

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 638 088**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.04.2012 PCT/JP2012/061795**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.11.2012 WO12148003**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2012 E 12722557 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.07.2017 EP 2702412**

54 Título: **Anticuerpo anti-proteína tirosina fosfatasa de tipo receptor humano**

30 Prioridad:

28.04.2011 JP 2011101752

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

18.10.2017

73 Titular/es:

**SBI BIOTECH CO., LTD. (100.0%)
1-6-1, Roppongi
Minato-ku, Tokyo 106-6018, JP**

72 Inventor/es:

**YAMAZAKI, TOMOHIDE;
ZHAO, JING;
ISHIDA, KOJI;
SHIBATA, YASUE;
CHO, MINKWON y
ENDO, MAYUKI**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

Observaciones :

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

ES 2 638 088 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 anti-proteína tirosina fosfatasa de tipo receptor humano5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un anticuerpo que se une a la proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor humano. En adelante, la "proteína tirosina fosfatasa" se abrevia como PTP, la "proteína tirosina fosfatasa de tipo receptor" se abrevia como RPTP o PTPR, la proteína tirosina fosfatasa σ del tipo receptor se abrevia a veces como RPTP- σ , PTP- σ o PTPRS y "humano" y "ratón" son a veces representados por los prefijos h y m, respectivamente.

Técnica anterior

Los interferones (en adelante "interferón" a veces se abrevian como IFN) son las citoquinas más importantes en la respuesta inmunitaria antiviral. Una célula productora de interferón (IPC: IPC es una célula dendrítica linfocítica indiferenciada que está posicionada como célula precursora de una célula dendrítica (DC). La IPC también se denomina a veces célula dendrítica plasmocitóide o célula dendrítica de tipo célula plasmática (célula dendrítica plasmocitóide: pDC). De aquí en adelante, se considera que IPC y pDC tienen el mismo significado en la presente memoria, y se normalizan en lo sucesivo mediante el término pDC como regla general. Una pDC en sangre humana expresa una proteína de complejo mayor de histocompatibilidad de Clase II junto con CD4. Sin embargo, dado que el número de tales células es pequeño y las células rápidamente causan apoptosis y carecen de un marcador de linaje, esas células no han sido aisladas o caracterizadas en detalle hasta ahora. Se demostró que pDC es una célula precursora de células dendríticas de tipo CD4+CD11c-2, y que produce IFN de 200 a 1.000 veces mayor que la producida por otras células sanguíneas después de la estimulación por un microorganismo. Por lo tanto, pDC2 es una célula efectora del sistema inmunitaria decisiva en respuestas inmunitarias antivirales y antitumorales.

El IFN α y el IFN β se conocen como IFN de Tipo I que tienen actividad antiviral o actividad antitumoral. Por otra parte, se aclaró que el IFN α se refiere a enfermedades autoinmunitarias. Por ejemplo, la producción anormal de IFN α se informó en pacientes que padecen las siguientes enfermedades autoinmunitarias. Además, se sugirió la posibilidad de aliviar una enfermedad autoinmunitaria neutralizando el IFN α .

Se informó sobre la artritis reumatoide eritematosa sistémica (Shiozawa et al., *Arthr. & Rheum.* 35, 412, 1992) y crónica (Hopkins et al., *Clin. Exp. Immunol* 73, 88, 1988) y, además, sobre los ejemplos en los que se expresaba o deterioraba un estado de una enfermedad autoinmunitaria mediante la administración de IFN α 2 o IFN recombinantes (Wada et al., *Am. J. Gastroenterol.* 90,136, 1995; Perez et al., *Am. J. Hematol.* 49, 365, 1995; Wilson LE et al., *Semin Arthritis, Rheum.* 32,163-173, 2002).

Además, se aclaró también que el IFN α induce la diferenciación de una célula dendrítica (DC). Dado que una célula dendrítica es también una célula presentadora de antígeno, se considera que la inducción de la diferenciación de una célula dendrítica constituye un mecanismo importante en las enfermedades autoinmunitarias. De hecho, se sugirió que la inducción de la diferenciación de una célula dendrítica de IFN α está íntimamente relacionada con el inicio del eritematoso sistémico (Blanco et al., *Science*, 16: 294, 1540-1543, 2001). Por lo tanto, se ha señalado la actividad antitumoral y la relación íntima con enfermedades autoinmunitarias de IFN α . Además, el IFN α también se relaciona íntimamente con el inicio de la psoriasis (Nestle FO et al., *J. Exp. Med.* 202,135-143, 2005).

Sólo una pequeña cantidad de pDC está presente en la sangre. Se considera que la proporción de pDC en linfocitos de sangre periférica es de 1% o menos. Sin embargo, la pDC tiene una capacidad extremadamente alta de producción de IFN. La capacidad de las pDC para producir IFN alcanza, por ejemplo, 3.000 pg/mL/10⁴ Células. A saber, puede considerarse que, aunque el número de células es pequeño, la mayor parte del IFN α o IFN β en la sangre se produce mientras que la infección vírica es provocada por pDC.

La pDC se diferencia para proporcionar una célula dendrítica por estimulación viral para inducir la producción de IFN- γ e IL-10 por una célula T. Además, la pDC también se diferencia para proporcionar una célula dendrítica por la medio de la estimulación de IL-3. La célula dendrítica diferenciada por la estimulación de IL-3 induce la producción de citoquinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-10) por una célula T. Por lo tanto, la pDC tiene la característica de que se diferencia para proporcionar diferentes células dendríticas dependiendo de la diferencia de estimulación.

Por lo tanto, pDC es una célula que tiene dos aspectos: uno es un aspecto como célula productora de IFN y otro es un aspecto como célula precursora para una célula dendrítica. Ambas células juegan un papel importante en un sistema inmunológico. A saber, la pDC es una de las células importantes que apoyan un sistema inmunológico desde varios aspectos.

Para el control de la actividad de un factor humoral tal como IFN, la administración de un anticuerpo que reconoce el factor es eficaz. Por ejemplo, se puso en práctica un intento de tratar una enfermedad autoinmunitaria mediante un

anticuerpo contra la interleucina (IL)-1 o la IL-4 (Guler et al., *Arthritis Rheum*, 44, S307, 2001). Además, se considera que un anticuerpo neutralizado puede convertirse en un fármaco terapéutico para enfermedades autoinmunitarias también en interferones (IFN) (Stewart, TA. *Cytokine Growth Factor Rev.* 14; 139-154, 2003). Se puede esperar que un enfoque similar sea eficaz para los IFN producidos por pDC. Sin embargo, este enfoque se basa en la inhibición de la acción del factor humoral producido. Si la producción de un factor humoral objetivo puede ser controlada directamente, se puede lograr un efecto terapéutico más esencial.

Se informó sobre un anticuerpo que reconoce pDC humana. Por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-BDCA-2 es un anticuerpo monoclonal que es específico de pDC humana (Dzionic A. et al., *J. Immunol* 165: 6037-6046, 2000). Se aclaró que el anticuerpo monoclonal anti-BDCA-2 tiene una acción de supresión de la producción de IFN de pDC humana (*J. Exp. Medicina.* 194:1823-1834, 2001). Además, se informó también de que un anticuerpo monoclonal que reconoce una célula productora de interferón de ratón suprime la producción de interferones (*Blood* 1 de jun. de 2004; 103/11: 4201-4206. Epub dic. 2003). Se informó de que un anticuerpo monoclonal contra pDC de ratón disminuyó el número de células dendríticas (*J. Immunol.* 2003,171: 6466-6477).

Esto es útil si se proporciona un anticuerpo que reconoce de forma similar la pDC humana y puede controlar su actividad. Por ejemplo, los autores de la presente invención ya han aclarado que un anticuerpo que reconoce Ly49Q se une específicamente a pDC de ratón. Sin embargo, un anticuerpo contra Ly49Q no interfirió la actividad de pDC de ratón (*Blood*, 1 de abril de 2005, vol. 105, Núm. 7, págs. 2787-2792: documento WO2004/13325A1).

Las fosfatasa proteicas son enzimas desfosforilantes que se encontraron en los estudios del metabolismo del glucógeno. Además de la proteína tirosina fosfatasa (PTP), se han encontrado proteína serina/treonina fosfatasa, fosfatasa específica de fosfolípidos y similares, y éstas forman una superfamilia de proteínas fosfatasa. De éstas, la proteína tirosina fosfatasa es una enzima que es responsable de la desfosforilación entre las modificaciones de fosforilación reversibles que se observan en los residuos de tirosina de las proteínas. Por otra parte, la proteína tirosina quinasa (PTK) se ilustra como una enzima que es responsable de la fosforilación entre las modificaciones de fosforilación reversibles que se observan en los residuos de tirosina de las proteínas.

La proteína tirosina fosfatasa (PTP) convierte la información de unión de un ligando de un dominio extracelular del mismo en actividad fosfatasa de un dominio intracelular, y se considera que la proteína tirosina quinasa (PTK) es activada por la unión de un ligando, mientras que la proteína tirosina fosfatasa (PTP) es generalmente inactivada por la unión de un ligando. Por lo tanto, tanto en la proteína tirosina fosfatasa (PTP) como en la proteína tirosina quinasa (PTK), la estimulación de un ligando conduce a un aumento en el nivel de fosforilación, mientras que se espera una gran diferencia en las propiedades de la señal. En el caso de la proteína tirosina quinasa (PTK), el control de retroalimentación positiva en el que los receptores son fosforilados entre sí y activados, y la activación tónica de las moléculas de proteína tirosina quinasa (PTK) se transmite a otras moléculas de proteína tirosina quinasa (PTK) en una membrana celular, con lo que se aumenta la fosforilación en un amplio intervalo. Por otra parte, sólo las moléculas a las que se han unido los ligandos se inactivan en la proteína tirosina fosfatasa (PTP), y la fosforilación del sustrato se incrementa sólo tópicamente. La proteína tirosina fosfatasa (PTP) que participa en muchas funciones fisiológicas y funciones celulares recibe mucha atención en amplias áreas de la neurobioquímica del cerebro, la inmunología, los cánceres, la diabetes mellitus y similares (copia de la página de inicio de la División de Neurobiología Molecular, Instituto Nacional de Biología Básica, <http://niwww3.nibb.ac.jp/RPTP.pdf>).

La familia de las proteínas tirosina fosfatasa puede clasificarse en un tipo receptor que tiene una región que penetra la membrana celular y un tipo no receptor. Existen 21 moléculas de tirosina fosfatasa de tipo receptor (también abreviadas como RPTP o PTPR) en mamíferos, que se clasifican en ocho subfamilias y cada subfamilia tiene una estructura extracelular inherente en la que se observan un dominio de tipo inmunoglobulina, un dominio de tipo fibronectina tipo III, un dominio de tipo carbonato deshidratasa, un dominio MAM y similares (*Nat Rev Mol Cell Biol.*, Vol. 7, 833-846, 2006).

La proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor humano (abreviada como hRPTP- σ , hPTP- σ o hPTPRS y la abreviatura hPTPRS que se utiliza principalmente en la presente memoria) pertenece a una subfamilia R2A junto con LAR (proteína tirosina fosfatasa relacionada con el antígeno leucocitario) y la proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor (PTP- σ). Las enzimas de la familia de PTPR se expresan en diversos tejidos incluyendo sistemas nerviosos desde el comienzo de la generación hasta después de la maduración de los animales, pero se han aclarado pocas funciones de las mismas ya que la identificación de moléculas de ligando y moléculas de sustrato no es fácil.

Las células dendríticas (DC) son las principales células presentadoras de antígeno en un organismo vivo, que están presentes en la sangre, tejidos linfoides y similares y se clasifican grosso modo en células dendríticas mieloides (mDC) y células dendríticas plasmocitoides (pDC). Las pDC expresan selectivamente TLR7 y TLR9 como receptores de tipo Toll en las superficies celulares de las mismas y producen interferones α y β de tipo I, específicamente interferón α .

Los estudios recientes han aclarado varias moléculas de ligando que actúan sobre células dendríticas controlando su maduración y activación, y se han aclarado los mecanismos de transmisión de señales intracelulares a partir de sus receptores. Sin embargo, hay muchos puntos poco claros sobre los mecanismos de modificación y control de las funciones de las células dendríticas. De manera similar a la clarificación en muchas otras células, se considera que la fosforilación de proteínas juega un papel importante también en células dendríticas para el control de la transmisión de señales a partir de receptores, movimiento/migración de células y similares.

Las proteínas fosfatasa que son factores de control negativo para la fosforilación de proteínas son candidatos dominantes como factores para mantener intensidades y longitudes adecuadas de señales para modular la activación y las funciones de las células dendríticas. (Nobuhiro Tanuma (Instituto de Medicina Genética, Universidad de Hokkaido), "Functional Analysis Of Tyrosine Phosphatase Induced in Maturing of Dendritic Cells" en la página de inicio del Centro de Avance del Norte para Ciencia y Tecnología (abreviatura: NOASTEC), http://www.noastec.jp/kinouindex/data2005/pdf/01/01_20.pdf).

La Publicación Internacional Núm. WO95/9656A1 describe RPTP- σ (PTPRS) y un ácido nucleico que la codifica; sin embargo, la secuencia de aminoácidos descrita es una derivada de rata, y la publicación no hace mención de un anticuerpo específico de PTPRS. La Publicación Internacional Núm. WO95/9656A1 tampoco describe nada a cerca de un anticuerpo anti-PTPRS humano.

La Publicación Internacional Núm. WO2007/41317A1 se refiere a un anticuerpo aislado que se une específicamente a al menos RPTP- σ o RPTP- δ para suprimir la respuesta inmunitaria de una célula inmunitaria, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. El documento describe que la unión del polipéptido de poxvirus A41 L y RPTP se inhibe competitivamente utilizando un anticuerpo que se une específicamente a RPTP, consiguiendo de este modo la supresión de la respuesta inmunitaria de una célula inmunitaria. Sin embargo, este documento no describe que se obtuvo realmente el anticuerpo que se une específicamente a RPTP- σ (PTPRS), y en lo que se refiere a la descripción de los Ejemplos, los Ejemplos simplemente confirmaron que la RPTP expresada en una célula inmunitaria que se une a A41L es una parte de RPTP- σ , RPTP- δ y LAR que pertenecen al mismo subtipo R2A y preparó una proteína de fusión del dominio de tipo inmunoglobulina de LAR y Fc (proteína de fusión LAR (dominio de Ig)-Fc). Es difícil decir que la Publicación Internacional Núm. WO2007/41317A1 describe un anticuerpo específico únicamente para RPTP- σ y su preparación.

El documento WO2010256332 Informa del uso de un anticuerpo comercialmente disponible contra PTPRS humano denominado 1H6 para su inmunodetección.

Lista de referencias

Literatura de Patentes

PTL 1: WO2004/13325A1

PTL 2: WO95/9656A1

PTL 3: WO2007/41317A1

Literatura no relacionada con Patentes

NPL 1: Shiozawa et al., Arthr. & Rheum. 35, 412, 1992

NPL 2: Hopkins et al., Clin. Exp. Immunol. 73, 88, 1988

NPL 3: Wada et al., Am. J. Gastroenterol. 90, 136, 1995

NPL 4: Pérez et al., Am. J. Hematol. 49, 365, 1995

NPL 5: Wilson LE y col., Semin Arthritis. Reuma. 32,163-173, 2002

NPL 6: Blanco et al., Science, 16: 294, 1540-1543, 2001

NPL 7: Nestle FO et al., J. Exp. Med. 202, 135-143, 2005

NPL 8: Guler et al., Arthritis Rheum., 44. S307, 2001

NPL 9: Stewart, TA. Cytokine Growth Factor Rev. 14;139-154, 2003

NPL 10: Dzionek, A. et al. J. Immunol. 165: 6037-6046, 2000

NPL 11: J. Exp. Med. 1, 94: 1823-1834, 2001

NPL 12: Blood 2004 Jun 1; 103/11: 4201 - 4206. Epub dic. 2003

NPL 13: J. Immunol. 2003, 171: 6466 - 6477

NPL 14: Blood, 1 de abril de 2005, vol. 105, Núm. 7, págs. 2787-2792

NPL 15: <http://niwww3.nibb.ac.jp/RPTP.pdf>

NPL 16: Nat Rev Mol Cell Biol., Vol. 7,833-846, 2006

NPL 17: http://www.noastec.jp/kinouindex/data2005/pdf/01/01_20.pdf

Compendio de la invención

Problema técnico

El objeto de la presente invención es proporcionar un anticuerpo que se une a la proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor humano (PTPRS humana, hRPTP- σ), y detectar, identificar o aislar pDC. Además, el objeto de la presente invención es modular la actividad de pDC.

Los autores de la presente invención confirmaron a través de los estudios relativos a pDC humanas que la expresión de PTPRS en pDC se refuerza específicamente. Por lo tanto, los autores de la presente invención intentaron preparar un anticuerpo de PTPRS y aclarar su acción.

Con el fin de obtener un anticuerpo que reconozca una cantidad traza de una proteína derivada de un organismo, se utiliza generalmente una proteína preparada mediante una tecnología de recombinación génica como inmunógeno. Los autores de la presente invención han intentado expresar PTPRS humana basándose en la secuencia de bases de ADNc de PTPRS humana, que ya se ha aclarado, y por ende la información sobre la secuencia de aminoácidos codificada (Núm. de Acceso de GenBank NM_002856.3).

Con el fin de obtener un anticuerpo de una proteína, a menudo se intenta utilizar una secuencia parcial de aminoácidos de una proteína natural como inmunógeno. Sin embargo, para que un anticuerpo reconozca una molécula sobre una superficie celular, se debe seleccionar una región que constituye una parte que es reconocida por un anticuerpo como epítipo sobre una superficie celular. Por lo tanto, se consideró que la obtención de un anticuerpo que es específico de PTPRS humana utilizando una secuencia de aminoácidos fragmento como inmunógeno se encuentra distante.

Solución al problema

Bajo tal situación, los autores de la presente invención han aclarado que se puede obtener un anticuerpo que se une a pDC utilizando un inmunógeno especial. Además, también han confirmado que el anticuerpo así obtenido reconoce específicamente pDC humana y tiene una acción de modulación de su actividad y completaron la presente invención.

Por lo tanto, la presente invención se refiere al siguiente anticuerpo anti-PTPRS humano, al método para su producción, y a sus aplicaciones.

La presente invención se indica a continuación.

1. Un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo que se une a un dominio extracelular de la proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor humano (PTPRS humana) sobre una célula dendrítica plasmocitóide y suprime la producción de IFN por, y/o la supervivencia de, la célula.

2. El anticuerpo monoclonal o un fragmento de acuerdo con el apartado (1) anteriormente mencionado, en donde dicho anticuerpo es producido por el hibridoma 9H5-4 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11356, hibridoma 10F7-38 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11357, hibridoma 13G5-52 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11358, hibridoma 13G5-57 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11359, hibridoma 14A8-85 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11360, hibridoma 22H8-84 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11361, hibridoma 49F2-30 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11362 o hibridoma 55E7-79 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11363.

