%, penicilina, gentamicina y glutamina. Se colocaron 1×10^4 células en placas de 96 pocillos de cultivo hístico de fondo redondo. Se incubaron las células durante la noche y se lavaron una vez en tampón de ensayo. Se estimularon células HeLa con una combinación de IL-17F humano recombinado (125 ng/ml) y factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-α) (1 ng/ml) durante 48 horas en presencia de concentraciones variables de los anticuerpos. En la estirpe celular HeLa, IL-17F se sinergiza con TNF-alfa para
40 estimular la producción de IL-6 que puede cuantificarse empleando un equipo de análisis de MSD específico. La cantidad resultante de IL-6 segregada se midió empleando la tecnología analítica Meso Scale Discovery (MSD) y

valores de CI50 calculados. CA028_00496.g1 y CA028_00496.g3 presentaron inhibición dependiente de la dosis de la bioactividad de IL-17F medida en el bioanálisis de células HeLa (figura 7). La actividad de CA028_00496.g1 y CA028_00496.g3 en el análisis de HeLa se expresó como la dosis requerida para inhibir el 50% de la actividad de IL-17F (CI₅₀). La IC₅₀ para CA028_00496.g1 es 92 mg/ml y para CA0 496.g3 es 4 ng/ml.

- 5 La capacidad de CA028_00496.g3 para neutralizar IL-17A, como se describió anteriormente para CA028_00496.g1 en el documento WO2008/047134, se confirmó empleando el mismo análisis en el que IL-17F was sustituyó por IL-17A (datos no mostrados).

Lista de secuencias

10 <110> UCB Pharma S.A. Adams, Ralph Baker, Terence Lawson, Alastair

<120> Moléculas de anticuerpo que se unen a IL-17A e IL-17F

<130> G0141

15 <160> 19

<170> PatentIn versión 3.5

20 <210> 1
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

25 <220>
<223> CDRH1

<400> 1

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

<210> 2
<211> 17
<212> PRT
35 <213> Artificial

<220>
<223> CDRH2

40 <400> 2

Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

45 <210> 3
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial

50 <220>
<223> CDRH3

<400> 3

55 Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe Ala His
1 5 10 15

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

ES 2 632 583 T3

<220>
 <223> CDRL1

5 <400> 4

Arg Ala Asp Glu Ser Val Arg Thr Leu Met His
 1 5 10

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

10

<220>
 <223> CDRL2

15 <400> 5

Leu Val Ser Asn Ser Glu Ile
 1 5

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

25 <220>
 <223> CDRL3

30 <400> 6

Gln Gln Thr Trp Ser Asp Pro Trp Thr
 1 5

35 <210> 7
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> Región variable de la cadena ligera

<400> 7

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

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

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

Tyr Leu Val Ser Asn Ser Glu Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

ES 2 632 583 T3

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

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

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

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

5 <210> 10
<211> 375
<212> ADN
<213> Artificial

10 <220>
<223> ADN que codifica la región variable de la cadena pesada
<400> 10

gaggttcagc tcgttgaatc cggaggcggga ctctgtcagc ctgggggctc cttgcggctg 60
agctgcgctg ccagtggctt cactttcagc gattacaata tggcctgggt gcgccaggcc 120
ccaggcaagg gtctggagtg ggtggccaca attacctatg agggcagaaa cacttattac 180
cgggattcag tgaagggcg atttaccatc agcagggata atgcaaagaa cagtctgtac 240
ctgcagatga actctctgag agctgaggac accgctgtct actattgtgc aagcccaccc 300
cagtactatg agggctcaat ctacagattg tggtttgccc attggggcca gggaacactg 360
gtgaccgtct cgagc 375

15 <210> 11
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial

20 <220>
<223> Cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3
<400> 11

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

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

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

25 Tyr Leu Val Ser Asn Ser Glu Ile Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

ES 2 632 583 T3

50

55

60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 12
<211> 234
5 <212> PRT
<213> Artificial

<220>
10 <223> Cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal

<400> 12

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

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

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

ES 2 632 583 T3

Val Arg Thr Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Ser Glu Ile Gly Val Pro Asp
65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 13
<211> 645
5 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
10 <223> ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3