(3) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con el apartado (2) anteriormente mencionado, en donde dicho anticuerpo es producido por el hibridoma 55E7-79 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11363.

(4) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con el apartado (1) anteriormente mencionado, que se produce por recombinación genética a partir del anticuerpo producido por el hibridoma de acuerdo con los apartados (2) o (3) anteriormente mencionados.

(5) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con el apartado (4) anteriormente mencionado, que es humanizado.

(6) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con los apartados (4) o (5) anteriormente mencionados, que se produce por ingeniería genética utilizando un polinucleótido que codifica el anticuerpo.

(7) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con el apartado (1) anteriormente mencionado que comprende:

(A) una CDR1 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 45, una CDR2 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 46, una CDR3 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 47, una CDR1 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: ID NO: 50, una CDR2 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 51, y una CDR3 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 52;

(B) una CDR1 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 55, una CDR2 de cadena pesada expuesta

en el SEQ ID NO: 56, una CDR3 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 57, una CDR1 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: ID NO: 60, una CDR2 de cadena ligera presentada en el SEQ ID NO: 61, y una CDR3 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 62;

5 (C) una CDR1 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 65, una CDR2 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 66, una CDR3 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 67, una CDR1 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: ID NO: 70, una CDR2 de cadena ligera presentada en el SEQ ID NO: 71, y una CDR3 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 72;

10 (D) una CDR1 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 27, una CDR2 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 28, una CDR3 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 29, una CDR1 de cadena ligera expuesta en la SEC ID NO: 32, una CDR2 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 33, y una CDR3 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 34;

(E) una región variable de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 44 y una región variable de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 49;

15 (F) una región variable de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 54 y una región variable de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 59;

(G) una región variable de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 64 y una región variable de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 69; o

20 (H) una región variable de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 26 y una región variable de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 31.

(8) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con el apartado (1) anteriormente mencionado, que está quimerizado.

(9) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con el apartado (8) anteriormente mencionado que comprende:

25 (A) una cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 92 y una cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 94;

(B) una cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 96 y una cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 98;

30 (C) una cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 100 y una cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 102; o

(D) una cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 36 y una cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 38.

(10) Un hibridoma que produce el anticuerpo monoclonal de acuerdo con el apartado (1) anteriormente mencionado.

35 (11) Un método para la producción de una célula que produce un anticuerpo monoclonal de acuerdo con el apartado (1) anteriormente mencionado que comprende:

40 1) administrar una célula que expresa una proteína exógena que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana a un animal para inmunizar al animal con la célula y

2) seleccionar una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo de acuerdo con el apartado (1) anteriormente mencionado del animal inmunizado.

(12) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con el apartado (1) mencionado anteriormente, en donde dicho anticuerpo se puede obtener mediante las siguientes etapas:

45 1) administrar a un animal una célula que expresa exógenamente una proteína que incluye un dominio extracelular de PTPRS humano para inmunizar al animal con la célula;

2) seleccionar una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une a PTPRS humana a partir de la célula productora de anticuerpos del animal inmunizado; y

50 3) cultivar la célula productora de anticuerpos seleccionada en el apartado (2), y recoger del cultivo un anticuerpo que reconoce la PTPRS humana, se une a una célula dendrítica plasmocitóide y suprime la actividad de la célula dendrítica plasmocitóide;

en donde la actividad de la célula dendrítica plasmocitoide es la producción de IFN y/o la supervivencia celular.

55 (13) El uso de un inmunógeno para la producción del anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende una célula animal que retiene exógenamente y expresablemente un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana o una fracción de membrana celular de la misma.

60 (14) El uso de acuerdo con el apartado (13), anteriormente mencionado en donde la célula animal es una célula derivada de ratón.

(15) Un método para la detección de una célula dendrítica plasmocitóide, que comprende poner en contacto un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana con una célula sujeto y detectar dicho anticuerpo monoclonal o fragmento que se ha unido a la célula.

(16) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con cualquiera de los apartados (1) a (9) y (12) anteriormente mencionados para su uso en la detección de una célula dendrítica plasmocitóide.

(17) Un método *ex vivo* para suprimir la actividad de una célula dendrítica plasmocitóide, que comprende poner en contacto el anticuerpo monoclonal o un fragmento de acuerdo con cualquiera de los apartados (1) a (9) y (12) anteriormente mencionados con la célula dendrítica plasmocitóide, en donde dicha actividad de la célula dendrítica plasmocitoides es la producción de IFN y/o la supervivencia celular.

(18) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con cualquiera de los apartados (1) a (9) y (12) anteriormente mencionados para su uso en el tratamiento del organismo humano o animal mediante terapia.

(19) El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con cualquiera de los apartados (1) a (9) y (12) anteriormente mencionados para uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria en el que se mejora la expresión de IFN α .

Efectos ventajosos de la invención

La presente invención proporciona un anticuerpo que reconoce específicamente PTPRS humana, el uso de un inmunógeno para la producción del anticuerpo y un método para la producción de una célula que produce el anticuerpo anti-PTPRS humana. La PTPRS humana es una proteína de membrana que pertenece a la familia RPTP. Los autores de la presente invención aclararon que se puede obtener fácilmente un anticuerpo que reconoce específicamente la PTPRS humana. El anticuerpo anti-PTPRS humana que puede obtenerse mediante la presente invención es un anticuerpo que tiene alta especificidad, que distingue pDC humana de células que expresan otras familias de RPTP.

El anticuerpo anti-PTPRS humana proporcionado por la presente invención se une a un dominio extracelular de PTPRS humana en una pDC. Además, el anticuerpo de la presente invención reconoce específicamente pDC humana. Por lo tanto, es útil para la detección y aislamiento de pDC. La pDC es una célula que produce la mayor parte del IFN de Tipo 1. Por lo tanto, su detección y aislamiento son importantes en los diagnósticos y estudios de enfermedades en las que está implicada la pDC tales como las enfermedades autoinmunitarias.

Además, el anticuerpo anti-PTPRS humana proporcionado por la presente invención tiene una acción para modular la actividad de pDC humana. Por lo tanto, el anticuerpo anti-PTPRS humana de la presente invención puede utilizarse para suprimir la actividad de pDC. Por lo tanto, si se utiliza la supresión de la actividad de pDC que utiliza el anticuerpo de la presente invención, puede esperarse un efecto terapéutico incluso en un paciente con una enfermedad autoinmunitaria en la que se ha mejorado la expresión de IFN α .

La pDC produce una gran cantidad de IFN con células pequeñas. Para la neutralización de IFN, es necesario un anticuerpo correspondiente al número molecular de IFN. Sin embargo, en la presente invención, la actividad de la célula producida se suprime directamente. Como resultado, se puede esperar un efecto de supresión de IFN más fuerte con una menor cantidad de anticuerpo en comparación con la neutralización por un anticuerpo anti-IFN. Además, en el caso en que se produce persistentemente IFN, se espera que la neutralización del IFN por un anticuerpo se suprima sólo transitoriamente, mientras que se suprime la actividad de pDC y por lo tanto se puede esperar un efecto de supresión de la producción de IFN a largo plazo en la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es la secuencia de aminoácidos de PTPRS (SEQ ID NO: 1). La PTPRS es una proteína de membrana de dominio transmembranal único que tiene un dominio de tipo inmunoglobulina (dominio de tipo Ig) y un dominio de tipo a la fibronectina Tipo III en la región extracelular. Además, tiene dos regiones de proteína tirosina fosfatasa (dominios PTP) en la región intracelular;

La FIG. 2 es un gráfico que muestra los niveles de expresión relativos de PTPRS en diversas células inmunitarias. Se demostró que PTPRS se expresa de una manera específica de pDC;

La FIG. 3 es un gráfico que muestra la comparación de la expresión del gen PTPRS entre tejidos. El ARNm de PTPRS muestra una expresión relativamente alta en el bazo y el ovario, y también se expresa ampliamente en otros tejidos;

La FIG. 4 muestra la selección de la célula que expresa PTPRS humana (hPTPRS) mediante clasificación FACS;

La FIG. 5 muestra el escrutinio mediante FACS de hibridomas utilizando células hPTPRS/D2SC/1 inmunizadas. Se obtuvieron trece hibridomas que producen un anticuerpo anti-hPTPRS;

La FIG. 6 muestra el escrutinio mediante FACS utilizando células CAL-1;

La FIG. 7 muestra el escrutinio mediante FACS utilizando pDC de sangre periférica humana;

La FIG. 8 es un gráfico que muestra la homología de hPTPRS con otras PTPR. PTPRS pertenece a la familia PTPR, de la cual las secuencias de aminoácidos de varias moléculas familiares tienen una alta homología contra la secuencia de aminoácidos de PTPRS;

La FIG. 9 es el resultado del ensayo que muestra si los diez tipos de sobrenadantes de cultivo de células de hibridoma (2G6, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 14A8, 55E7, 13G5) que reconocen PTPRS y producen un

anticuerpo que se une específicamente a pDC humanas se unen específicamente sólo a PTPRS (hPTPRE no se expresa en la superficie celular). Como resultado de ello, 2G6 mostró reactividad cruzada con PTPRF (Figura 9, D), y 4B2 mostró reactividad cruzada con PTPRD (Figura 9, C). Otros 9 tipos de anticuerpos mostraron unión específica de PTPRS (Figura 9, A a D);

La FIG. 10 es el resultado del ensayo de reactividad cruzada del anticuerpo anti-PTPRS con un mono. Todos los sobrenadantes del cultivo celular de hibridoma se unen específicamente al grupo de células pDC (Linaje CD 123+ HLA-DR+) de un mono cynomolgus;

La FIG. 11 muestra la clasificación individualizada de los hibridomas. La clasificación de células individuales se realizó utilizando FACS Aria (BD), y la célula D2SC/1 y la célula hPTPRS/D2SC/1 (A y B), la célula CAL-1 (C) y pDC humana (D) se tiñeron utilizando los sobrenadantes de cultivo celulares de los hibridomas, y se seleccionaron hibridomas individuales;

La FIG. 12 muestra las concentraciones de la endotoxina en los anticuerpos purificados obtenidos a partir de los sobrenadantes de cultivo de los hibridomas. Todas las concentraciones tuvieron el valor patrón de 0,3 Eu/mg de Ab o menos;

La FIG. 13 es el resultado de ensayo de las capacidades de los anticuerpos purificados para unirse a PTPRS humana sobre la superficie celular. Se pudo confirmar que todos los anticuerpos mantenían su capacidad de unión;

La FIG. 14 muestra la unión específica de los anticuerpos purificados a los grupos de células pDC (BDCA2+) de sangre periférica humana;

La FIG. 15 es el resultado de someter a ensayo si los anticuerpos anti-PTPRS humana se unen o no a PTPRS de ratón. 49F2-30, 13G5-52, 13G5-57 y 22H8-84 se unieron a mPTPRS/CHO;

La FIG. 16 muestra las actividades citotóxicas dependientes del complemento de los anticuerpos anti-PTPRS frente a una célula que expresa hPTPRS. Se midieron las actividades citotóxicas dependientes del complemento de los anticuerpos anti-PTPRS contra PTPRS/CHO humano (Figura 16A) y PTPRS/CHO de ratón (Figura 16B). Como resultado, 13G5-52 y 13G5-57 mostraron aproximadamente 20% de la actividad de CDC frente a la diana de PTPRS/CHO humano (A), mientras que 13G5-52 y 13G5-57 mostraron aproximadamente 100% de la actividad de CDC frente a la diana de ratón PTPRS/CHO (B);

La FIG. 17 muestra que ch49F2-30 (Figura 17A), ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84 (Figura 17B) de un anticuerpo quimérico anti-hPTPRS dañan la célula hPTPRS/CHO diana de una forma dependiente del número de células efectoras; y

La FIG. 18 muestra que la producción de IFN α es completamente inhibida por el tratamiento del anticuerpo quimérico anti-PTPRS con ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84 (Figura 18A), y se aclaró que la población de pDC estaba disminuida más que en el tratamiento con Synagis del anticuerpo de control (Figura 18B y Figura 18C).

Descripción de las realizaciones

La PTPRS humana es una molécula cuya expresión específica se observa en una célula dendrítica de tipo célula plasmática pDC. Sin embargo, todavía no se ha establecido ningún método para la producción de un anticuerpo que reconozca la PTPRS humana.

Se conocen cuatro isoformas de PTPRS humana, que incluyen la isoforma 1 que consiste en 1.948 residuos de aminoácido, la isoforma 2 que consiste en 1.910 residuos de aminoácido, la isoforma 3 que consiste en 1.501 residuos de aminoácidos y la isoforma 4 que consiste en 1.505 residuos de aminoácidos. En sus estructuras, se observan tres dominios de tipo inmunoglobulina (primer dominio Ig, segundo dominio Ig y tercer dominio Ig), un dominio de tipo fibronectina Tipo III, un dominio transmembrana (dominio transmembrana, región TM) como estructuras extracelulares y dos dominios fosfatasa (Dominios D1 y D2) como estructuras intracelulares. Sólo el dominio D1 que está cerca de la membrana celular tiene actividad de proteína tirosina fosfatasa (PTP). En la Fig. 1, los péptidos señal y los dominios típicos están marcados en la secuencia de aminoácidos.

La isoforma 3 de la PTPRS humana es una proteína que penetra la membrana que incluye de 831 a 851 del SEQ ID NO: 1 (Figura 1) como dominio transmembrana. De los 1.501 residuos de aminoácidos que incluyen el extremo N terminal, 29 residuos de aminoácidos (1 a 29 en el SEQ ID NO: 1) constituyen una secuencia señal y 30 a 830 constituyen un dominio extracelular. Por otra parte, el lado C-terminal es un dominio intracelular. Se considera que los ligandos en el entorno extracelular controlan la actividad en PTPRS.

Los autores de la presente invención han confirmado mediante un análisis de expresión génica que la PTPRS humana se expresa específicamente en pDC humana. Consideraron que, si se puede obtener un anticuerpo que pueda distinguir la PTPRS humana de otras moléculas, esto sería útil para los estudios de pDC. Sin embargo, hay muchas moléculas que tienen estructuras similares en la familia PTP incluyendo PTPRS humana. Las moléculas tales como PTPRS que son RPTP- σ y PTPRA (RPTP- α), PTPRD (RPTP- δ), PTPRE (RPTP- ϵ), PTPRF (RPTP- ζ) incluyen específicamente una secuencia de aminoácidos que tiene alta homología (Figura 8). Por lo tanto, consideraron que sería difícil obtener un anticuerpo que pudiera diferenciar estas moléculas entre sí utilizando un péptido de dominio utilizando la secuencia parcial de una secuencia de aminoácidos que constituye un dominio

extracelular como inmunógeno. Por lo tanto, los autores de la presente invención intentaron obtener un anticuerpo contra la PTPRS humana utilizando una célula que expresa la PTPRS humana como inmunógeno.

5 Los autores de la presente invención han realizado estudios intensivos para obtener un anticuerpo que reconoce la PTPRS humana y aclararon que el anticuerpo objetivo se puede obtener utilizando una célula transformadora específica como inmunógeno y completando la presente invención. A saber, la presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana, o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo.

10 En la presente invención, la PTPRS humana puede definirse como una molécula natural que se expresa en pDC humana, o una molécula que es inmunológicamente equivalente a PTPRS humana que se expresa en pDC humana. En la presente invención, se puede confirmar que el anticuerpo se une a PTPRS humana, por ejemplo, como sigue.

- Confirmación basada en la reactividad con células humanas:

15 De acuerdo con el hallazgo obtenido por los autores de la presente invención, se considera que la PTPRS humana puede utilizarse como un marcador para pDC puesto que se observa la expresión específica de pDC humana.

20 Basándose en dicho perfil de expresión de la PTPRS humana, en primer lugar, la actividad de pDC de unirse a al menos una parte del subconjunto es una de las características importantes del anticuerpo que se une a la PTPRS humana en la presente invención. Que una cierta célula es pDC se puede confirmar mediante un marcador de superficie celular que es inherente a cada grupo celular. Por ejemplo, la unión a la célula objetivo se confirma por tinción doble con un anticuerpo que se une a un marcador de superficie celular y un anticuerpo cuya actividad de unión ha de ser confirmada. A saber, la pDC en la presente invención incluye, por ejemplo, una célula que expresa BDCA2.

- Confirmación basada en la reactividad con la célula transformadora que expresa el gen de PTPRS humana:

30 Los autores de la presente invención han confirmado que, cuando se expresa un gen de PTPRS humana en una afección específica, se reconstituyen las características inmunológicas de la PTPRS humana expresada en la pDC humana. Por lo tanto, la reactividad con PTPRS humana se puede confirmar basándose en la reactividad de un anticuerpo contra una célula en la que se ha introducido artificialmente un gen que codifica la PTPRS humana. A saber, la presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal que se une a una molécula que incluye una secuencia de aminoácidos que constituye un dominio extracelular de PTPRS humana como dominio extracelular, o un fragmento que incluye una de sus regiones de unión a antígeno. Mientras tanto, el dominio extracelular está constituido por la secuencia de aminoácidos correspondiente a 30 a 830 en el SEQ ID NO: 1 (Figura 1) a partir del extremo N terminal de la secuencia de aminoácidos mostrada en el SEQ ID NO: 1.

40 Por ejemplo, en una célula que se ha transformado con un vector de expresión que incluye un ADN que codifica la PTPRS humana, se mantienen las características inmunológicas de PTPRS que se expresan en pDC humana. Por lo tanto, es preferible una célula transformante que expresa PTPRS humana como célula para confirmar la propiedad de unión del anticuerpo frente a un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención. Cuando la reactividad del anticuerpo se confirma mediante una célula transformante en la presente invención, es deseable utilizar una célula que no se ha transformado como control.

45 A continuación, el anticuerpo que se une a la PTPRS humana en la presente invención puede ser un anticuerpo cuya reactividad cruzada con un grupo de células que se sabe que expresa la familia PTP distinta de la PTPRS humana se observa o no se observa. El anticuerpo cuya reactividad cruzada no se observa es preferible como anticuerpo que se une a la PTPRS humana en la presente invención. Específicamente, un anticuerpo cuya unión con un grupo de células que se sabe que expresa una familia de PTP distinta de PTPRS humana en la misma condición que la condición bajo la cual se ha confirmado la unión a pDC es preferible como anticuerpo que se une a PTPRS humana en la presente invención .

50 A saber, un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención incluye preferiblemente un anticuerpo monoclonal que tiene las siguientes características inmunológicas.

a) se une a pDC humana,

60 b) bajo la condición en la que se une a la pDC humana, su unión a una clase o clases múltiples seleccionadas del grupo que consiste en un monocito, un macrófago, una célula B y una célula CD34 positiva, y las células dendríticas derivadas de estas células, no puede confirmarse.