<400> 13

gccatccagc tgaccagag cccttcctct ctcagcgcca gtgtcggaga cagagtgact 60

attacctgca gggtgacga aagcgtgaga acattgatgc actggtacca acagaagcct 120

ES 2 632 583 T3

ggcaaagccc ccaagctcct gatctatctg gtttccaatt cggagattgg agtccccgac 180
 aggttcagcg gcagtgggtc tggaactgac tttgcctga caatctcctc actccagccc 240
 gaagatttcg ccacctacta ttgccagcag acttgagcgc acccttggac atttggacag 300
 ggcacaaaag tggagatcaa gcgtacggta gcggcccat ctgtcttcat cttcccgcc 360
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtac ccatcagggc 600
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 14
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal

10

<400> 14

atgtcagttc ccacacaggt gctgggcctg cttctgttgt ggctcaccga tgctaggtgt 60
 gccatccagc tgaccagag cccttcctct ctcagcgcca gtgtcggaga cagagtgact 120
 attacctgca gggctgacga aagcgtgaga acattgatgc actggtacca acagaagcct 180
 ggcaaagccc ccaagctcct gatctatctg gtttccaatt cggagattgg agtccccgac 240
 aggttcagcg gcagtgggtc tggaactgac tttgcctga caatctcctc actccagccc 300
 gaagatttcg ccacctacta ttgccagcag acttgagcgc acccttggac atttggacag 360
 ggcacaaaag tggagatcaa gcgtacggta gcggcccat ctgtcttcat cttcccgcc 420
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 480
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 540
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 600
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtac ccatcagggc 660
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 705

15

<210> 15
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Artificial

20

<220>
 <223> Cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3

<400> 15

ES 2 632 583 T3

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

ES 2 632 583 T3

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 260 265 270

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

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

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 325 330 335

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

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

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 385 390 395 400

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

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455

<210> 16
 <211> 474
 5 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal

10 <400> 16

ES 2 632 583 T3

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

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

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

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

Glu Trp Val Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg
115 120 125

Leu Trp Phe Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
165 170 175

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
180 185 190

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
195 200 205

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
210 215 220

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
225 230 235 240

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
245 250 255

ES 2 632 583 T3

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 260 265 270

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 275 280 285

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 290 295 300

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 305 310 315 320

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 325 330 335

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 340 345 350

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 355 360 365

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 370 375 380

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 385 390 395 400

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 405 410 415

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 420 425 430

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 435 440 445

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 450 455 460

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 17
 <211> 1365
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> ADN (incluidos los exones) que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3

10

<400> 17

ES 2 632 583 T3

gaggttcagc tcgttgaatc cggagggcga ctctgcagc ctgggggctc cttgcggctg 60
 agctgcgctg ccagtggctt cactttcagc gattacaata tggcctgggt gcgccaggcc 120
 ccaggcaagg gtctggagtg ggtggccaca attacctatg agggcagaaa cacttattac 180
 cgggattcag tgaaagggcg atttaccatc agcagggata atgcaaagaa cagtctgtac 240
 ctgcagatga actctctgag agctgaggac accgctgtct actattgtgc aagcccaccc 300
 cagtactatg agggctcaat ctacagattg tggtttgccc attggggcca gggaacactg 360
 gtgaccgtct cgagcgcttc taaaaagggc ccatcggctt tccccctggc accctcctcc 420
 aagagcacct ctggggggcag agcggccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa 480
 ccggtgacgg tgtcgtggaa ctacggcgcg ctgaccagcg gcgtgcacac cttccccgct 540
 gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc 600
 ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg aatcacaagc ccagcaacac caaggtcgac 660
 aagaaagttg agcccaaate ttgtgacaaa actcacacat gccaccctg cccagcacct 720
 gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc tccccccaa aaccaagga caccctcatg 780
 atctcccggg cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agaccctgag 840
 gtcaagtcca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgctg 900
 gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 960
 tggctgaatg gcaaggagta caagtcaag gtctccaaca aagccctccc agccccatc 1020
 gagaaaacca tctccaaagc caaagcgcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc 1080
 ccatcccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1140
 tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1200
 accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcacctg 1260
 gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1320
 cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaa 1365

<210> 18
 <211> 1422
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> ADN (incluidos los exones) que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 con secuencia señal