Específicamente, es preferible como anticuerpo monoclonal de la presente invención un anticuerpo cuya unión a una clase o clases múltiples seleccionadas del grupo que consiste en un monocito, un macrófago, una célula B y una célula CD34 positiva, y células dendríticas derivadas de estas células no puede ser confirmada bajo la condición en

la que el anticuerpo se une a pDC humana.

Alternativamente, el anticuerpo monoclonal que se une al dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención incluye preferiblemente un anticuerpo monoclonal que tiene las siguientes características inmunológicas.

- c) se une a una célula transformante que se ha transformado con un vector de expresión que conserva expresamente un ADN que codifica PTPRS humana,
- d) bajo la condición de unión a la célula transformada en c), la unión a una célula que retiene antes de la transformación en c) no puede ser confirmada.

En la presente invención, que el anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humana no reacciona de forma cruzada con otras moléculas en la familia PTP puede confirmarse utilizando una célula en la que cada familia PTP ha sido expresada de manera forzada. Es decir, un ADNc que codifica una secuencia de aminoácidos de cada familia PTP se expresa de manera forzada introduciéndolo en una célula anfitriona adecuada. Un anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humana cuya reactividad cruzada ha de ser confirmada se pone en contacto con la célula transformante obtenida. A continuación, si no se observa la unión a una célula que expresa otra molécula de la familia PTP distinta de la PTPRS humana, puede confirmarse que el anticuerpo puede distinguir inmunológicamente la PTPRS humana de otra molécula de la familia PTP. Por ejemplo, en los Ejemplos mencionados a continuación, se confirmó que la mayoría de los anticuerpos monoclonales anti-PTPRS humanas obtenidos por la presente invención no reaccionaban de forma cruzada con PTPRA, PTPRD y PTPRF que tenían específicamente alta homología con PTPRS. Por lo tanto, un anticuerpo monoclonal que se une a PTPRS humana y cuya unión a PTPRA, PTPRD y PTPRF en las mismas condiciones no se detecta es un anticuerpo monoclonal preferible en la presente invención. Si se utiliza un anticuerpo que puede distinguir inmunológicamente estas moléculas de PTP de PTPRS, el cambio en la expresión de PTPRS se puede detectar específicamente. Además, se demostró que, entre las moléculas que tienen alta homología con PTPRS, la expresión de PTPRE puede confirmarse en una célula pero PTPRE no se expresa fuera de la célula. Por lo tanto, no se une a PTPRE como anticuerpo.

La unión entre un anticuerpo monoclonal cuya actividad de unión ha de ser confirmada y varias células puede confirmarse, por ejemplo, mediante el principio de citometría de flujo. Con el fin de confirmar la reactividad del anticuerpo mediante el principio de citometría de flujo, es ventajoso marcar el anticuerpo de antemano con una molécula o grupo atómico que genera una señal detectable. Generalmente, se utiliza una marca de fluorescencia o una marca de emisión de luz. Con el fin de analizar la unión entre un anticuerpo marcado con fluorescencia y una célula mediante el principio de citometría de flujo, se puede utilizar un clasificador de células activado por fluorescencia (FACS). Utilizando el FACS, la unión entre múltiples anticuerpos y células se puede confirmar eficazmente.

Específicamente, por ejemplo, un anticuerpo A que se ha clarificado de antemano para poder identificar pDC, y un anticuerpo B cuya propiedad para unirse a pDC se va a analizar se hacen reaccionar simultáneamente con un grupo de células que incluye pDC. El anticuerpo A y el anticuerpo B están marcados con señales de fluorescencia que pueden distinguirse entre sí de antemano. Si se detectan las dos señales en el mismo grupo celular, se puede confirmar que dichos anticuerpos se unen al mismo grupo celular. A saber, se puede encontrar que el anticuerpo A y el anticuerpo B tienen la misma propiedad de unión. Si se unen a diferentes grupos de células, es evidente que sus propiedades de unión son diferentes.

Ejemplos del anticuerpo monoclonal preferible en la presente invención pueden incluir un anticuerpo monoclonal producido por los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84, 49F2-30 o 55E7-79.

Los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84, 49F2-30 y 55E7-79 se depositaron como Números de acceso FERM BP-11356, FERM BP-11357, FERM BP-11358, FERM BP-11359, FERM BP-11360, FERM BP-11361, FERM BP-11362 y FERM BP-11363 respectivamente, en el International Patent Organism Depository (IPOD), National Institute of Technology and Evaluation el 1 de abril de 2011. A continuación se describirá el contenido para especificar el depósito.

- (a) Nombre de la organización depositaria: International Patent Organism Depository (IPOD), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology
Dirección: Tsukuba Central 6. 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8566, Japón
- (b) Fecha de la deposición: 1 de abril de 2011
- (c) Núm. de acceso FERM BP-11356 (hibridoma 9H5-4)
- (c) Núm. de acceso FERM: BP-11357 (hibridoma 10F7-38)
- (c) Núm. de acceso FERM BP-11358 (hibridoma 13G5-52)
- (c) Núm. de acceso FERM BP-11359 (hibridoma 13G5-57)
- (c) Núm. de Acceso FERM BP-11360 (hibridoma 14A8-85)
- (c) Núm. de Acceso FERM BP-11361 (hibridoma 22H8-84)
- (c) Núm. de acceso FERM BP-11362 (hibridoma 49F2-30)

(c) Núm. de acceso FERM BP-11363 (hibridoma 55E7-79)

El anticuerpo monoclonal de la presente invención puede ser un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, también se puede utilizar como anticuerpo en la presente invención un fragmento de anticuerpo que incluye un sitio de unión a antígeno que se genera por digestión enzimática de IgG. Específicamente, se puede obtener un fragmento de anticuerpo tal como Fab o F(ab')₂ por digestión con papaína o pepsina. Es bien conocido que estos fragmentos de anticuerpo pueden utilizarse como moléculas de anticuerpo que tienen afinidad de unión por un antígeno. Alternativamente, mientras se mantenga la actividad de unión al antígeno necesaria, también se puede utilizar un anticuerpo construido por el gen recombinante. Algunos ejemplos del anticuerpo construido mediante recombinación génica pueden incluir anticuerpos quiméricos, anticuerpos con CDR transplantada, Fv de cadena sencilla, diacuerpos, anticuerpos lineales y anticuerpos multiespecíficos que se forman a partir de fragmentos de anticuerpo. Se conocen métodos para obtener estos anticuerpos basados en anticuerpos monoclonales o células productoras de anticuerpos que producen los anticuerpos monoclonales.

El anticuerpo monoclonal de la presente invención puede obtenerse utilizando una célula transformante específica como inmunógeno. A saber, la presente invención se refiere a un método para la producción de una célula que produce un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana sobre una célula dendrítica plasmocitóide y suprime la producción de IFN por, y/o la supervivencia de, la célula cuyo método comprende:

- (1) administrar una célula que expresa una proteína exógena que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana a un animal para inmunizar al animal con la célula y
- (2) seleccionar una célula productora de anticuerpos que produce el anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana sobre una célula dendrítica plasmocitóide y suprime la producción de IFN por, y/o la supervivencia de, la célula del animal inmunizado.

Mediante el cultivo de la célula productora de anticuerpos así obtenida o de la célula productora de anticuerpos que ha sido inmortalizada, el anticuerpo monoclonal objetivo puede recogerse del cultivo. Se conocen varios métodos para el método para inmortalizar la célula productora de anticuerpos.

La célula transformante que se usa como inmunógeno en la presente invención se puede obtener, por ejemplo, preparando la siguiente célula que conserva de manera expresable un polinucleótido exógeno (a) que codifica una secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana.

En la presente invención, el polinucleótido exógeno se refiere a que el polinucleótido se ha introducido artificialmente en una célula anfitriona. En el caso en que se utiliza una célula humana como célula, se introduce un gen humano en una célula humana. También en tal combinación, el polinucleótido introducido artificialmente se denomina polinucleótido exógeno. Por lo tanto, la expresión ectópica de PTPRS humana está incluida en la expresión del polinucleótido exógeno.

En la presente invención, el dominio extracelular de la PTPRS humana se refiere a la secuencia de aminoácidos desde las posiciones 30 a 830 que corresponden al dominio extracelular de la secuencia de aminoácidos descrita en el SEQ ID NO: 1. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que incluye las regiones respectivas en el orden desde el lado del extremo N terminal mencionado a continuación es preferible como secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención.

[Secuencia señal + dominio extracelular + dominio transmembrana + región intracelular]

Alternativamente, una secuencia de aminoácidos que carece parcialmente de regiones intracelulares siguiente también está incluida en la secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención.

[Secuencia señal + dominio extracelular + dominio transmembrana + parte de la región intracelular]

Además, una estructura que carece de una región intracelular siguiente está también incluida en la secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana en la presente invención.

[Secuencia señal + dominio extracelular + dominio transmembrana]

En las estructuras mencionadas anteriormente, las regiones distintas del dominio extracelular pueden tener una secuencia seleccionada de la secuencia de aminoácidos mostrada en el SEQ ID NO: 1, o pueden incluir otra secuencia homóloga de aminoácidos combinada. Por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que constituye una secuencia señal, un dominio transmembrana y una región intracelular puede ser una secuencia de aminoácidos de moléculas de la familia PTP distintas de PTPRS humana. Alternativamente, se puede combinar una secuencia de

aminoácidos de una familia PTP de una especie distinta de la humana. Además, las secuencias de aminoácidos que constituyen las regiones distintas del dominio extracelular pueden incluir mutación en la medida en que se puedan mantener las funciones de las regiones respectivas. Además, puede interponerse otra región entre las regiones respectivas. Por ejemplo, puede insertarse una etiqueta epitópica tal como FLAG entre la secuencia señal y el dominio extracelular. Específicamente, la secuencia señal es una región que se traduce a proteína, se procesa en la etapa de transferencia a la superficie de una membrana celular y se elimina. Por lo tanto, se puede utilizar como secuencia señal cualquier secuencia de aminoácidos que induzca el paso de la membrana celular de la proteína traducida. Más específicamente, la secuencia de aminoácidos de PTPRS humana (SEQ ID NO: 1) es preferible como secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana.

Por lo tanto, para el polinucleótido que constituye el apartado (a) anteriormente mencionado en la presente invención, se puede utilizar cualquier secuencia de bases que codifica una secuencia de aminoácidos que constituye la estructura mencionada anteriormente [secuencia señal + dominio extracelular + dominio transmembrana + región intracelular]. Por ejemplo, la secuencia de aminoácidos del SEQ ID NO: 1 está codificada por la secuencia de bases descrita en el SEQ ID NO: 2.

En la presente invención, con el fin de obtener una célula transformante que se use como inmunógeno, sólo es necesario introducir un vector de expresión en el que el polinucleótido (a) mencionado anteriormente se mantenga de manera expresable en una célula anfitriona adecuada.

La célula anfitriona en la presente invención es preferiblemente una célula de mamífero. Específicamente, se puede utilizar como célula anfitriona una célula derivada de un ser humano, un mono, un ratón o una rata. Específicamente, la célula anfitriona es preferiblemente una célula derivada de ratón. Una célula HEK-293T es una línea celular de riñón derivada de embrión humano, que puede utilizarse como célula anfitriona en la presente invención. Una célula HEK-293T está disponible como ATCC CRL-11268. Las células derivadas del animal que se debe inmunizar también pueden utilizarse como células anfitrionas. Cuando se utiliza como un inmunógeno una célula derivada de un animal que se debe inmunizar, la respuesta inmunitaria contra la célula anfitriona es pequeña. Por lo tanto, se puede obtener eficazmente un anticuerpo contra un dominio extracelular de PTPRS humana que se expresa exógenamente. Por lo tanto, por ejemplo, cuando se usa un ratón como animal a inmunizar, también se puede utilizar una célula derivada de ratón como célula anfitriona.

El polinucleótido anteriormente mencionado puede transformarse en una célula montando el polinucleótido en un vector que puede inducir la expresión en una célula anfitriona. Se puede utilizar un vector disponible comercialmente que pueda inducir la expresión en una célula de mamífero. En la presente invención se pueden utilizar vectores de expresión tales como vector el pCMV-Script (R), el vector pSG5 (fabricado por Stratagene) y pcDNA3.1 (fabricado por Invitrogen).

La célula transformante así obtenida se administra a un animal para inmunizar al animal, junto con componentes adicionales tales como un coadyuvante según sea necesario. Como coadyuvante, se puede utilizar el coadyuvante completo de Freund. En el caso en que se utiliza un ratón como animal inmunizado, la célula transformante puede administrarse a partir de 10^4 a 10^9 células, más específicamente a partir de 10^4 a 10^6 células. En general, el inmunógeno se administra varias veces a intervalos hasta que aumenta el título de anticuerpos. Por ejemplo, en el caso de un proceso de inmunización de corta duración, la célula transformante puede administrarse a intervalos de 2 a 4 días, específicamente 3 días, y la célula productora de anticuerpos puede recogerse después de 2 a 3 períodos de administración. Alternativamente, la célula productora de anticuerpos puede recogerse después de 5 a 6 períodos de administración a intervalos de aproximadamente una vez por semana.

En la presente invención, la célula productora de anticuerpos recogida se clona para obtener un anticuerpo monoclonal. Es preferible que la clonación inmortalice la célula productora de anticuerpos. Por ejemplo, se puede utilizar un procedimiento de fusión de células tal como un procedimiento de hibridoma, o transformación por virus de Epstein-Barr (EBV) como procedimiento para la inmortalización de la célula productora de anticuerpos.

En la célula productora de anticuerpos, una célula produce un tipo de anticuerpo. Por lo tanto, si puede establecerse un grupo celular derivado de una célula (es decir, clonación), se puede obtener un anticuerpo monoclonal. El procedimiento de hibridoma se refiere a un procedimiento en el que una célula productora de anticuerpos se fusiona con una cepa celular adecuada, inmortalizada y clonada. La célula productora de anticuerpos inmortalizada puede clonarse mediante una técnica tal como un método de dilución limitante. Se conocen muchas cepas celulares que son útiles para el procedimiento del hibridoma. Estas cepas celulares tienen diversos marcadores genéticos que tienen excelente la eficacia de inmortalización de una célula basada en linfocitos y necesarios para la selección de una célula que ha tenido éxito en la fusión celular. Además, en el caso en el que se pretende obtener una célula productora de anticuerpos, también se puede utilizar una cepa celular que carece de capacidad productora de anticuerpos.

Por ejemplo, el mieloma de ratón P3x63Ag8.653 (ATCC CRL-1580) y P3x63Ag8U.1 (ATCC CRL-1597) se utilizan

ampliamente como cepas celulares que son útiles en procesos de fusión celular en ratones y ratas. En general, se prepara un hibridoma fusionando células homólogas, pero se puede obtener un anticuerpo monoclonal a partir de heterohibridomas heterólogos estrechamente relacionados.

5 Se conoce un protocolo específico de fusión celular. A saber, una célula productora de anticuerpos de un animal inmunizado se mezcla con un compañero de fusión adecuado para efectuar la fusión celular. Para la célula productora de anticuerpos, por ejemplo, se usa una célula de bazo, una célula de linfocito recogida de un ganglio linfático y una célula B de sangre periférica. Como compañero de fusión, pueden utilizarse diversas cepas celulares que se han mencionado anteriormente. Para la fusión celular, se utiliza un procedimiento de polietilenglicol o un
10 procedimiento de fusión eléctrica.

A continuación, la célula que ha tenido éxito en la fusión celular se selecciona basándose en un marcador de selección poseído por la célula de fusión. Por ejemplo, en el caso en que se usa una cepa celular sensible a HAT para la fusión celular, la célula que ha tenido éxito en la fusión celular se selecciona seleccionando la célula que
15 crece en un medio HAT. Además, se confirma que el anticuerpo producido por la célula seleccionada tiene la reactividad deseada.

Cada hibridoma se selecciona basándose en la reactividad del anticuerpo. A saber, un hibridoma que produce un anticuerpo que se une a PTPRS humana se selecciona mediante el procedimiento mencionado anteriormente. Preferiblemente, el hibridoma seleccionado se subclona y, en el caso en que finalmente se confirma la producción del anticuerpo objetivo, se selecciona como un hibridoma que produce el anticuerpo monoclonal de la presente
20 invención.

Específicamente, el hibridoma objetivo puede seleccionarse en base a la reactividad con una célula humana o a la reactividad con una célula transformante que expresa el gen de PTPRS humana. El anticuerpo que se une a la célula se puede detectar por el principio de un inmunoensayo. Por ejemplo, se puede utilizar ELISA que utiliza una célula como antígeno para la detección del anticuerpo objetivo. Específicamente, un sobrenadante de cultivo de un hibridoma se pone en contacto con un soporte sobre el cual se fija la pDC humana, o una célula transformante
25 utilizada como inmunógeno. En el caso en que el sobrenadante del cultivo incluye el anticuerpo objetivo, el anticuerpo es capturado por la célula fijada sobre el soporte. A continuación, la fase sólida se separa del sobrenadante del cultivo y se lava según sea necesario, con lo que se puede detectar el anticuerpo capturado en la fase sólida. Para la detección del anticuerpo se puede utilizar un anticuerpo que reconoce el anticuerpo. Por ejemplo, se puede detectar un anticuerpo de ratón mediante un anticuerpo de inmunoglobulina anti-ratón. Si se marca de antemano un anticuerpo que reconoce el anticuerpo, su detección es fácil. Como marcador, por ejemplo,
30 se puede utilizar una enzima, un pigmento fluorescente o un pigmento de emisión de luz.

Por otra parte, como el soporte para fijar la celda, se pueden utilizar partículas, o una pared interior de una placa de microtitulación. La célula puede ser fijada por adsorción física sobre la superficie de las partículas o un recipiente elaborado de plástico. Por ejemplo, se pueden utilizar cuentas o un recipiente de reacción de poliestireno como
40 soporte para fijar la célula.

En la selección de un hibridoma, se espera la producción de un anticuerpo contra PTPRS no humana, pero en algunos casos se espera la célula anfitriona de la célula transformante utilizada para el inmunógeno. Por ejemplo, como se muestra en los Ejemplos, cuando se utiliza una célula humana como inmunógeno y se utiliza un ratón como animal a inmunizar, la célula humana se reconoce como una sustancia extraña y se espera la producción de un anticuerpo que se una a ella. La presente invención tiene por objeto obtener un anticuerpo que reconozca PTPRS humana. Por lo tanto, no es necesario obtener un anticuerpo que reconozca un antígeno celular humano distinto de PTPRS humana. Con el fin de excluir un hibridoma que produzca tal anticuerpo mediante escrutinio, se puede absorber de antemano un anticuerpo no deseado antes de la confirmación de la reactividad del anticuerpo.
50

El anticuerpo no deseado puede ser absorbido por un antígeno al que se une un anticuerpo cuya presencia se espera. Específicamente, por ejemplo, los anticuerpos contra antígenos de células humanas distintos de la PTPRS humana pueden ser absorbidos por células en las que la expresión de PTPRS humana no puede ser detectada. En la presente invención, la célula anfitriona utilizada como inmunógeno es preferible como antígeno para absorber el anticuerpo no deseado.
55

Cuando sea necesario, se confirma el efecto real sobre la actividad de la pDC del anticuerpo monoclonal cuya actividad de unión frente al antígeno ha sido confirmada. El efecto sobre la pDC puede ser confirmado, por ejemplo, por medio del método que se menciona a continuación.
60

El anticuerpo monoclonal de la presente invención puede recogerse de un cultivo obtenido cultivando un hibridoma que produce el anticuerpo monoclonal. El hibridoma se puede cultivar in vitro o in vivo. El hibridoma se puede cultivar in vitro utilizando un medio conocido tal como RPMI1640. En el sobrenadante del cultivo, se acumula una inmunoglobulina secretada por el hibridoma. Por lo tanto, el anticuerpo monoclonal de la presente invención se

puede obtener recogiendo el sobrenadante de cultivo y purificando según sea necesario. La purificación de la inmunoglobulina es más fácil en el caso en que no se añade suero al medio. Sin embargo, para propósitos de proliferación más rápida del hibridoma y aceleración de la producción del anticuerpo, se puede añadir al medio aproximadamente 10% de suero bovino fetal.

El hibridoma también puede cultivarse in vivo. Específicamente, inoculando el hibridoma en la cavidad abdominal de un ratón atímico, el hibridoma puede cultivarse en la cavidad abdominal. El anticuerpo monoclonal se acumula en el líquido ascítico. Por lo tanto, se puede obtener un anticuerpo monoclonal deseado recolectando el fluido de ascitis y purificando según sea necesario. El anticuerpo monoclonal obtenido puede ser adecuadamente modificado o procesado de acuerdo con el propósito.

El anticuerpo monoclonal de la presente invención puede expresarse obteniendo ADNc que codifica una región de unión al antígeno del anticuerpo del hibridoma e insertándolo en un vector de expresión adecuado. Se conoce una técnica para obtener un ADNc que codifica una región variable de un anticuerpo y que se expresa en una célula anfitriona adecuada. Además, también se conoce una técnica para unir una región variable que incluye una región de unión al antígeno a una región constante para formar un anticuerpo quimérico.

Por ejemplo, como anticuerpo monoclonal preferible en la presente invención, se puede representar un anticuerpo monoclonal producido por el hibridoma 9H5-4 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11356, el hibridoma 10F7-38 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11357, el hibridoma 13G5-52 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11358, el hibridoma 13G5-57 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11359, el hibridoma 14A8-85 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11360, el hibridoma 22H8 -84 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11361, el hibridoma 49F2-30 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11362 o el hibridoma 55E7-79 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11363.

Como anticuerpo quimérico que incluye una región variable, o anticuerpo humanizado al que se ha trasplantado CDR que constituye una región variable, un anticuerpo que tiene una región constante derivada de IgG o IgM está incluido en el anticuerpo preferible en la presente invención. Los autores de la presente invención han confirmado que un anticuerpo monoclonal contra PTPRS tiene una acción de CDC contra la célula que expresa PTPRS. Por lo tanto, el anticuerpo que tiene una región constante derivada de IgG o IgM tiene una acción citotóxica contra una célula que expresa PTPRS por la acción de CDC. Tal anticuerpo es útil para suprimir el número de células de la célula que expresa PTPRS tal como pDC.

El anticuerpo quimérico que reconoce la PTPRS humana o el anticuerpo humanizado pueden producirse mediante ingeniería génica utilizando un polinucleótido que codifica el anticuerpo.

Ya han pasado aproximadamente cuatro años desde que se aclaró la estructura de la PTPRS humana en el documento WO2007/041317 (documento JP2009-510102A); Sin embargo, todavía no se ha obtenido un anticuerpo que pueda reconocer específicamente la PTPRS humana. Un anticuerpo que reconoce la PTPRS humana fue proporcionado primero por el inmunógeno de la presente invención. A saber, la presente invención proporciona un anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana en una pDC y suprime la producción de IFN por, y/o la supervivencia de, la célula, que puede obtenerse mediante los siguientes procedimientos:

- (1) administrar a un animal una célula que expresa exógenamente una proteína que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana para inmunizar al animal con la célula;
- (2) seleccionar una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une a PTPRS humana a partir de la célula productora de anticuerpos del animal inmunizado; y
- (3) cultivar la célula productora de anticuerpos seleccionada en el apartado (2), y recoger del cultivo un anticuerpo que reconoce PTPRS humana, se une a una pDC y suprime la actividad de la pDC;

en donde la actividad de la pDC es la producción de IFN y/o la supervivencia celular.

Se aclaró que la PTPRS humana se expresa específicamente en la pDC humana. La expresión específica en pDC humana también se confirmó en el análisis de expresión génica mediante SAGE por parte de los autores de la presente invención. Sin embargo, en los informes anteriores, el nivel de expresión de la PTPRS humana se analizó sobre la base del ARNm en todos los casos. Puesto que no se proporcionó un anticuerpo mediante el cual se habilitaba la detección de PTPRS humana, el estado de expresión de una proteína no se analizó en el pasado. El anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana, que fue proporcionado por la presente invención, realizó el análisis de una proteína PTPRS humana.

De acuerdo con la confirmación real por parte de los autores de la presente invención, el anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana basado en la presente invención detectó específicamente pDC humana. A saber, la presente invención se refiere a un método *ex vivo* para la detección de una célula dendrítica plasmocitóide, que incluye poner en contacto un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de

unión a antígeno del mismo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana con una célula sujeto y detectar dicho anticuerpo monoclonal o fragmento que se ha unido a la célula.

5 Mediante la detección de la PTPRS humana basándose en la presente invención, puede confirmarse si una determinada célula es pDC o no. A saber, la presente invención proporciona un método para la identificación de pDC utilizando PTPRS humana como índice. Alternativamente, la pDC humana se puede separar separando la célula en la que se ha detectado la PTPRS humana de acuerdo con la presente invención. A saber, la presente descripción proporciona un método para la separación de pDC utilizando PTPRS humana como índice.

10 En la presente invención, se puede marcar de antemano un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana, o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, el anticuerpo se puede detectar fácilmente marcando con un pigmento de emisión de luz o un pigmento de fluorescencia. Más específicamente, un anticuerpo marcado con pigmento de fluorescencia se pone en contacto con un agregado de células que posiblemente incluye pDC, por lo que se puede detectar una célula a la que se ha unido el anticuerpo de la presente invención utilizando el pigmento de fluorescencia como índice. Además, si la célula en la que se ha detectado el pigmento de fluorescencia está separada, se puede separar la pDC. La serie de procedimientos se puede llevar a cabo fácilmente por el principio de FACS.

15 Alternativamente, el anticuerpo de la presente invención se puede unir de antemano a un soporte en fase sólida, tal como partículas magnéticas. El anticuerpo unido al soporte en fase sólida reconoce la PTPRS humana, y la pDC es capturada por el soporte de fase sólida. Como resultado, la pDC puede ser detectada y separada.

20 El anticuerpo requerido para la detección de pDC basándose en la presente invención puede suministrarse como un agente para detectar la pDC. A saber, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana en una pDC y suprime la producción de IFN por, y/o la supervivencia de, la célula, para su uso en la detección de una pDC. Para el agente para detectar pDC, además del anticuerpo, se puede combinar un control positivo o un control negativo. Por ejemplo, la célula transformante que expresa un dominio extracelular de PTPRS humana, que se utilizó como un inmunógeno, o la pDC recogida de un ser humano se pueden utilizar como control positivo.

25 Generalmente, la pDC humana se puede obtener sólo en poca cantidad a partir de sangre periférica. Por lo tanto, la célula transformante es específicamente preferible como control positivo en el agente de la presente invención. Por otra parte, cualquier célula que no exprese PTPRS humana puede ser utilizada para el control negativo.

30 A saber, la presente descripción proporciona un kit para detectar pDC humana, que incluye un anticuerpo monoclonal que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana, o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo.

35 Además, los autores de la presente invención han analizado el efecto del anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana en la pDC. Como resultado, han confirmado que el anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana suprime la actividad de la pDC. A saber, la presente descripción se refiere a un método para suprimir la actividad de una célula productora de interferón, que incluye poner en contacto cualquiera de los siguientes componentes con la pDC:

- 40
- (a) un anticuerpo monoclonal que se une a PTPRS humana para suprimir la actividad de pDC, o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo, y
 - (b) una inmunoglobulina a la que se ha trasplantado una región determinante de complementariedad del anticuerpo monoclonal de (a), o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo.

45 Alternativamente, la presente descripción se refiere a un método para suprimir la actividad de pDC en un organismo vivo, que incluye administrar cualquiera de los siguientes componentes al organismo vivo:

- 50
- (a) un anticuerpo monoclonal que se une a PTPRS humana para suprimir la actividad de pDC, o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo,
 - (b) una inmunoglobulina a la que se ha trasplantado una región determinante de complementariedad del anticuerpo monoclonal de (a), o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo, y
 - (c) un polinucleótido que codifica el componente descrito en (a) o (b).
- 55

60 En la presente descripción, pDC se refiere a una célula que tiene una capacidad para producir IFN, y expresa PTPRS humana sobre una superficie celular. A continuación, a menos que se indique lo contrario, la pDC abarca no sólo una célula que es una célula precursora de una célula dendrítica sino también una célula que tiene capacidad para producir IFN y expresa PTPRS humana sobre una superficie celular. Se conoce un método para identificar dicha pDC. Por ejemplo, la pDC se puede distinguir de otras células sanguíneas utilizando varios marcadores de superficie celular como índices. Específicamente, el perfil del marcador de superficie celular de pDC humana es el siguiente (Shortman, K. y Liu, YJ, Nature Reviews 2: 151-161, 2002). También se informó en los últimos años de que

la célula positiva para BDCA-2 se posiciona como pDC (Dzionic, A. et al. J. Immunol. 165: 6037-6046, 2000).

[Perfil de antígeno de superficie celular de pDC humana]

5 CD4 positivo, CD 123 positivo, Linaje (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20, CD56) negativo, CD11c negativo

Por lo tanto, una célula que tiene el perfil de expresión de estos marcadores conocidos y que tiene asimismo capacidad para producir IFN también se puede denominar pDC. Además, incluso un grupo de células que tienen un perfil que es diferente del patrón de expresión del perfil de expresión de estos marcadores, una célula en un organismo vivo que tiene capacidad para producir IFN, las células están incluidas en las pDC.

Además, como características que se observan comúnmente en la pDC humana, se pueden mostrar las siguientes características.

15 **[Características en forma de célula]**

- se parece a una célula de plasmática.
- es una célula redonda que tiene una superficie celular lisa.
- tiene un núcleo relativamente grande. [Características funcionales de la célula]
- produce una gran cantidad de IFN de Tipo I en un corto período de tiempo durante la infección viral.
- se diferencia para proporcionar una célula dendrítica después de la infección viral.

En la presente descripción, la supresión de la actividad de pDC se refiere a la supresión de al menos una función poseída por pDC. Como funciones de pDC, se puede mostrar la producción de IFN y la supervivencia celular. En otras palabras, puede decirse que la supervivencia celular es un número de células. Por lo tanto, la supresión de una o ambas funciones se refiere a la supresión de la actividad de pDC. Se aclaró que el IFN de Tipo I producido por pDC causa diversas enfermedades. Por lo tanto, es útil suprimir el número de células de pDC y la producción de IFN como estrategias terapéuticas para esas enfermedades.

Por ejemplo, se señaló una relación entre las condiciones patológicas de las enfermedades autoinmunitarias y el IFN α . La mayor parte del IFN α es producido por pDC. Por lo tanto, si se suprime su producción, se pueden aliviar las condiciones patológicas acarreadas por IFN α . Mientras tanto, en la presente invención, la supresión de la producción de IFN por pDC se refiere a la supresión de la producción de al menos un tipo de IFN entre los IFN producidos por pDC. Los IFN de Tipo I son IFN preferibles en la presente invención. Entre ellos, el IFN α es importante.

A saber, la presente descripción se refiere a un agente para suprimir la producción de IFN, que incluye un anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana como ingrediente activo. Alternativamente, la presente descripción proporciona un método para suprimir la producción de IFN, que incluye administrar un anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana. Además, la presente descripción se refiere al uso de un anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana en la producción de una composición farmacéutica para suprimir la producción de IFN.

La pDC incluye una célula que produce una gran cantidad de IFN por un pequeño número de células. Por ejemplo, una célula precursora de una célula dendrítica que ha sido estimulada, por ejemplo, por un virus, produce la mayor parte del IFN producido por un organismo vivo. La supresión del número de células de pDC que produce una gran cantidad de IFN conduce consecuentemente a la supresión de la cantidad de producción de IFN. Por lo tanto, las condiciones patológicas acarreadas por IFN α también pueden aliviarse suprimiendo el número de células de pDC.

En una realización preferible de la presente invención, se confirmó que un anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humana se une a una célula que expresa PTPRS humana e imparte una acción citotóxica mediante una acción de CDC (Citotoxicidad Dependiente del Complemento). La acción de CDC es uno de los mecanismos de acción importantes en los medicamentos de anticuerpos. El anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humana de la presente invención también tiene una fuerte acción citotóxica contra células que expresan PTPRS humana tales como pDC por la acción de CDC de las mismas. A saber, puede esperarse también un efecto de supresión de la producción de IFN por una acción citotóxica contra pDC además del mecanismo de supresión de la producción de IFN en una realización preferible.

El anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana usado en la presente invención se puede obtener basándose en el método mencionado anteriormente. El anticuerpo en la presente invención puede ser de cualquier clase. Además, la especie del organismo de la que se obtiene el anticuerpo tampoco está limitada. Además, puede utilizarse como anticuerpo un fragmento que incluye una región de unión al antígeno del anticuerpo. Por ejemplo, también se puede utilizar como anticuerpo en la presente invención un fragmento de anticuerpo que incluye un sitio de unión a antígeno que se genera por digestión enzimática de IgG. Específicamente, se puede obtener un fragmento de anticuerpo tal como Fab o F(ab')₂ por digestión con papaína o pepsina. Es bien sabido que

5 estos fragmentos de anticuerpos pueden utilizarse como moléculas de anticuerpo que tienen afinidad de unión con antígenos. Alternativamente, también puede utilizarse un anticuerpo construido por recombinación génica mientras mantenga la actividad de unión al antígeno necesaria. Los ejemplos del anticuerpo construido por recombinación génica pueden incluir anticuerpos quiméricos, anticuerpos de trasplante de CDR, Fv de cadena sencilla, diacuerpos y anticuerpos lineales, y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. Se conocen métodos para obtener estos anticuerpos basados en anticuerpos monoclonales.

10 En la presente invención, el anticuerpo se puede modificar según sea necesario. De acuerdo con la presente invención, un anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana tiene una acción para suprimir la actividad de pDC. Es decir, se consideró la posibilidad de que el propio anticuerpo tenga una acción citotóxica contra pDC. Se conoce la subclase del anticuerpo que muestra una acción efectora fuerte. Alternativamente, mediante la modificación del anticuerpo con una sustancia citotóxica (un agente citotóxico), se puede mejorar adicionalmente el efecto de supresión de la actividad de pDC. Algunos ejemplos de la sustancia citotóxica pueden incluir las siguientes sustancias.

15 Toxinas: Endotoxina de Pseudomonas (PE), difteria

Lisina

20 Elementos radioisotópicos: Tc99m, Sr89, I131, Y90

Agentes anticancerosos: caliqueamicina, mitomicina, paclitaxel

25 Las toxinas compuestas de una proteína pueden unirse, por ejemplo, a un anticuerpo o a un fragmento del mismo mediante un agente bifuncional. Alternativamente, un gen que codifica toxinas puede unirse a un gen que codifica un anticuerpo para proporcionar una proteína de fusión de los dos genes. También se conoce un método para unir un elemento radioisotópico a un anticuerpo. Por ejemplo, se conoce un método para marcar un anticuerpo con un elemento radioisotópico utilizando un agente quelante. Además, un agente anticanceroso puede unirse a un anticuerpo utilizando una cadena de azúcar o un agente bifuncional.

30 En la presente invención, también se puede utilizar como ingrediente activo un anticuerpo cuya estructura se ha modificado artificialmente. Por ejemplo, se conocen diversos métodos de modificación para mejorar la acción citotóxica y la estabilidad de un anticuerpo. Específicamente, se conoce una inmunoglobulina en la que se ha modificado una cadena de azúcar de una cadena pesada (Shinkawa, T. et al., J. Biol. Chem 278:3466-3473. 2003.). Mediante la modificación de la cadena de azúcar, se aumentó la actividad ADCC (Citotoxicidad Mediada por Células Dependiente de Anticuerpos) de la inmunoglobulina.

35 Cuando el anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana se pone en contacto con pDC, su actividad se suprime. Por lo tanto, estos anticuerpos se pueden utilizar como un agente o método para suprimir la actividad de pDC. A saber, la presente descripción proporciona un agente para suprimir la actividad de pDC, que incluye al menos un tipo de componente seleccionado del grupo que consiste en los siguientes apartados (a)-(b) como ingrediente activo. Alternativamente, la presente descripción se refiere a un método para suprimir la actividad de pDC, que incluye administrar al menos un tipo de componente seleccionado del grupo que consiste en los siguientes apartados (a)-(b). Además, la presente descripción se refiere al uso del componente seleccionado del grupo que consiste en los siguientes apartados (a)-(b) en la producción de un agente para suprimir la actividad de pDC.

45 (a) Un anticuerpo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana, o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo, y

(b) Una inmunoglobulina a la que se ha trasplantado una región determinante de complementariedad del anticuerpo monoclonal de (a), o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo.

50 En la presente invención, como anticuerpo monoclonal que suprime la actividad de pDC, puede utilizarse un anticuerpo monoclonal que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana. En la presente invención, pueden utilizarse una clase o varias clases de anticuerpo monoclonal. Por ejemplo, se pueden incorporar y utilizar en la presente invención diversos tipos de anticuerpos monoclonales que reconocen un dominio extracelular de PTPRS humana.

60 El hecho de que un anticuerpo tenga una acción de supresión de la actividad productora de IFN de pDC puede confirmarse de la siguiente manera. La pDC produce una gran cantidad de IFN mediante la estimulación de un virus. Proporcionando un anticuerpo antes o después de la estimulación con el virus contra pDC, o simultáneamente con la estimulación con el virus, y utilizando pDC a la que no se proporciona el anticuerpo como control, se comparan las capacidades de producción de IFN. Las capacidades de producción de IFN se pueden evaluar midiendo IFN- α e IFN- β incluidos en el sobrenadante de cultivo de pDC. Como resultado de la comparación, cuando la cantidad de IFN en el sobrenadante disminuye significativamente mediante la adición del anticuerpo, puede confirmarse que el anticuerpo sometido a ensayo tiene una acción de supresión de la capacidad de producir IFN. Se conoce un método

para medir estos IFN. La pDC es una célula que produce la mayoría de los IFN en un organismo vivo. Por lo tanto, mediante la supresión de la capacidad de producción de IFN de pDC, se puede modular el estado de producción de IFN en un organismo vivo.