10

<400> 18

atggaatggt cctgggtctt cctgtttttc ctttctgtca caaccggggt gcacagcgag 60

ES 2 632 583 T3

gttcagctcg ttgaatccgg aggcggactc gtgcagcctg ggggctcctt gcggctgagc 120
 tgcgctgccca gtggcttcac tttcagcgat tacaatatgg cctgggtgcg ccaggcccca 180
 ggcaagggtc tggagtgggt ggcacaatt acctatgagg gcagaaacac ttattaccgg 240
 gattcagtga aagggcgatt taccatcagc agggataatg caaagaacag tctgtacctg 300
 cagatgaact ctctgagagc tgaggacacc gctgtctact attgtgcaag cccaccccag 360
 tactatgagg gctcaatcta cagattgtgg tttgccatt ggggccaggg aacctggtg 420
 accgtctcga gcgcttctac aaagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctctccaag 480
 agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc tgcttggca aggactactt cccggaaccg 540
 gtgacgggtg cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc 600
 ctacagtctt caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg 660
 ggcaccacaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtcgacaag 720
 aaagttgagc ccaaactctt tgacaaaact cacacatgcc caccgtgcc cagcacctgaa 780
 ctctggggg gaccgtcagt ctctctctc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc 840
 tcccggacce ctgaggctac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc 900
 aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 960
 gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 1020
 ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag 1080
 aaaaccatct ccaaagccaa agcgcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 1140
 tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggetttctat 1200
 cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1260
 acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttctct acagcaagct caccgtggac 1320
 aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1380
 aacctaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aa 1422

<210> 19
 <211> 1422
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> ADN que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal

10

<400> 19
 atggaatggt cctgggtctt cctgttttcc tttctgtca caaccggggt gcacagcgag 60
 gttcagctcg ttgaatccgg aggcggactc gtgcagcctg ggggctcctt gcggctgagc 120
 tgcgctgccca gtggcttcac tttcagcgat tacaatatgg cctgggtgcg ccaggcccca 180

ES 2 632 583 T3

ggcaagggtc tggagtgggt ggccacaatt acctatgagg gcagaaacac ttattaccgg 240
 gattcagtga aagggcgatt taccatcagc agggataatg caaagaacag tctgtacctg 300
 cagatgaact ctctgagagc tgaggacacc gctgtctact attgtgcaag cccaccccag 360
 tactatgagg gctcaatcta cagattgtgg tttgccatt ggggccaggg aacctggtg 420
 accgtctoga gcgcttctac aaagggccca tcggtcttcc ccctggcacc ctctccaag 480
 agcacctctg ggggcacagc ggccttgggc tgcctgggtca aggactactt ccccgaaccg 540
 gtgacgggtg cgtggaactc aggcgccctg accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc 600
 ctacagtctt caggactcta ctccctcagc agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg 660
 ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat cacaagccca gcaacaccaa ggtcgacaag 720
 aaagttaggc ccaaactctg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgcc agcacctgaa 780
 ctctggggg gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc 840
 tcccggacce ctgagggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc 900
 aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 960
 gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 1020
 ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag 1080
 aaaaccatct ccaaagccaa agcgcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 1140
 tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat 1200
 cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 1260
 acgcctcccg tctgggactc cgacggctcc ttcttctct acagcaagct caccgtggac 1320
 aagagcaggt gccagcagg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 1380
 aacctaca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aa 1422

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo neutralizante que se une a IL-17A humano e IL-17F humano con una cadena ligera y una cadena pesada, en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende la secuencia dada en la SEQ ID n° 7 y el dominio variable de la cadena pesada comprende la secuencia dada en la SEQ ID n° 9.
- 5 2. Un anticuerpo según la reivindicación 1 que también se une al heterodímero IL-17A/IL-17F.
3. Un anticuerpo según la reivindicación 1 o 2, en donde el anticuerpo es un anticuerpo completo o uno de sus fragmentos funcionalmente activos.
4. El anticuerpo según la reivindicación 3 donde el fragmento de anticuerpo se selecciona del grupo consistente en un fragmento Fab, Fab', F(ab')₂, scFv y Fv .
- 10 5. Un anticuerpo según la reivindicación 1 o 2 en donde el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico.
6. Un anticuerpo neutralizante que se une a IL-17A humano e IL-17F humano según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que tiene una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID n°: 15 y una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID n°: 11.
- 15 7. Una secuencia de ADN aislada que codifica la cadena pesada y la ligera de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
8. Un vector de clonación o de expresión que comprende la secuencia de ADN según la reivindicación 7.
9. Un vector según la reivindicación 8, en donde el vector comprende las secuencias dadas en la SEQ ID n°: 13 y la SEQ ID n°: 17.
- 20 10. Una célula anfitriona para la expresión de un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que comprende:
 - (i) una secuencia de ADN que codifica la cadena pesada de dicho anticuerpo, y
 - (ii) una secuencia de ADN que codifica la cadena ligera de dicho anticuerpo
 en donde las secuencias de ADN se proporciona en uno o más vectores de clonación o expresión.
11. Una célula anfitriona que comprende uno o más vectores de clonación o expresión según la reivindicación 8 o 9.
- 25 12. Un procedimiento para la producción del anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende el cultivo de la célula anfitriona de la reivindicación 10 u 11 y el aislamiento del anticuerpo.
13. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en combinación con uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.
14. Una composición farmacéutica según la reivindicación 13, que comprende además otros principios activos.
- 30 15. Un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una composición farmacéutica según la reivindicación 13 o 14, para su empleo en el tratamiento.
16. Un anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una composición farmacéutica según la reivindicación 13 o 14, para su empleo en el tratamiento o profilaxis de un estado patológico seleccionado del grupo consistente en infecciones (vírica, bacteriana, micótica y parasitaria), choque endotóxico relacionado con infección,
 - 35 artritis, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis idiopática juvenil generalizada (JIA), lupus eritematoso diseminado (SLE), asma, enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias (COAD), neumopatía obstructiva crónica (COPD), lesión pulmonar aguda, enfermedad inflamatoria pélvica, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino, síndrome del intestino irritable, colitis ulcerosa, enfermedad de Castleman, espondilitis anquilosante y otras espondiloartropatías, dermatomiositis, miocarditis, uveítis, exoftalmia,
 - 40 tiroiditis autoinmunitaria, enfermedad de Peyronie, celiaquía, colecistopatía, enfermedad pilonidal, peritonitis, psoriasis, dermatitis atópica, vasculitis, adherencia quirúrgicas, ictus, diabetes autoinmunitaria, diabetes tipo I, artritis de Lyme, meningoencefalitis, trastornos inflamatorios inmunomediados del sistema nervioso central y periférico tales como la esclerosis múltiple y el síndrome de Guillain-Barr, otros trastornos autoinmunitarios, pancreatitis, traumatismo (intervención quirúrgica), enfermedad de injerto contra anfitrión, rechazo del trasplante, trastornos
 - 45 fibrosantes incluidas la fibrosis pulmonar, fibrosis hepática, fibrosis renal, esclerodermia o esclerosis generalizada, cáncer (tanto tumores sólidos tales como melanomas, hepatoblastomas, sarcomas, carcinomas escamosos, leucemias monocíticas, cánceres de ovario y tumores malignos hematológicos y en especial leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfática crónica, cáncer gástrico y cáncer de colon), cardiopatías incluidas las enfermedades isquémicas tales como el infarto de miocardio así como la aterosclerosis, la coagulación
 - 50 intravascular, la resorción ósea, la osteoporosis, la periodontitis y la hipoclorhidia.

Figura 1

(a) Región variable de la cadena ligera del anticuerpo CA028_496 g3 (SEQ ID NO:7)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRADESVRTL~~M~~HWYQQKPGKAPKLLIYLVS~~N~~SEIGVPDRF
SGSGSGTDFRLT~~I~~SSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKVEIK

(b) Región variable de la cadena pesada del anticuerpo CA028_496 g3 (SEQ ID NO:9)

EVQLVESGGGLVQP~~G~~SLR~~L~~SCAASGFTFSDYNMAWVRQAPGKGLEWVATIT~~I~~YEGRNTYYRD
SVKGRFTISRDN~~A~~KNSLYLQ~~M~~NSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWFAHWGQGLTVTS
S

(c)

CDRH1: GFTFSDYNMA (SEQ ID NO:1)
CDRH2: TITYEGRNTYYRDSVKG (SEQ ID NO:2)
CDRH3: PPQYYEGSIYRLWFAH (SEQ ID NO:3)
CDRL1: RADESVRTLMH (SEQ ID NO:4)
CDRL2: LVSNSEI (SEQ ID NO:5)
CDRL3: QQTWSDPWT (SEQ ID NO:6)