5 En la presente invención, la actividad de pDC incluye el mantenimiento del número de células de pDC. Por lo tanto, la supresión de la actividad de pDC en la presente invención incluye la supresión del número de células de pDC. Si se confirma que el número de células de pDC está suprimido en presencia de un anticuerpo, se comprueba que el anticuerpo suprime la actividad de pDC. Como control para comparación, se puede utilizar una inmunoglobulina inerte derivada de la misma especie animal que la de un anticuerpo cuya actividad se va a confirmar, como en la
10 producción de IFN. El número de células de pDC se puede comparar cuantitativamente contando el número de la célula. El número de células puede ser contado mediante FACS o mediante un microscopio.

Además, también se considera que pDC se diferencia para proporcionar una célula que induce Th2 denominada DC2 (Célula Dendrítica 2) como resultado de la infección, por ejemplo, con un virus. Si la producción de IFN de pDC por estimulación con un virus puede ser suprimida, también es posible que la diferenciación para proporcionar Th2 pueda ser suprimida. Por lo tanto, se pueden esperar efectos terapéuticos sobre diversas enfermedades alérgicas para el anticuerpo monoclonal de la presente invención que suprime la producción de IFN.

20 En el caso en el que el anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana se administra a un anfitrión que es diferente de una especie de organismo de la que se obtiene el anticuerpo, es deseable procesar el anticuerpo a una forma que apenas sea reconocida como una sustancia extraña para el anfitrión. Por ejemplo, mediante la transformación en las siguientes moléculas, la inmunoglobulina puede llegar a ser difícil de reconocer como una sustancia extraña. Se conoce la técnica para procesar una molécula de inmunoglobulina de la siguiente manera.

- 25 - Un fragmento que incluye una región de unión al antígeno que carece de una región constante (Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, tercera edición, Academic Press Limited. 1995; Antibody Engineering, A Practical Approach, IRL PRESS, 1996)
- 30 - Un anticuerpo quimérico que está constituido por una región de unión al antígeno de un anticuerpo monoclonal y una región constante de una inmunoglobulina de un anfitrión (Experimental Manual for Gene Expression, Kodansha Ltd., 1994 (editado por Isao Ishida y Tamie Ando))
- 35 - Un anticuerpo con CDR sustituida obtenido mediante la sustitución de una región determinante de complementariedad (CDR) en una inmunoglobulina de un anfitrión por una CDR de un anticuerpo monoclonal (Experimental Manual for Gene Expression, Kodansha Ltd., 1994 (editado por Isao Ishida y Tamie Ando)).

Alternativamente, se puede adquirir un gen de la región variable de inmunoglobulina de un ser humano mediante un procedimiento de presentación de fagos (McCafferty J. et al., Nature 348: 552-554, 1990; Kretzschmar T et. Al., Curr Opin Biotechnol dic 2002: 13 (6): 598-602.). En el procedimiento de presentación en fagos, se incorpora un gen que
40 codifica una región variable de inmunoglobulina humana a un gen del fago. Se puede preparar una biblioteca de fagos utilizando varios genes de inmunoglobulina como fuentes. Un fago expresa la región variable como una proteína de fusión de una proteína que constituye el propio fago. La región variable en la superficie del fago, que es expresada por el fago, mantiene la actividad de unión con el antígeno. Por lo tanto, seleccionando un fago que se une a una célula que ha expresado un antígeno, puede escrutar un fago que ha expresado una región variable que
45 tiene una actividad de unión pretendida a partir de una biblioteca de fagos. Además, se conserva un gen que codifica una región variable que tiene una actividad de unión deseada en las partículas de fago escrutadas de esta manera. A saber, en el procedimiento de presentación de fagos, se puede adquirir un gen que codifica una región variable que tiene una actividad de unión pretendida utilizando la actividad de unión de la región variable como índice.

50 En el agente o procedimiento para suprimir la actividad de pDC, el anticuerpo que reconoce un dominio extracelular de PTPRS humana o un fragmento de anticuerpo que incluye al menos una región de unión a antígeno del mismo se puede administrar como una proteína o un polinucleótido que codifica la proteína. Con el fin de administrar el polinucleótido, es deseable utilizar un vector en el que se ha dispuesto un polinucleótido que codifica una proteína pretendida bajo el control de un promotor adecuado de modo que se pueda expresar una proteína pretendida.
55 También se puede disponer un potenciador o terminador en el vector. Se conoce un vector que puede retener genes de una cadena pesada y una cadena ligera que constituyen la inmunoglobulina y que pueden expresar una molécula de inmunoglobulina. El vector que puede expresar una inmunoglobulina puede administrarse introduciéndolo en una célula. En la administración a un organismo vivo, un vector que puede ser transmitido a una célula mediante la administración al organismo vivo se puede administrar tal cual. Alternativamente, se puede introducir un vector en un linfocito que ha sido separado una vez de un organismo vivo y después devolver al organismo vivo (ex vivo).

En el agente o procedimiento para suprimir la actividad de pDC, la cantidad del anticuerpo monoclonal que se va a administrar a un organismo vivo como una inmunoglobulina es generalmente de 0,5 mg a 100 mg, por ejemplo de 1 mg a 50 mg, preferiblemente de 2 mg a 10 mg, por 1 Kg de peso corporal. Los intervalos de administración del

anticuerpo a un organismo vivo pueden modularse adecuadamente de modo que se pueda mantener la concentración efectiva de la inmunoglobulina en un organismo vivo durante un período terapéutico. Específicamente, el anticuerpo se puede administrar a intervalos de 1 a 2 semanas. La vía de administración es opcional. Un experto en la técnica puede seleccionar adecuadamente una vía de administración eficaz para una terapia. Específicamente, se puede mostrar la administración oral o parenteral. Por ejemplo, el anticuerpo puede administrarse sistemáticamente o tópicamente por inyección intravenosa, inyección intramuscular, inyección peritoneal o inyección subcutánea. Los ejemplos de formulaciones que son adecuadas para la administración parenteral pueden incluir un agente de inyección, un supositorio y un aerosol. Además, cuando se proporciona el anticuerpo a una célula, se proporciona una inmunoglobulina generalmente de 1 µg/mL, preferiblemente 10 µg/mL o más, más preferiblemente 50 µg/mL o más, aún más preferiblemente 0,5 mg/mL o más.

En el agente o método para suprimir la actividad de pDC, el anticuerpo monoclonal puede administrarse a un organismo vivo por medio de cualquier método. Generalmente, el anticuerpo monoclonal se combina con un portador farmacéuticamente aceptable. Cuando sea necesario, se pueden incorporar al anticuerpo monoclonal aditivos tales como un agente espesante, un estabilizante, un agente antiséptico y un solubilizante. Algunos ejemplos de dicho portador o aditivo pueden incluir lactosa, ácido cítrico, ácido esteárico, estearato de magnesio, sacarosa, almidón, talco, gelatina, agar, aceites vegetales y etilenglicol. El término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a haber sido aceptado por el supervisor del gobierno de cada país, o estar listado en la farmacopea de cada país o una farmacopea generalmente reconocida con respecto al uso en animales, mamíferos y específicamente en seres humanos. El agente para suprimir la actividad de pDC puede proporcionarse en forma de un polvo o comprimido liofilizado que incluye una dosis o dosis plurales. El polvo o comprimido liofilizado se puede combinar adicionalmente con agua esterilizada para inyectables, solución salina fisiológica o tampón para disolver la composición para proporcionar una concentración deseada antes de la administración.

Además, cuando se administra en forma de un vector que expresa una inmunoglobulina, cada plásmido se puede administrar de 0,1 a 10 mg, por ejemplo de 1 a 5 mg por 1 kg de peso corporal, considerando que una cadena pesada y una cadena ligera son co-transfectadas como plásmidos separados. Además, para introducir en una célula *in vitro*, se utiliza un vector de 1 a 5 µg/10⁶ células.

A continuación, la presente invención se explicará más específicamente con referencia a los Ejemplos, pero la presente invención no se considera limitada por los Ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1

A. Análisis de la expresión de PTPRS

A-1) Análisis utilizando la biblioteca SAGE

Las expresiones de un gen en monocitos humanos, pDC y pDC tratados con virus del herpes simple (HSV) se compararon y analizaron mediante un procedimiento SAGE™ (Análisis en Serie de la Expresión Génica). El método de análisis es el siguiente.

Se aisló un monocito como una célula positiva para CD14 y se separó pDC como una célula positiva para BDCA-4 a partir de células mononucleares de sangre periférica humana mediante un clasificador de células. Además, la pDC se cultivó en presencia de HSV durante 12 horas para preparar pDC activada. Se obtuvieron los ARN de las respectivas células, y se preparó una biblioteca SAGE utilizando un kit I-SAGE™ (Invitrogen). Los datos de la secuencia de bases obtenidos de aproximadamente 100.000 etiquetas se analizaron mediante SAGE Analysis Software (Invitrogen). Como resultado, puesto que un gen que tiene un valor de puntuación de monocito/pDC/pDC+HSV de 0/7/0, es decir, un gen que muestra expresión específica de pDC, se encontró un gen conocido: PTPRS (GenBank Acc # NM_002856.3). La PTPRS está codificada por la secuencia de bases mostrada en el SEQ ID NO: 2. Además, es un único dominio transmembrana que tiene un dominio de tipo inmunoglobulina (dominio de tipo Ig) y un dominio de tipo Fibronectina de tipo III en la región extracelular. Además, tiene dos regiones de proteína tirosina fosfatasa (dominios PTP) en la región intracelular (FIG. 1).

A-2) Análisis de la expresión de ARNm de PTPRS en diversas células competentes inmunes humanas mediante RT-PCR cuantitativa

La expresión de PTPRS en células inmunitarias se analizó con más detalle. Cada célula se aisló de sangre periférica humana mediante un clasificador de células. El ARN se extrajo de la población celular aislada, y se sintetizó el ADNc. Utilizando el ADNc obtenido como molde, se llevó a cabo la RT-PCR cuantitativa de acuerdo con un procedimiento general para analizar el nivel de expresión del ARNm de PTPRS. Por normalización con el nivel de expresión de un gen GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) que se sabe que se expresa

constantemente, se comparó la expresión del gen PTPRS entre células inmunitarias.

Las secuencias de base de los cebadores utilizados y las condiciones para la PCR son las siguientes.

- 5 Cebador directo para PTPRS: 5' CAC GGC CTA TGA CCT CCA 3' (SEQ ID NO: 3)
 Cebador inverso para PTPRS: 5' AAG TTC TTG GGC GAG ACT TG 3' (SEQ ID NO: 4)
 Cebador directo para GAPDH: 5' CCA CCC ATG GCAAAT TCC 3' (SEQ ID NO: 5)
 Cebador inverso para GAPDH: 5' TGG GAT TTC CAT TGA TGA CAA G 3' (SEQ ID NO: 6)
 1 Ciclo a 50°C durante 2 minutos,
 10 1 Ciclo a 95°C durante 10 minutos, y
 50 Ciclos [a 95°C durante 15 segundos y a 60°C durante 60 segundos].

15 Se analizaron un monocito, pDC, pDC estimulada con HSV, una célula B (célula CD19+), una célula T (célula CD3+), una célula T activada estimulada con PMA (12-miristato 13-acetato de Forbol) y una NK (Célula CD56+), y se demostró que la PTPRS se expresaba en una forma específica de pDC. Además, se encontró como característica que la expresión de PTPRS es disminuida por la pDC estimulada con HSV (FIG. 2).

A-3) Análisis de la expresión del ARNm de PTPRS en tejido humano mediante RT-PCR cuantitativa

20 Además, la expresión en tejidos se estudió mediante PCR cuantitativa utilizando ABI PRISM 7000 (Applied Biosystem). Como paneles de ADNc, el panel de ADNc de tejido múltiple BD™ MTC (Humano I; Núm. de Cat. 636742, Inmune humano; Núm. de cat. 636748. Fracciones de sangre humana; Núm. de cat. 636750; todos de Becton Dickinson). A continuación se muestran las secuencias de bases de los cebadores utilizados.

- 25 Cebador directo para PTPRS: 5' ACT CAC CCA CAC CCT ACAAGA 3' (SEQ ID NO: 7)
 Cebador inverso para PTPRS: 5' CTT GGT GGT ACG GCC ATC 3' (SEQ ID NO: 8)
 Cebador directo para GAPDH: 5' CCA CCC ATG GCAAAT TCC 3' (SEQ ID NO: 5)
 Cebador inverso para GAPDH: 5' TGG GAT TTC CAT TGA TGA CAA G 3' (SEQ ID NO: 6)

30 Utilizando un kit de mezcla maestro de PCR SYBR green (Applied Biosystem), se llevó a cabo la PCR mediante ABI PRISM 7000 disponible en la misma compañía. Para el análisis se utilizó el Soporte Lógico del Sistema de Detección de Secuencias disponible de la misma compañía. Las condiciones de reacción son las siguientes.

- 35 Etapa 1: 1 ciclo a 50°C durante 2 minutos
 Etapa 2: 1 ciclo a 95°C durante 10 minutos
 Etapa 3: 40 ciclos a 95°C durante 15 segundos y a 60°C durante 1 minuto

40 Mediante normalización con el nivel de expresión de un gen GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) que se sabe que se expresa constantemente, se comparó la expresión del gen PTPRS entre tejidos. Como resultado, el ARNm de PTPRS se expresó ampliamente en los tejidos (FIG. 3).

B. Preparación del vector de expresión de PTPRS

45 Con el fin de expresar una proteína PTPRS, se llevó a cabo la preparación de un vector de expresión de un gen PTPRS. Únicamente se extrajo un gen de PTPRS de un clon de ADNc de PTPRS que se había incorporado en un vector de clonación pCR4-TOPO (Open Biosystem Núm. cc MHS1010-98052887) y se incorporó en un vector de expresión pcDNA3.1 (PTPRS/pcDNA3.1). Utilizando el plásmido PTPRS/pcDNA3.1 obtenido como molde, se amplificó el gen de PTPRS con un cebador que incluía EcoRI, Not I y la secuencia de Kozak (GCC GCC ACC) (a continuación se muestra la información sobre el cebador). El producto de PCR se clonó en un vector retroviral pMX-IP en sitios EcoRI y Not I (PTPRS/pMX-IP). Para la reacción de PCR, se utilizó una unidad de ADN polimerasa KOD Plus (TOYOBO) y las condiciones de reacción fueron 1 ciclo a 94°C durante 2 minutos y 25 ciclos [a 94°C, 15 segundos y a 68°C durante 4 Minutos y 30 segundos].

- 55 Cebador directo (SEQ ID NO: 9): 5' aaa GAA TTC gcc gcc acc ATG GCG CCC ACC TGG GGC CCT3'
 Cebador inverso (SEQ ID NO: 10): 5' aaa gcg gcc gcT TAG GTT GCA TAG TGG TCAAAG C3'

60 En las secuencias de bases mencionadas anteriormente, los caracteres pequeños representan los sitios de escisión de la enzima de restricción EcoRI o los sitios de Not I. La aaa en el extremo 5' es una base adicional para la escisión enzimática.

C. Preparación de células que expresan PTPRS humana (hPTPRS)

Para producir un retrovirus que contiene el gen de PTPRS, la célula HEK-293T que es una cepa de células renales de un embrión humano se transfectó transitoriamente con PTPRS/pMX-IP y un vector de empaquetamiento del

retrovirus PCL-ECO mediante el kit FuGENE (Roche). Dos días después, se recogió el sobrenadante del cultivo celular en el que se recogió un virus que incluía un gen hPTPRS y se infectó con una célula D2SC/1 que es una célula dendrítica derivada del bazo de un ratón BALB/c (éste se preparó basándose en Paglia et al., J. Exp. Med., 178, 1893-1901 (1993)). Dado que el vector retroviral pMX-IP incluye un gen de resistencia a la puromicina, sólo se hace posible que sobreviva una célula que expresa hPTPRS cultivando la célula D2SC/1 infectada con puromicina, por lo que se hace posible la selección. Las células D2SC/1 que expresan hPTPRS se seleccionaron mediante clasificación FACS y se cultivaron. Con el fin de confirmar la expresión de hPTPRS, se añadieron 10 µg/ml de IgG de cabra (SantaCruz) y un anticuerpo policlonal hPTPRS comercialmente disponible (pAb; R&D) a las células hPTPRS/D2SC/1 seleccionadas por 100 µl de cada, y la mezcla se incubó a 4°C durante 30 minutos. La célula se lavó con PBS y después se añadió un anticuerpo anti-IgG de cabra marcado con FITC (SantaCruz) diluido 100 veces por 50 µl y la mezcla se incubó a 4°C durante 30 minutos. Después de lavar con PBS, los datos fueron importados por FACSCalibur (BD) (FIG. 4).

Ejemplo 2

A. Preparación de anticuerpo monoclonal anti-PTPRS humana

A-1) Inmunización

Como célula utilizada como inmunógeno, se utilizó la célula hPTPRS/D2SC/1 mencionada anteriormente. Se anestesiaron ratones BALB/c y se inyectó una emulsión de Adyuvante Completo de Freund (CFA) por vía subcutánea a las almohadillas en 50 µl por pie. El total fue de 100µl/ratón. Al día siguiente, se preparó una emulsión utilizando una célula hPTPRS/D2SC/1 preparada como inmunógeno y un Coadyuvante Incompleto de Freund (IFA) y se inyectó subcutáneamente a las almohadillas (50 µl/pie, 100 µl/ratón total). La inmunización se realizó cada dos días durante tres veces en total, y los ganglios linfáticos retirados se recogieron a los 3 días después de la última inmunización.

A-2) Fusión celular

Las células de los ganglios linfáticos retirados se recogieron de los dos pies de un ratón inmunizado y se mezclaron con una célula de mieloma de ratón P3-X63-Ag8.563 que se había cultivado en un medio RPMI1640 (SIGMA) incluyendo FBS al 10% de modo que la proporción de células de los ganglios linfáticos y células de mieloma se convirtió en 5:4, y las células se recogieron por centrifugación. Se añadió PEG1500 (Roche) a las células mixtas para la fusión celular. La célula fusionada (hibridoma) se lavó y cultivó en Suero Bovino Fetal al 10% (FBS) incluyendo un suplemento de crecimiento celular+medio HAT (Sigma)-RPMI1640 (incluyendo 2 mM de L-Glutamina, 100 unidades/ml de Penicilina, 100 µg/ml de Estreptomocina, HEPES 10 mM, Piruvato Sódico 1 mM, 2-ME 50 µM).