(d) Cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 (SEQ ID NO:11)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRADESVRTL~~M~~HWYQQKPGKAPKLLIYLVS~~N~~SEIGVPDRF
SGSGSGTDFRLT~~I~~SSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK~~D~~STYSLSS~~T~~LTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVT~~K~~SFNRGEC

(e) Cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 incluida la señal (SEQ ID NO:12)

MSVPTQVLG~~L~~LL~~L~~W~~L~~TDARCAIQ~~L~~TQSPSSLSASVGDRVITITCRADESVRTL~~M~~HWYQQKPGK
APKLLIYLVS~~N~~SEIGVPDRFSGSGSGTDFRLT~~I~~SSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKV
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSK~~D~~STYSLSS~~T~~LTLSKADY~~E~~KHKVYACEVTHQGLSSPVT~~K~~SFNRGEC

Figura 2

(a) Cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 (SEQ ID NO:15)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDYNMAWVRQAPGKGLEWVATITYEGRNTYYRD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWF AHWGQGLTVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(b) Cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 incluida la señal (SEQ ID NO:16)

MEWSWVFLFFLSVTTGVHSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDYNMAWVRQAPGK
GLEWVATITYEGRNTYYRDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEG
SIYRLWF AHWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(c) ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 (sin secuencia señal) (SEQ ID NO:13)

gccatccagctgaccagagcccttctctctcagcgccagtgctcggagacagagtgactat
tacctgcagggctgacgaaagcgtgagaacattgatgcactggtaccaacagaagcctggca
aagcccccaagctcctgatctatctggtttccaattcggagattggagtccccgacaggttc
agcggcagtgggctctggaactgactttcgctgacaatctcctcactccagcccgaagattt
cgccacctactattgccagcagacttgagcgacccttgacatttgacagggcaca aaag
tgagatcaagcgtacggtagcggccccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcag
ttgaaatctggaactgcctctggtgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaa
agtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagc
aggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactac
gagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcaca aa
gagcttcaacaggggagagtggttag

Figura 3

(a) ADN que codifica la cadena ligera del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia señal (SEQ ID NO:14)

atgtcagttcccacacaggtgctgggcctgcttctgttggtgctcaccgatgctaggtgtgc
 catccagctgacctagagcccttctctctcagcgcagtgctcggagacagagtgactatta
 cctgcagggctgacgaaagcgtgagaacattgatgcactggtaccaacagaagcctggcaa
 gcccccaagctcctgatctatctggtttccaattcggagattggaggtccccgacaggttcag
 cggcagtgggctctggaactgactttcgctgacaatctcctcactccagcccgaagatttcg
 ccacctaactattgccagcagacttggagcgcacccttggacatttggacagggcacaaaagt
 gagatcaagcgtacggtagcggccccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtt
 gaaatctggaactgcctctgttggtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaag
 tacagtggaaggtggataacgcctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcag
 gacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacga
 gaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaga
 gcttcaacaggggagagtgtag

(b) ADN que codifica la región variable de la cadena ligera del anticuerpo CA028_496 g3 (SEQ ID NO:8)

gccatccagctgacctagagcccttctctctcagcgcagtgctcggagacagagtgactat
 tacctgcagggctgacgaaagcgtgagaacattgatgcactggtaccaacagaagcctggca
 aagcccccaagctcctgatctatctggtttccaattcggagattggaggtccccgacaggttc
 agcggcagtgggctctggaactgactttcgctgacaatctcctcactccagcccgaagattt
 cgccacctaactattgccagcagacttggagcgcacccttggacatttggacagggcacaaaag
 tggagatcaag

(c) ADN que codifica la región variable de la cadena pesada del anticuerpo CA028_496 g3 (SEQ ID NO:10)

gaggttcagctcgttgaatccggaggcggactcgtgcagcctgggggctccttgcggctgag
 ctgcgctgccagtggttcactttcagcgattacaatatggcctgggtgcgccaggccccag
 gcaagggctctggagtggtggccacaattacctatgagggcgaaaacacttattaccgggat
 tcagtgaaagggcgatttaccatcagcagggataatgcaaagaacagctctgtacctgcagat
 gaactctctgagagctgaggacaccgctgtctactattgtgcaagcccaccccagtactatg
 agggctcaatctacagattgtggtttgcccattggggccagggaacactggtgaccgtctcg
 agc

Figura 4

ADN (incluidos los exones) que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 sin secuencia señal (SEQ ID NO:17)

gaggttcagctcgttgaatccggaggcggactcgtgcagcctgggggctccttgcggtgag
ctgcgctgccagtggttcactttcagcgattacaatatggcctgggtgcgccaggccccag
gcaagggctctggagtggtggccacaattacctatgagggcagaaacacttattaccgggat
tcagtgaaagggcgatttaccatcagcagggataatgcaaagaacagtctgtacctgcagat
gaactctctgagagctgaggacaccgctgtctactattgtgcaagcccaccccagtaactatg
agggctcaatctacagattgtggtttgcccattggggccagggaacactggtgaccgtctcg
agcgcttctacaaagggcccacatcgggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgg
gggcacagcggccctgggtgcctgggtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgt
ggaactcaggegcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcagga
cttactcctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacat
ctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggctcgacaagaaagttgagcccaaatctt
gtgacaaaactcacacatgcccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagtc
ttctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatg
cgtgggtgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtagctggacggcg
tgagaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtg
gtcagcgtcctcacgtcctgcaccaggactgggtgaatggcaaggagtacaagtgcaaggt
ctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaacatctccaagccaaagcgcagcccc
gagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagc
ctgacctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgg
gcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttctcc
tctacagcaagctcacgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgotcc
gtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtaa
a

Figura 5: ADN que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 incluidos la secuencia señal y los exones (SEQ ID NO:18)

atggaatgggtcctgggtcttccctggtttttcctttctgtcacaaccgggggtgcacagcgaggt
tcagctcgttgaatccggaggcggactcgtgcagcctgggggctccttgccggtgagctgcg
ctgccagtggcttcactttcagcgattacaatatggcctgggtgcgccaggccccaggcaag
ggtctggagtgggtggccacaattacctatgagggcagaaacacttattaccgggattcagt
gaaagggcgatttaccatcagcagggataatgcaaagaacagttctgtacctgcagatgaact
ctctgagagctgaggacaccgctgtctactattgtgcaagcccaccccagttactatgagggc
tcaatctacagattgtgggttgccattggggccagggaaactggtgaccgtctcgagcgc
ttctacaaagggcccatcgggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggca
cagcggccctggggtgcctgggtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaac
tcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagttcctcaggactcta
ctccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttgggcaccagacctacatctgca
acgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtcgacaagaaagttgagcccaaactctgtgac
aaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctggggggaccgtcagttctct
cttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgg
tggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactgggtacgtggacggcgtggag
gtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtgggtcag
cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtctcca
acaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagcgcagccccgagaa
ccacaggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccagggtcagcctgac
ctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagc
cggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctac
agcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat
gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

Figura 6: ADNc que codifica la cadena pesada del anticuerpo CA028_496g3 incluida la secuencia final (SEQ ID NO:19)

atggaatggctcctgggtcttctgtttttctttctgtcacaaccggggtgcacagcgaggt
tcagctcgttgaatccggaggcggactcgtgcagcctgggggctccttgcggctgagctgcg
ctgccagtggcttcactttcagcgtattacaatatggcctgggtgcgccaggccccaggcaag
ggctctggagtgggtggccacaattacctatgagggcagaaacacttattaccgggattcagt
gaaagggcgatttaccatcagcagggataatgcaaagaacagctctgtacctgcagatgaact
ctctgagagctgaggacaccgctgtctactattgtgcaagcccacccagctactatgagggc
tcaatctacagattgtggtttgcccattggggccaggaacactgggtgaccgtctcgagcgc
ttctacaaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggca
cagcggccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccgggtgacgggtgtcgtggaac
tcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactcta
ctcctcagcagcgtgggtgaccgtgcctccagcagcttgggcaccagacctacatctgca
acgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtcgacaagaaagttgagcccaaattctgtgac
aaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctggggggaccgtcagctctcct
cttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgg
tggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggag
gtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcag
cgtcctcacctcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctcca
acaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagcgcagccccgagaa
ccacaggtgtacacctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgac
ctgctgtgcaaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagc
cggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctac
agcaagctcacctgggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgat
gcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcctgtctccgggtaaa

Figura 7