A-3) Escrutinio FACS de hibridomas utilizando células hPTPRS/D2SC/1 inmunizadas

Un anti-CD16/32 (2,4G2) preparado a 2,5 µg/ml se añadió por 50 µl a 3×10^5 pocillo de la célula D2SC/1 o hPTPRS/D2SC/1 para bloquear un receptor FC. Después de lavar con PBS, se añadieron una IgG de cabra preparada a 10 µg/ml, un pAb anti-hPTPRS comercialmente disponible (R&D), una IgG_{2ak} de ratón (BioLegend) y el sobrenadante de cultivo del hibridoma cultivado por 60 µl de cada, y la mezcla se incubó a 4°C durante 60 minutos. Después de lavar con PBS, se añadió a las células un anticuerpo anti-IgG de cabra marcado con FITC diluido 50 veces, marcado con FITC y un anticuerpo de IgG anti-ratón marcado con PE (BD), diluido 100 veces, por 50 µl de cada y la mezcla se incubó a 4°C durante 30 minutos bajo protección contra la luz. Después de lavar con PBS, la célula se suspendió en 200 µl de PBS. Los datos fueron recogidos mediante FACS Calibur (BD). Los datos recogidos fueron desarrollados por parcelas de puntos de FSC y SSC para seleccionar "to gate" una célula viva. Los datos se recogieron hasta que los datos de la célula en esta ventana de análisis "gate" alcanzaron el recuento de 2.000. Como resultado, se pueden obtener 13 hibridomas que producen un anticuerpo anti-hPTPRS (2G6, 28G10, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 9D2, 14A8, 55E7, 13G5, 16H2) (FIG. 5).

A-4) Escrutinio mediante FACS utilizando células CAL-1

Se tiñeron 3×10^5 células CAL-1 de una cepa celular de tipo pDC humana en 50 µl del sobrenadante de cultivo del hibridoma mencionado anteriormente durante 15 minutos a 4°C. Las células se lavaron una vez con tampón FACS (FBS + PBS al 1%) y después se centrifugaron para eliminar el sobrenadante. A continuación se hicieron reaccionar 2 µg/ml de un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE a 4°C durante 20 minutos. Las células se lavaron una vez con un tampón FACS y se centrifugaron. El sedimento celular se volvió a suspender mediante un tampón FACS y se analizó mediante Calibur. Como resultado, 2G6, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 14A8, 55E7, 13G5 y 16H2 en el sobrenadante de cultivo de hibridoma reaccionaron bien con CAL-1. Por otra parte, 28G10 y 9D2 reaccionaron poco (FIG. 6).

A-5) Escrutinio mediante FACS utilizando pDC de sangre periférica humana

[Aislamiento de PBMC humanas]

Se recogieron 20 ml de sangre periférica de un ser humano sano y se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) mediante centrifugación por gravedad específica utilizando HISTOPAQUE-1077 (SIGMA). Se tiñeron con cada muestra 1×10^6 PBMC. Las células se lavaron con un tampón FACS, se añadió un reactivo de bloqueo de Fc (Miltenyi) por 25 μ l mediante dilución 1:5 y se realizó una reacción a 4°C durante 15 minutos. Después de lavar con un tampón FACS, se añadieron 50 μ l del sobrenadante del cultivo celular de cada hibridoma, 10 μ g/ml de una IgG de cabra, un pAb anti-hPTPRS y una IgG2a, κ de ratón y se realizó una reacción a 4°C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón FACS, se añadieron 8 μ g/ml de un anticuerpo anti-IgG de cabra marcado con FITC o 2 μ g/ml de un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con PE y se realizó una reacción a 4°C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón FACS, se hicieron reaccionar 50 μ l de un anticuerpo anti-BDCA2 marcado con APC mediante dilución 1:10 a 4°C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón FACS, la célula se resuspendió en 300 μ l de un tampón FACS y se analizó mediante FACS Calibur. Como resultado, 2G6, 28G10, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 14A8, 55E7 y 13G5 mostraron una reacción de unión específica para la población de células pDC. 9D2 mostró unión a pDC, y también mostró reacciones con el grupo celular distinto de pDC (BDCA2-). 16E1 H2 no mostró una reacción para las PBMC (FIG. 7).

Ensayo sobre la especificidad del anticuerpo anti-PTPRS

La PTPRS pertenece a la familia PTPR y las secuencias de aminoácidos de las diversas moléculas familiares de la misma tienen una alta homología frente a la secuencia de aminoácidos de PTPRS (FIG. 8).

A-6) Se examinó si las 10 clases de sobrenadantes de cultivos celulares de hibridoma que generan un anticuerpo que reconoce PTPRS y se une específicamente a pDC humana (2G6, 4B2, 2G2, 9H5, 10F7, 22H8, 49F2, 14A8, 55E7, 13G5) se unen específicamente o no sólo a PTPRS. Las células transfectadas de PTPRA (40%), PTPRD (76%) y PTPRF (67%) que tuvieron específicamente alta homología con PTPRS se prepararon expresando una etiqueta FLAG en el extremo N terminal de la molécula y se tiñeron. La expresión de hPTPRE en las células transfectadas fue confirmada mediante Transferencia Western, pero la expresión en la superficie celular no pudo ser confirmada. Por lo tanto, la hPTPRE no se expresa en la superficie celular. Como resultado, 4B2 reaccionó con hPTPRD (FIG. 9C), y 2G6 mostró reactividad cruzada con hPTPRF (FIG. 9D). Otros 8 tipos de anticuerpos mostraron unión específica a PTPRS (Figuras 9A-D).

A-7) Reactividad cruzada del anticuerpo anti-PTPRS contra mono

Se aislaron las PBMC de un mono cynomolgus a partir de sangre periférica (10 ml, Shin-Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.) mediante centrifugación por gravedad específica utilizando HISTOPAQUE-1077 (SIGMA). Para FACS, se utilizaron 5×10^5 células por muestra. Las células se lavaron con un tampón FACS y se añadieron 10 μ l de suero de cynomolgus al 10% diluido con un tampón FACS y se llevó a cabo la reacción a 4°C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón FACS, se añadieron 100 μ l del sobrenadante del cultivo celular de cada hibridoma y 10 μ g/ml de IgG2a, κ de ratón o IgG1, κ de ratón, (BioLegend) y se llevó a cabo una reacción a 4°C durante 15 minutos. Después de lavar con un tampón FACS, se añadió 1 μ g/ml de un anticuerpo anti-IgG de ratón marcado con APC (BD) y se llevó a cabo una reacción a 4°C durante 20 minutos. Después de lavar con un tampón FACS, se hicieron reaccionar a 4°C durante 15 minutos un anticuerpo anti-Lineage marcado con FITC (BD), un anticuerpo anti-CD 123 marcado con PE (BD) y un anticuerpo anti-HLA-DR marcado con PerCP7Cy5.5 (BD) por 25 μ l por dilución de 1:10. Después de lavar con un tampón FACS, las células se resuspendieron en 300 μ l de un tampón FACS y se analizaron mediante un FACS Calibur. Como sobrenadantes del cultivo de hibridomas utilizados, se seleccionaron 7 tipos: 49F2, 55E7, 14A8, 13G5, 10F7, 22H8 y 9H5 que son específicos de PTPRS y se unen bien a una célula CAL-1 y pDC humana. Como resultado, todos los sobrenadantes de cultivo celular de hibridoma se unieron específicamente al grupo de población de pDC (Linaje-CD 123+HLA-DR+) del mono cynomolgus (FIG. 10).

A-8) Individualización de hibridomas

Los 7 tipos de hibridomas mencionados anteriormente (49F2, 55E7, 14A8, 13G5, 10F7, 22H8 y 9H5) se recogieron cada uno y se suspendieron en un tampón de clasificación (FBS/PBS al 1%) para convertirse en 1×10^5 células/ml. Usando FACS Aria (BD), se realizó la clasificación de células individuales. Se recolectaron los datos y los datos recolectados se desarrollaron mediante un gráfico bidimensional de puntos del eje X: FSC y eje Y:SSC. Las células vivas se confinaron en la parcela de puntos. Se llevó a cabo la selección mediante establecimiento de ventanas de análisis para retirar los dobletes de la célula en la ventana de análisis de la célula viva, y la población de células se dispensó a una placa de fondo plano de 96 pocillos para que fuera de 1 célula/pocillo. La célula sometida a la clasificación de células individuales se cultivó en un medio HAT (RPMI1640+L-Glutamina 2 mM, 100 Unidades/ml de Penicilina, 100 μ g/ml de Estreptomina, HEPES 10 mM, Piruvato Sódico 1 mM y 2-ME 50 μ M) + un suplemento de crecimiento de hibridomas HFCS (Roche). Después de eso se tiñeron la célula D2SC y la célula hPTPRS/D2SC (FIG. 11A y B), la célula CAL-1 (FIG. 11C) y la pDC humana (FIG. 11D) utilizando el sobrenadante del cultivo celular del hibridoma y se seleccionó un único hibridoma.

Ejemplo 3

Purificación del anticuerpo

5 Se obtuvieron ocho tipos de anticuerpos purificados (9H5-4, 10F7-38, 13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84, 49F2-30 y 55E7-79) del sobrenadante de cultivo de los hibridomas mediante purificación utilizando Proteín G Sepharose FastFlow (GE Healthcare). Utilizando el kit de isotipificación de mAb de ratón ELISA rápido de Pierce (Thermo Fisher Scientific), se determinaron los isotipos. Como resultado, 13G5-52 y 13G5-57 fueron IgG2b,κ de ratón, 55E7-79 tuvo tanto IgG2b, κ de ratón, e IgG1, κ de ratón, y otros fueron IgG1, κ de ratón. Si el anticuerpo purificado incluye endotoxina, puede afectar el resultado de un ensayo de determinación de propiedades. Por lo tanto, se midió la concentración de endotoxina. Los kits utilizados fueron el conjunto Endospecy ES-50M, el conjunto Toxicolor DIA-MP y el conjunto de producto patrón de Endotoxina CSE-L (todos de Seikagaku Biobusiness Corporation). Como resultado de ello, todos los anticuerpos purificados tenían una concentración de endotoxina igual o menor que el valor patrón de 0,3 UE/mg de Ab (FIG. 12).

15 Estudio sobre la reactividad del anticuerpo purificado

Las capacidades de unión de los anticuerpos purificados se confirmaron mediante una célula CAL-1 de la cepa de células de tipo pDC humana (FIG. 13). Además, todos los anticuerpos mantenían una capacidad de unión contra la población humana de pDC de sangre periférica humana (BDCA2 +) (FIG. 14).

La homología de la secuencia de aminoácidos de PTPRS humana frente a PTPRS de ratón (mPTPRS) es de aproximadamente 96%. Debido a que son notablemente similares entre sí, se estudió si el anticuerpo anti-PTPRS preparado también se une a PTPRS de ratón. Una célula CHO en la que se había expresado de forma forzada el gen de mPTPRS (célula de ovario de hámster chino, en lo sucesivo denominada mPTPRS/CHO) se tiñó con 10 μg/ml de cada anticuerpo anti-PTPRS. El número de células fue de 2×10^5 por muestra. Después de lavar con un tampón FACS, se diluyó 50 veces un anticuerpo anti-IgG ratón marcado con PE y se tiñó con 25 μl. Como resultado, 49F2-30, 13G5-52, 13G5-57 y 22H8-84 se unieron a mPTPRS/CHO (FIG. 15).

Ejemplo 4

Citotoxicidad celular dependiente del complemento del anticuerpo anti-PTPRS frente a una célula que expresa hPTPRS

35 Utilizando suero de cría de conejo como fuente de complemento, se midió la citotoxicidad celular dependiente del complemento (denominada en lo sucesivo actividad de CDC) del anticuerpo anti-PTPRS frente a una célula CHO que expresa PTPRS humana (denominada en lo sucesivo hPTPRS/CHO) y una célula PTPRS/CHO de ratón (denominada en lo sucesivo mPTPRS/CHO). La actividad se obtuvo utilizando toxicidad celular que se calculó a partir de un valor medido de lactasa deshidrogenasa (LDH) liberada de la célula como índice. Cada célula se dispensó a una placa de fondo en U de 96 pocillos a 2×10^4 células/50 μl/pocillo. Se preparó un Complemento al 18% (CEDARLANE) con un medio CDC (RPMI 1640 + BSA al 0,1% + HEPES 10 mM + L-Glutamina 2 mM + 100 Unidad/ml de Penicilina + 100 μg/ml de Estreptomocina). Se prepararon dos clases: 3,3 μg/ml y 30 μg/ml para un anticuerpo de control (IgG1, κ de ratón o IgG2b, κ de ratón) y un anticuerpo anti-PTPRS. Se realizó un ensayo utilizando un kit de Ensayo de Citotoxicidad No Radioactiva CytoTox 96 (Promega). Como resultado, 13G5-52 y 13G5-57 mostraron aproximadamente 20% de actividad CDC frente a la diana de hPTPRS/CHO (FIG. 16A). Por otra parte, 13G5-52 y 13G5-57 mostraron aproximadamente 100% de actividad CDC contra la diana de mPTPRS/CHO (FIG. 16B).

Ejemplo 5

Preparación de anticuerpo quimérico

Como hibridoma para la producción de un anticuerpo anti-PTPRS de ratón, se utilizó el siguiente.

55 Hibridoma 9H5-4 (Núm. de acceso: FERM BP-11356)
 Hibridoma 10F7-38 (Núm. de acceso: FERM BP-11357)
 Hibridoma 13G5-52 (Núm. de acceso: FERM BP-11358)
 Hibridoma 13G5-57 (Núm. de acceso: FERM BP-11359)
 Hibridoma 14A8-85 (Núm. de acceso: FERM BP-11360)
 60 Hibridoma 22H8-84 (Núm. de acceso: FERM BP-11361)
 Hibridoma 49F2-30 (Núm. de acceso: FERM BP-11362)

1. Confirmación del isotipo de la región constante

Se confirmó el isotipo de la región constante de cada uno de los anticuerpos de ratón producidos a partir de siete hibridomas (9H5-4,10F7-38,13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30).

5 Para la confirmación, se utilizó un kit de isotipificación de anticuerpo monoclonal de ratón (Núm. de catálogo: MMT1, Serotec Product, Oxford, UK) o kit de isotipificación de mAb de ratón Pierce Rapid ELISA (Thermo Fisher Scientific), y se utilizaron tales sobrenadantes de cultivo de hibridoma 9H5-4,10F7-38,13G5-52, 13G5-57, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30 como muestra.

10 Como resultado, el isotipo de los anticuerpos producidos por los hibridomas 13G5-52 y 13G5-57 era un isotipo que incluía IgG2b de ratón como cadena pesada y κ como cadena ligera. Por otra parte, el isotipo de los anticuerpos producidos por los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30 era un isotipo que incluía IgG1 de ratón como cadena pesada y κ como cadena ligera.

15 2. Clonación de ADNc que codifica la región variable del anticuerpo anti-PTPRS de ratón

2-1) Aislamiento del ARN total

20 Utilizando un kit disponible comercialmente "RNeasy Mini Kit" (Qiagen, Núm. de catálogo: 74106), se aisló el ARN total de siete hibridomas de acuerdo con la instrucción adjunta al kit. Se obtuvieron aproximadamente 30 μ g del ARN total mediante preparación a partir de la cepa de células de hibridoma de número de celular 5×10^6 .

2-2) Amplificación y fragmentación de ADNc que codifica la región variable de cadena pesada de ratón

25 Utilizando 5 μ g del ARN total aislado en el apartado 2-1), el ADNc que codifica para la región variable de la cadena pesada de ratón se amplificó mediante el procedimiento de PCR 5' RACE. En la amplificación, se utilizó un kit comercial "5' RACE System for Rapid Amplification of cDNA ENDS, Versión 2.0 Kit" (Invitrogen, Núm. de Catálogo: 18374-058). Los detalles son los siguientes. En primer lugar, se sintetizó un ADNc de primera hebra a partir del ARN total obtenido en 2-1) mediante una transcriptasa inversa. En ese momento, se utilizó el cebador antisentido (GSP1) que se muestra a continuación.

30 El cebador GSP1 utilizado para la amplificación de cDNA se utiliza de acuerdo con el isotipo de cada cadena pesada de ratón. Por ejemplo, se utilizan los siguientes cebadores antisentido para la clonación de la región variable de la cadena pesada de los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30 incluyendo IgG1 de ratón como cadena pesada.

35 Cebador GSP1 : mu IgG1 VH-GSP1

Secuencia : 5' 5'-CCA GGA GAG TGG GAG AGG CTC TTC TCA GTA TGG TGG-3' (36-mero) (SEQ ID NO: 39)

40 Cebador GSP2 : mu IgG1 VH-GSP2

Secuencia : 5'-GGC TCA GGG AAA TAG CCC TTG ACC AGG CAT CC-3' (32-mero) (SEQ ID NO: 40)

45 Asimismo, por ejemplo, pueden utilizarse los siguientes cebadores antisentido para la clonación de la región variable de la cadena pesada de los hibridomas 9H5-4, 10F7-38, 14A8-85, 22H8-84 y 49F2-30 incluyendo IgG1 de ratón como cadena pesada.

50 Cebador GSP1 : mu IgGH γ 1-GSP1

Secuencia : 5'-TCC AGA GTT CCA GGT CAC TGT CAC-3' (24-mero) (SEQ ID NO: 11)

Cebador GSP2 : mu IgG Hy1-GSP2

Secuencia : 5'-AGG GGC CAG TGG ATA GAC AGA TGG-3' (32-mero) (SEQ ID NO:13)

55 Y los siguientes cebadores antisentido se utilizan para la clonación de la región variable de cadena pesada de los hibridomas 13G5-52 y 13G5-57 incluyendo IgG2b de ratón como una cadena pesada.

60 Cebador GSP1 : mu IgGH γ 2B-GSP1

Secuencia : 5'-TCC AGA GTT CCAAGT CAC AGT CAC-3' (24-mero) (SEQ ID NO: 41)

Cebador GSP2 : mu IgG Hy 2B-GSP2

Secuencia : 5'-AGG GGC CAG TGG ATA GAC TGA TGG-3' (24-mero) (SEQ ID NO: 42)

Además, utilizando una desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT) en el extremo 3' del ADNc de la primera hebra, se añadió un homopolímero de nucleótidos dC. Además, utilizando un cebador de anclaje que tiene un polímero de nucleótidos que es complementario a la dC (secuencia de anclaje) (SEQ ID NO: 12), y el cebador antisentido (GSP2), se amplificó el ADNc mediante un procedimiento de PCR. Además, utilizando el producto de PCR obtenido como molde, y utilizando un cebador AUAP (SEQ ID NO: 14) y el cebador antisentido (GSP2), se amplificó el ADNc mediante un procedimiento de PCR anidada. Además, este producto de PCR se purificó mediante un procedimiento de agarosa de bajo punto de fusión al 1,5%.

Cebador de anclaje para 5'RACE (SEQ ID NO: 12): 5'-GGC CAC GCG TCG ACT AGT ACG GGI IGG GII GGG IIG-3' (36-mero)
 AUAP para 5'RACE (SEQ ID NO: 14): 5'-GGC CAC GCG TCG ACT AGT AC-3' (20-mero)

2-3) Amplificación y fragmentación de ADNc que codifica la región variable de cadena ligera de ratón

A partir del ARN total aislado en el apartado 2-1), se amplificó un ADNc que codifica la región variable de la cadena ligera de ratón de una manera similar a 2-2).

Dado que estos siete anticuerpos incluyen la cadena ligera Igk de ratón, se utilizan los siguientes cebadores antisentido para la clonación de la cadena ligera.

Cebador GSP1 : Mu IgVL5RACE-GSP1

Secuencia : 5' 5'-TTC ACT GCC ATC AAT CTT CCACTT-3' (24-mero) (SEQ ID NO: 15)

Cebador GSP2 : Mu IgVL5RACE-GSP2

Secuencia 5'- GAT GGA TAC AGT TGG TGC AGC-3' (21-mero) (SEQ ID NO: 16)

El producto de PCR obtenido se purificó mediante un procedimiento de agarosa de bajo punto de fusión al 1,5%.

2-4) Confirmación de la secuencia de bases del ADNc y determinación de la región CDR

Los fragmentos de ADNc de la región variable de la cadena pesada obtenida en 2-2) y la región variable de la cadena ligera obtenida en 2-3) se clonaron a un vector pCR4Blunt-TOPO utilizando un kit disponible comercialmente "Zero Blunt TOPO PCR Cloning Kit" (Invitrogen, Número de Catálogo: 1325137), de acuerdo con la instrucción adjunta al kit, y se introdujo en una célula competente de E. coli para proporcionar un transformante de E. coli. Se obtuvo un plásmido a partir de este transformante y se envió una muestra de ADN de plásmido a Operon Biotechnology Co. Ltd (Tokio) para el análisis de secuencia para confirmar la secuencia de bases de ADNc en el plásmido. Para los análisis de las secuencias, se utilizaron "Sequencher DNA sequence assembly and analysis software versión 4.2.2 (Gene Codes Corporation)" y "GENETYX-MAC Versión 11. 1.1 "software (GENETYX CORPORATION)".

Los transformantes que se convirtieron en ARN inactivos puesto que se excluyeron el desplazamiento del marco, la mutación sin sentido y similares ocurridos alrededor de una región de determinación de la complementariedad (denominada en lo sucesivo "región CDR") y se extrajeron los transformantes que tenían las secuencias correctas. Además, se confirmaron la base de datos de inmunoglobulinas (IgBLAST, URL: www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/) y la homología para la secuencia de bases de ADNc incluida en el plásmido para determinar las secuencias de la región CDR (CDR; CDR1, CDR2 , CDR3) en cada región variable. La región marco y la secuencia de la región variable se determinaron de acuerdo con el método de análisis utilizando el sistema de numeración de Kabat (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health Publicación Núm. 91-3242, 5ª ed., United States Department of Health and Human Services, Bethesda, MD).

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón anti-PTPRS obtenido fue el SEQ ID NO: 43 y la secuencia de aminoácidos fue el SEC ID NO 44. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón fueron los SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 y SEQ ID NO: 47, respectivamente.

La secuencia de ácido nucleico de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 de ratón anti-PTPRS obtenido es el SEQ ID NO: 48 y la secuencia de aminoácidos es el SEQ ID NO: 49. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 de ratón son los SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51 y SEQ ID NO: 52, respectivamente.

Y las secuencias de ácido nucleico de la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 10F7-38 de ratón anti-PTPRS obtenido y del anticuerpo 14A8-85 fueron las mismas que las del anticuerpo 9H5-4, incluyendo las secuencias de las CDR1, CDR2 y CDR3.

5 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón anti-PTPRS obtenido fue el SEQ ID NO: 53 y la secuencia de aminoácidos fue el SEQ ID NO: 54. Las secuencias de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón fueron los SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56 y SEQ ID NO: 57, respectivamente.

10 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 de ratón anti-PTPRS obtenido es el SEQ ID NO: 58 y la secuencia de aminoácidos es el SEQ ID NO: 59. Las secuencias de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 de ratón son los SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 61 y SEQ ID NO: 62, respectivamente.

15 Y las secuencias de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del anticuerpo 13G5-52 de ratón anti-PTPRS obtenido fueron las mismas que las del anticuerpo 13G5-57, incluyendo las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3.

20 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón anti-PTPRS obtenido fue el SEQ ID NO: 63 y la secuencia de aminoácidos fue el SEQ ID NO: 64. Las secuencias de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón fueron los SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66 y SEQ ID NO: 67, respectivamente.

25 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón anti-PTPRS obtenido es el SEQ ID NO: 68 y la secuencia de aminoácidos es el SEQ ID NO: 69. Las secuencias de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón son los SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 72, respectivamente.

30 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón anti-PTPRS obtenido fue el SEQ ID NO: 25 y la secuencia de aminoácidos fue el SEQ ID NO: 26. Las secuencias de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón son los SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28 y SEQ ID NO: 29, respectivamente.

35 La secuencia de ácido nucleico de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón anti-PTPRS obtenido es el SEQ ID NO: 30, y la secuencia de aminoácidos es el SEQ ID NO: 31. Las secuencias de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 en la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón son los SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34, respectivamente.

40 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico (471pb) de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón anti-PTPRS obtenido (SEQ ID NO: 43). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 9H5-4 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 de ratón.

ATGGAGTTGGGACTGAGCTGGGTATTTCTTGTGGCTCTTTTGAATGGTGTCCAGTGTC
 AGGTGCAGCTTGTAGAGACCGGGGAGGCTTGGTGAGGCCTGGAATTCTCTGAAA
 CTCTCCTGTGTTACCTCGGGATTCACTTTCAGTAACTACCGGATGCACTGGCTTCGCC
 AGCCTCCAGGGAAGAGGCTGGAGTGGATTGCTGTAATTACAGTCAAATCTGATAATTA
 TGGAGCAAATTATGCAGAGTCTGTGAAAGGCAGATTCACTATTTCAAGAGATGATTCA
 AAAAGCAGTGTCTACCTGCAGATGAACAGATTAAGAGAGGAAGACACTGCCACTTAT
 TATTGTAGTAGATCGGTCTACTATGGTTACGTCTAGCCTTTGACTACTGGGGCCAAGG
 CACCACTCTCACAGTCTCCTCAgcca^aaacgacacccccatctgtctatccactggcccctaagggc

45 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos (157 a.a) de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón (SEQ ID NO: 44). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de la región variable VH y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte doblemente subrayada significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MELGLSWVFLVALLNGVQCQVQLVETGGGLVLRPGNSLKLSCVTSGFTFSNYRMHWLRQ
PPGKRLEWIAVITVKSDNYGANYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNRLREEDTATYYC
 SRSVYYGYVLAFDYWGQGTTLTVSSaktppsvyplapkg

5 La CDR1 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 es NYRMH (SEQ ID NO: 45), la CDR2 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 es VITVKSDNYGANYAESVKG (SEQ ID NO: 46), y la CDR3 de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 es SVYYGYVLAFDY (SEQ ID NO: 47).

10 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico (402 pb) de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 de ratón anti-PTPRS obtenido (SEQ ID NO: 48). Las mayúsculas muestran la región variable VH de 9H5-4 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera Ig k de ratón.

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATG
 TGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC
 ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGA
 AACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGT
 CCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAAC
 CTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTGGA
 CGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAacgggctgatgctcaccaact

15 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos (134 a.a) de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 de ratón (SEQ ID NO: 49). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de la región variable VH de 9H5-4 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera Ig k de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte doblemente subrayada significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MMSSAQFLGLLLLCFQGRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK
PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQOGNTLPWTFGG
 GTKLEIKradaapt

20 La CDR1 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 es RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 50), la CDR2 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 es YTSRLHS (SEQ ID NO: 51), y la CDR3 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 es QQGNTLP (SEQ ID NO: 52).

25 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico (465 pb) de la región variable de cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón anti-PTPRS (SEQ ID NO: 53). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 13G5-57 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG2b de ratón.

ATGAACTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTG
 AAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA
 CTCICCTGTGCAACCTCTGGATTCACITTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCCGCA
 GACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGCATAATTAGTAATGGTGGTGGTAGCAC
 CTATTATCCAGACACTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAAC
 ACCCTGTACCTGCAAATGAGCCGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTG
 CAAGACATGTTTACTACGGGAGGAACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCT
 CAGTCACCGTCTCCTCAgccaaacaacacccccatcagtctatccactggcccctaagggc

30 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos (155 a.a) de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón (SEQ ID NO: 54). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de la región variable VH y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG2b de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte doblemente subrayada significa la región CDR (CDR1, CDR2,

CDR3).

MNLGLSLIFLVLVLKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQT
 PEKRLEWVAYISNGGGSTYYPDTVKGRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYCAR
HVYYGRNYAMDYWGQTSVTVSSaktppsvyplapkg

5 La CDR1 de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 es DYYMY (SEQ ID NO: 55), la CDR2 de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 es YISNGGGSTYYPDTVKG (SEQ ID NO: 56), y la CDR3 de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 es HVYYGRNYAMDY (SEQ ID NO: 57).

10 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico (465 pb) de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 de ratón anti-PTPRS obtenido (SEQ ID NO: 58). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 13G5-57 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera Ig k de ratón.

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTG
 AAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA
 15 CTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCACTTTCAGTGACTATTACATGTATTGGGTTCGCCA
 GACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTTCGCATACATTAGTAATGGTGGTGGTAGCAC
 CTATTATCCAGACACTGTAAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAAC
 ACCCTGTACCTGCAAATGAGCCGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTG
 CAAGACATGTTTACTACGGGAGGAACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCT
 CAGTCACCGTCTCCTCAgccaaaacaacacccccatcagtctatccactggcccctaagggc

20 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos (155 a.a) de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 de ratón (SEQ ID NO: 59). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de la región variable VH de 13G5-57 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera Ig k de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte doblemente subrayada significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MMSSAQFLGLLLLCFQGRCDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK
PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGG
 GTKLEIKradaaptvsifppsseqltsggasvvcf

25 La CDR1 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 es RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 60), la CDR2 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 es YTSRLHS (SEQ ID NO: 61), y la CDR3 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 es QQGNTLPY (SEQ ID NO: 62).

30 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico (458 pb) de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón anti-PTPRS (SEQ ID NO: 63). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 22H8-84 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de cadena pesada de IgG1 de ratón.

ATGGAATGTAAGTGGATACTTCCTTTTATTCTGTCTAGTAACTTCAGGTGTCTACTCACA
 GGTTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGCAAGACCTGGGGCTTCAGTGAAGT
 TGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTACTAGCTACTGGATGCAGTGGGTAACA
 GAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGGGCTATTTATCCTGGAGATGGTGATACT
 AGGTACTACTCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGCAGATAAATCCTCCAGC
 ACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCTTGGCATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTG
 CAAGAAGGATTTACTACGGCTATTACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTC
 AGTCACCGTCTCCTCAgccaaaacgacacccccatctgtatccactggcccc

A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos (152a.a) de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón (SEQ ID NO: 64). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de la región variable VH y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte doblemente subrayada significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

5 MECNWILPFISVTSGVYSQVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYWMQWVKQ
RPGQGLEWIGAIYPGDGDTRYTQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCAR
RIYYGYYYAMDYWGQTSVTVSSakttpps^vyla

10 La CDR1 de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 es SYWMQ (SEQ ID NO: 65), la CDR2 de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 es AIYPGDGDTRYTQKFKG (SEQ ID NO: 66), y la CDR3 de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 es RIYYGYYYAMYY (SEQ ID NO: 67).

15 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico (430 pb) de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón anti-PTPRS obtenido (SEQ ID NO: 68). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 22H8-84 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig k de ratón.

ATGGAGACAGACACAATCCTGCTATGGGTGCTGCTGCTCTGGGTTCAGGCTCCACT
 GGTGACATTGTGCTGACCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGG
 CCACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTGATTATGATGGTGATAGTTATATGAA
 CTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAA
 TCTAGAATCTGGGATCCCAGCCAGGTTTAGTGCCAGTGGGCTGGGACAGACTTCAC
 CCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCAAAGT
 AATGAGGATCCTCTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAAcgggctgatgctgc
 accaactgtatccatcaagggcg

20 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos (143 a.a) de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón (SEQ ID NO: 69). Las letras mayúsculas muestran la secuencia de la región variable VH de 22H8-84 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig k de ratón. La parte subrayada significa la secuencia señal y la parte doblemente subrayada significa la región CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

25 METDTILLWVLLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYMNW
YQKPGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDPL
 TFGAGTKLELKradaaptvsikg

La CDR1 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 es KASQSVDYDGDSYMN (SEQ ID NO: 70), la CDR2 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 es AASNLES (SEQ ID NO: 71), y la CDR3 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 es QQSNEEDPL (SEQ ID NO: 72).

30 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón anti-PTPRS (469 pb) (SEQ ID NO: 25). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 49F2-30 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 de ratón.

35 ATGAACTTCGGGCTCAGGTTGATTTTCCTTGCCCTCATTTTAAAAGGTGTCCAGTGTG
 AGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA
 CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAATTTTCAGTAGCTATGGCATGTCTTGGGTTCCGC
 AGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTAGTGAC
 ACCTATTATCCAGACAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAA
 CAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCAGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATT
 ACTGTGCAAGACAGGCTACTATGGTCTTTACTGGTATTTTCGATGTCTGGGGCGCAG
 GGACCACGGTCAACCGTCTCTCAgcca^aaaacgacacccccatgtctatccactggcccctaagggcgaat

A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón (156 a.a) (SEQ ID NO: 26). Las letras mayúsculas muestran el gen de la región variable VH y las

letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 de ratón. Las secuencias subrayadas muestran las secuencias de señal, y las secuencias de doble subrayado muestran las regiones CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MNFGLRLIFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFIFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGSDTYYP
DSVKGRFTISRDNANNTLYLQMSSLKSEDTAMYCARQVYYGLYWFVDVWGAGTTVTVSS akttpsvvplapkg

La CDR1 de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 es SYGMS (SEQ ID NO: 27), la CDR2 de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 es TISSGGSDTYYPDSVKG (SEQ ID NO: 28), y la CDR3 de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 es QVYYGLYWFVDV (SEQ ID NO: 29).

A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón anti-PTPRS obtenido (413 pb) (SEQ ID NO: 30). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 49F2-30 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig κ de ratón.

ATGGAGTCACAGATTCAGGTCTTTGTATTTCGTGTTTCTCTGGTTGTCTGGTGTGACG
 GAGACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGG
 GTCAGCATCATTTGTAAGGCCAGTCAGGATGTGAATACTGCTGTAGCCTGGTATCAA
 CAGAAACCAGGACAATCTCCTAAATTACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACACT
 GGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTCACCATC
 AGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAATTTATTACTGTCAGCAACATTATAGTACT
 CCGTACACGTTCCGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAacgggctgatgctgaccaactgtatcc
 atcaa

A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón (137 a.a) (SEQ ID NO: 31). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 49F2-30 de ratón y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig κ de ratón. Las secuencias subrayadas muestran las secuencias de señal, y las secuencias de doble subrayado muestran las regiones CDR (CDR1, CDR2, CDR3).

MESQIQVVFVFLWLSGVDGDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICKASQDVNTAVAWYQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPD
RFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAIYYCQHYSTPYTFGGGTKLEIK radaaptvsi

La CDR1 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 es KASQDVNTAVA (SEQ ID NO: 32), la CDR2 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 es SASYRYT (SEQ ID NO: 33), y la CDR3 de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 es QQHYSTP (SEQ ID NO: 34).

3. Preparación del vector de expresión del anticuerpo quimerizado

3-1) Clonación de ADNc que codifica la región constante de Ig humana

Los ADNc de una región constante de cadena pesada de IgG1 humana y una región constante de cadena ligera de Ig κ humana se clonaron a partir del ARN total de PBMC humanas, y se clonaron cada uno al vector pCR4Blunt-TOPO y se introdujeron en una célula competente de E. coli utilizando un kit disponible comercialmente "Kit de clonación Zero Blunt TOPO PCR" (Invitrogen, Núm. de Catálogo: 1325137) de acuerdo con las instrucciones adjuntas al kit para proporcionar un transformante de E. coli. El plásmido antes mencionado se obtuvo a partir de este transformante y se envió una muestra de ADN del plásmido a Operon Biotechnology Co., Ltd. (Tokio) para el análisis de secuencias para confirmar la secuencia de bases de ADNc en el plásmido.

3-2) Preparación del vector de expresión del anticuerpo 9H5-4 (10F7-38, 14A8-85) quimerizado

Con el fin de preparar un ADNc que codificaba una cadena pesada de un anticuerpo PTPRS quimerizado, se fusionaron la región variable de cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón obtenido en el apartado 2-2 y el vector pEE6.4 (Lonza Biologics, Slough, UK) al que había incorporado la región constante de la cadena pesada de IgG humana y la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón se amplificó mediante el método de PCR y se obtuvo el producto de PCR que tenía una longitud de aproximadamente 450 bases. En ese momento, los cebadores eran los siguientes. El producto de PCR obtenido se purificó mediante un procedimiento de agarosa de bajo punto de fusión al 1,5%.

El cebador para expresar la cadena pesada en el anticuerpo 9H5-4 quimérico

1) Cebador directo : chi10F7VH-IF (Hind3)

Secuencia : 5' ttt AAG CTT gcc gcc acc ATG GAG TTG GGA CTG AGC TGG 3' (39-mero) (SEQ ID NO: 73)

2) Cebador inverso : chi10F7VH-462R (ApaI)

Secuencia : 5' cga tgg gcc ctt ggt get age TGA GGA GAC TGT GAG AGT GGT 3' (42-mero) (SEQ ID NO: 74)

5 Se obtuvo "un producto de PCR que codificaba la región variable de cadena pesada 9H5-4" a partir de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 de ratón obtenida en el apartado 2-2 mediante el procedimiento de PCR. El producto de PCR que codificaba la región variable de cadena pesada 9H5-4 se digirió con Hind III y una enzima de restricción Apa I y se purificó mediante un procedimiento de gel de agarosa al 1,5%. Esto se disolvió con ddH₂O para proporcionar una solución de un fragmento de ADNc que codificaba la región variable de cadena pesada.

15 La región codificante de V_H de 9H5-4 del ADNc obtenido se amplificó mediante PCR a partir de un clon del plásmido pCR4Blunt-TOPO que incluía la región codificante de V_H del 9H5-4, utilizando los cebadores chi10F7VH-IF (Hind3) y chi10F7VH-462R (ApaI) en los cuales se habían introducido sitios de restricción preferibles para la clonación en un vector pEE6.4 (Lonza Biologics, Slough, UK) (Hind III y ApaI) y una secuencia de Kozak ideal (GCCGCCACC) utilizando Hind III y ApaI como sitios de clonación. El vector chi9H5-4VH-pEE6.4 incluye una región constante de cadena pesada de IgG1 humana. El fragmento de PCR de V_H se insertó en el vector pEE6.4 en marco utilizando Hind III y ApaI. El constructo se investigó mediante un análisis de secuencia de bases de ADNc y se envió una muestra de ADN de plásmido a Operon Biotechnology Co., Ltd. (Tokio) para el análisis de secuencias para confirmar la secuencia de bases de ADNc en el plásmido.

25 Con el fin de preparar un ADNc que codifica una cadena ligera de un anticuerpo 9H5-4 quimerizado, el producto de PCR se amplificó en una longitud de aproximadamente 730 bases mediante una técnica basada en la PCR de extensión de solapamiento del fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 obtenida en el apartado 2-3 y la región constante de la cadena ligera de Ig κ humana obtenida en el apartado 3-2.

30 El producto de PCR que codifica la región variable de la cadena ligera 9H5-4 se digirió mediante Hind III y una enzima de restricción EcoRI, y se purificó mediante un procedimiento de gel de agarosa al 1,5%. Esto se disolvió en ddH₂O para proporcionar una solución de un fragmento de ADNc que codifica la región variable de cadena ligera.

35 El ADNc que codifica V_L de 9H5-4 obtenido se amplificó mediante PCR a partir de un clon del plásmido pCR4Blunt-TOPO que incluía la región V_L de 9H5-4 utilizando los cebadores chi11G9VL-IF (Hind) y chi11G9VL-726R (RI) en los que se habían introducido sitios de restricción (Hind III y EcoRI) preferibles para la clonación en un vector pEE 14.4 (Lonza Biologics) y una secuencia ideal de Kozak. El vector Chi9H5-4VL-pEE14.4 incluye una región constante de cadena ligera kappa. El fragmento de PCR de V_L se insertó en el vector pEE14.4 en marco utilizando Hind III y EcoRI. El constructo se investigó mediante un análisis de secuencia de bases de ADNc. El cebador para expresar la cadena ligera en el anticuerpo 9H5-4 quimérico

40 1) Cebador directo : chi11G9VL-IF (Hind)
Secuencia : 5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG ATG TCC TCT GCT CAG TTC 3' (39-mero) (SEQ ID NO: 75)

2) Cebador inverso : chi11G9VL-408R
Secuencia : 5' agc cac agt tcg TTT GAT TTC CAG CTT GGT GCC 3' (33-mero) (SEQ ID NO: 76)

45 3) Cebador directo : chi11G9VL-385F
Secuencia : 5' CTG GAAATC AAA cga act gtg gct gca cca tct 3' (33-mero) (SEQ ID NO: 77)

4) Cebador inverso : chi11G9VL-726R (RI)
Secuencia : 5' aaa GAA TTC cta gca ctc tcc cct gtt gaa 3' (30-mero) (SEQ ID NO: 78)

50 3-2) Preparación del vector de expresión del anticuerpo 13G5-57 (13G5-52) quimerizado

Con el fin de preparar un ADNc que codifica una cadena pesada de un anticuerpo PTPRS quimerizado, se fusionaron la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 de ratón obtenida en el apartado 2-2 y el vector pEE6.4 (Lonza Biologics, Slough, UK) en el que se había incorporado la región constante de la cadena pesada de IgG humana. En un método similar al anticuerpo 9H5-4, se obtuvo el producto de PCR y se purificó. En ese momento, los cebadores eran los siguientes.

El cebador para expresar la cadena pesada en el anticuerpo quimérico 13G5-57

60 1) Cebador directo : chi13G5.57VH-IF (Hind3)
Secuencia : 5' ttt AAG CTT gcc gcc acc ATG AAC TTG GGG CTC AGC TTG 3' (39-mero) (SEQ ID NO: 79)

2) Cebador inverso: chi13G5.57VH-456R (ApaI)
Secuencia : 5' cga tgg gcc ctt ggt gct agc TGA GGA GAC GGT GAC TGA GGT 3' (42-mero) (SEQ ID NO: 80)

Con el fin de preparar un ADNc que codifica una cadena ligera de un anticuerpo 13G5-57 quimerizado, el producto

de PCR se amplificó en una longitud de aproximadamente 730 bases mediante una técnica basada en la PCR de extensión de solapamiento del fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de la cadena del anticuerpo 13G5-57 de ratón obtenida en el apartado 2-3 y la región constante de la cadena ligera de Ig k humana obtenida en el apartado 3-2.

5

El cebador para expresar la cadena ligera en el anticuerpo quimérico 13G5-57

1) Cebador directo : chi11G9VL-IF (Hind)
Secuencia : 5' acc AAG CTT gcc gcc ATG ATG TCC TCT GCT CAG TTC 3' (39-mero) (SEQ ID NO: 81)

10

2) Cebador inverso : chi11G9VL-408R
Secuencia : 5' agc cac agt tcg TTT GAT TTC CAG CTT GGT GCC 3' (33-mero) (SEQ ID NO: 82)

3) Cebador directo: chi11G9VL-385F
Secuencia : 5' CTG GAA ATC AAA cga act gtg gct gca cca tct 3' (33-mero) (SEQ ID NO: 83)

15

4) Cebador inverso : chi11G9VL-726R (RI)
Secuencia : 5' aaa GAA TTC cta gca ctc ccc cct gtt gaa 3' (30-mero) (SEQ ID NO: 84)

De una manera similar a la preparación de vectores de expresión de anticuerpo 9H5-4 quimerizado, se prepararon vectores de expresión para tales cadena pesada y cadena ligera de anticuerpo 13G5-57 quimérico.

20

3-2) Preparación del vector de expresión del anticuerpo 22H8-84 quimerizado

Con el fin de preparar un ADNc que codifica una cadena pesada de un anticuerpo PTPRS quimerizado, se fusionaron la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 de ratón obtenido en el apartado 2-2 y el vector pEE6.4 (Lonza Biologics, Slough, UK) en el que se había incorporado la región constante de la cadena pesada de IgG humana. En un método similar al del anticuerpo 9H5-4, se obtuvo el producto de PCR y se purificó. En ese momento, los cebadores eran los siguientes.

25

El cebador para expresar la cadena pesada en el anticuerpo quimérico 22H8-84

1) Cebador directo : chi22H8VH-IF (Hind3)
Secuencia : 5' ttt AAG CTT gcc gcc acc ATG GAA TGT AAC TGG ATA CTT 3' (39-mero) (SEQ ID NO: 85)

30

2) Cebador inverso : chi22H8VH-456R (ApaI)
Secuencia : 5' cga tgg gcc ctt ggt gct agc TGA GGA GAC GGT GAC TGA GGT 3' (42-mero) (SEQ ID NO: 86)

Con el fin de preparar un ADNc que codifica una cadena ligera de un anticuerpo 22H8-84 quimerizado, el producto de PCR se amplificó en una longitud de aproximadamente 730 bases mediante una técnica basada en la PCR de extensión de solapamiento del fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 de ratón obtenida en el apartado 2-3 y la región constante de la cadena ligera de Ig k humana obtenida en el apartado 3-2.

35

El cebador para expresar la cadena ligera en el anticuerpo quimérico 22H8-84

1) Cebador directo : chi22H8VL-IF (Hind)
Secuencia : 5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG GAG ACA GAC ACAATC CTG 3' (39-mero) (SEQ ID NO: 87)

45

2) Cebador inverso : chi22H8VL-420R
Secuencia : 5' agc cac agt tcg TTT CAG CTC CAG CTT GGT CCC 3' (33-mero) (SEQ ID NO: 88)

3) Cebador directo : chi22H8VL-397F
Secuencia : 5' CTG GAG CTG AAA cga act gtg gct gca cca tct 3' (33-mero) (SEQ ID NO: 89)

50

4) Cebador inverso: chi49F2VL-726R (RI)
Secuencia : 5' aaa GAA TTC cta gca ctc tcc cct gtt gaa 3' (30-mero) (SEQ ID NO: 90)

De una manera similar a la preparación de vectores de expresión de anticuerpo 9H5-4 quimerizado, se prepararon vectores de expresión para tales cadena pesada y cadena ligera de anticuerpo 22H8-84 quimerizado.

55

3-2) Preparación de ADNc que codifica la cadena pesada de anticuerpo PTPRS quimerizado

Con el fin de preparar un ADNc que codifica una cadena pesada de un anticuerpo PTPRS quimérico, los dos fragmentos de PCR se alteraron mediante un procedimiento basado en un procedimiento de PCR de extensión de solapamiento en un fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón obtenido en el apartado 2-2 y la región constante de cadena pesada de IgG humana obtenida en el apartado 3-1 y el producto de PCR se amplificó en una longitud de 1434 bases mediante un método que permite la formación parcial de una molécula de doble filamento como resultado de una operación híbrida. En ese momento, los cebadores (SEQ ID NOS: 17 a 24) eran los que se muestran en la Tabla 1. El producto de PCR obtenido se purificó mediante un procedimiento de agarosa de bajo punto de fusión al 1,5%.

60

Tabla 1

	Nombre del cebador	Secuencia
Cebador para expresar la cadena pesada en el anticuerpo quimérico 49F2-30		
1)	chi49F2VH-IF(Hind3)	5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG AAC TTC GGG CTC AGG TTG 3' (39-mero)
2)	chi49F2VH-447R	5' ctt ggt gct agc TGA GGA GAC GGT GAC CGT GGT 3' (33-mero)
3)	chi49F2VH-424F	5' ACC GTC TCC TCA gct agc acc aag ggc cca tcg 3' (33-mero)
4)	chi49F2VH-1434R(RI)	5' ttt GAA TTC tca ttt acc cgg aga cag gga 3' (30-mero)
Cebador para expresar la cadena ligera en el anticuerpo quimérico 49F2-30		
5)	chi49F2VL-IF(Hind)	5' acc AAG CTT gcc gcc acc ATG GAG TCA CAG ATT CAG GCT 3' (33-mero)
6)	chi49F2VL-408R	5' agc cac agt tcg TIT TAT TTC CAG CTT GGT CCC 3' (33-mero)
7)	chi49F2VL-385F	5' CTG GAA ATA AAA cga act gtg gct gca cca tct 3' (33-mero)
8)	chi49F2VL-726R(RI)	5' aaa GAA TTC cta gca ctc tcc cct gtt gaa 3' (30-mero)

Hay una región en la que el ADNc se solapa con la región variable de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 de ratón obtenida en el apartado 2-2 y la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana obtenida en el apartado 3-1. Por lo tanto, utilizando esta región, se obtuvo "un producto de PCR que codifica la región variable de cadena pesada de 49F2-30" mediante un procedimiento de PCR de extensión de solapamiento. El producto de PCR que codifica la región variable de la cadena pesada de 49F2-30 se digirió con Hind III y una enzima de restricción EcoR I y se purificó mediante un procedimiento de gel de agarosa al 1,5%. Esto se disolvió con ddH₂O para proporcionar una solución de un fragmento de ADNc que codifica la región variable de cadena pesada.

La región codificante de V_H de 49F2-30 del ADNc obtenido se amplificó mediante PCR a partir de un clon del plásmido pCR4Blunt-TOPO que incluía la región codificante de V_H de 49F2-30, utilizando los cebadores chi49F2VH-IF (Hind3) y chi49F2VH-1434R (RI) en los cuales se habían introducido sitios de restricción preferibles para la clonación en un vector pEE6.4 (Lonza Biologics, Slough, Reino Unido) (Hind III y EcoRI) y una secuencia ideal de Kozak (GCCGCCACC) utilizando Hind III y EcoRI como sitios de clonación. El vector chi49F2VH-pEE6.4 incluye una región constante de cadena pesada de IgG1 humana. El fragmento de PCR de V_H se insertó en el vector pEE6.4 en marco utilizando Hind III y EcoRI. El constructo se investigó mediante un análisis de secuencia de bases de ADNc.

3-3) Preparación de ADNc que codifica para la cadena ligera del anticuerpo PTPRS quimerizado

Con el fin de preparar un ADNc que codifica una cadena ligera de un anticuerpo PTPRS quimerizado, el producto de PCR se amplificó en una longitud de 726 bases mediante una técnica basada en PCR de extensión de solapamiento del fragmento de PCR en el que se habían fusionado la región variable de cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 de ratón obtenida en el apartado 2-3 y la región constante de la cadena ligera de Ig κ humana obtenida en el apartado 3-2.

El producto de PCR que codifica la región variable de cadena ligera de 49F2-30 se digirió con Hind III y una enzima de restricción EcoRI, y se purificó mediante un procedimiento de gel de agarosa al 1,5%. Esto se disolvió en ddH₂O para proporcionar una solución de un fragmento de ADNc que codifica la región variable de cadena ligera.

El ADNc que codifica V_L de 49F2-30 obtenido se amplificó mediante PCR a partir de un clon del plásmido pCR4Blunt-TOPO que incluía la región V_L de 49F2-30 utilizando los cebadores chi49F2VL-IF (Hind) y chi 49F2VL-726R (RI) en los que se habían introducido sitios de restricción (Hind III y EcoRI) preferibles para la clonación en un vector pEE14.4 (Lonza Biologics) y una secuencia ideal de Kozak. El vector Chi49F2VL-pEE14.4 incluye una región constante de cadena ligera kappa. El fragmento de PCR de V_L se insertó en el vector pEE14.4 en marco utilizando Hind III y EcoRI. El constructo se investigó mediante un análisis de secuencia de bases de ADNc.

3-4) Construcción del vector de expresión de Lonza de doble gen del anticuerpo PTPRS quimerizado

Se construyó un vector de expresión de Lonza de anticuerpo PTPRS quimérico (gen doble) en el que se habían combinado el vector de expresión de la cadena pesada del anticuerpo PTPRS quimerizado y el vector de expresión de la cadena ligera del anticuerpo PTPRS quimerizado en un vector de gen doble mediante una tecnología de clonación convencional.

4. Expresión transitoria en células HEK-293F

Se utilizaron los siguientes ADN del vector de expresión transitoria (80 µg).

- 1) ADN del vector chi9H5-4VH/VL DG Lonza
- 2) ADN del vector chi13G5-57VH/VL DG Lonza
- 3) ADN del vector chi22H8-84VH/VL DG Lonza
- 4) ADN del vector chi49F2-30VH/VL DG Lonza

El día anterior de la transfección, una célula 293F se ajustó a 80 ml a 8×10^5 células/ml en un matraz Erlenmeyer de 250 ml (Corning Núm. 431144), y se cultivó agitando en condiciones de 37°C y una concentración de CO₂ del 8% durante 7 días.

Después del cultivo durante 7 días, se recogió un líquido de cultivo de una célula 293F que había sido sometida a transfección en un tubo de 50 mL y se centrifugó bajo condiciones de 2.070 g y 4°C durante 5 minutos. El sobrenadante se filtró mediante un filtro de jeringa (Núm. de catálogo 431220; CORNING) que tenía un tamaño de poro de 0,45 µm, y los sobrenadantes de cultivo se reunieron.

5. Purificación de anticuerpo quimerizado anti-PTPRS

Los anticuerpos 9H5-4, 13G5-57, 22H8-84 y 49F2-30 quimerizados se purificaron mediante cromatografía de afinidad con proteína A. Cada uno de los líquidos de anticuerpo bruto obtenidos en el apartado 4. se purificó mediante una columna de afinidad de proteína A (rProtein A Sepharose Fast Flow (Núm. de Catálogo 17-1279-01; 311272; GE Healthcare). Las condiciones de la columna son las siguientes. La purificación de afinidad se llevó a cabo utilizando un tampón de unión (Fosfato Sódico 20 mM, NaCl 0,15 M, pH 7,4) y un tampón de elución (Glicina-HCl 0,1 M, pH 2,7). El pH de la fracción eluida se ajustó a aproximadamente 7,2 añadiendo un tampón neutralizante (Tris-HCl 1 M de pH 9,5). Con el fin de sustituir el tampón del anticuerpo purificado por PBS, se reemplazó el tampón utilizando la unidad de diálisis Slide-A-Lyzer MINI 10kMWCO.

La concentración del anticuerpo purificado se calculó midiendo la absorbancia a 280 nm y definiendo 1 mg/l como 1,38 DO.

El anticuerpo quimerizado anti-PTPRS purificado (ch9H5-4Ab, ch13G5-57Ab, ch22H8-84Ab y ch49F2-30Ab) se analizó mediante SDS-PAGE y un procedimiento de Citometría de flujo.

Las secuencias de ácido nucleico y las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 quimera preparado se representan respectivamente mediante los siguientes números de secuencia.

Cadena pesada	Cadena ligera
SEQ ID NO: 91	SEQ ID NO: 93
(Secuencia de ácido nucleico)	(Secuencia de ácido nucleico)
SEQ ID NO: 92	SEQ ID NO: 94
(Secuencia de aminoácidos)	(Secuencia de aminoácidos)

A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo quimera 9H5-4 anti-PTPRS (1419 pb) (SEQ ID NO: 91). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 9H5-4 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana.

ATGGAGTTGGGACTGAGCTGGGTATTTCTTGIGGCTCTTTTGAATGGTGTCCAGTGTG
 AGGTGCAGCTTGTAGAGACCGGGGGAGGCTTGGTGAGGCCTGGAAATTCTCTGAAA
 CTCTCCTGTGTTACCTCGGGATTCACTTTACAGTAACTACCGGATGCACTGGCTTCGCC
 AGCCTCCAGGGAAGAGGCTGGAGTGGATTGCTGTAATTACAGTCAAATCTGATAATTA
 TGGAGCAAATTATGCAGAGTCTGTGAAAGGCAGATTCACTATTTCAAGAGATGATTCA
 AAAAGCAGTGTCTACCTGCAGATGAACAGATTAAGAGAGGAAGACACTGCCACTTAT
 TATTGTAGTAGATCGGTCTACTATGGTTACGTCCTAGCCTTTGACTACTGGGGCCAAGG
 CACCACTCTCACAGTCTCCTCAgctagcaccaagggcccatcggtcttccccctggcacctcctccaagagcacctc
 tgggggcacagcggccctgggctgcctggtaaggactactccccgaaccgggtgacgggtgctggaactcaggcgcctgaccagg
 ggcgtgcacaccttccggctgtctacagtctcaggactctactccctcagcagcgtggtagaccgtgccctccagcagcttgggcaccc
 agacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtggacaagaaagttgagccaaatcttggacaaaactcacacat
 gcccaccgtgccagcacctgaactcctggggggaccgtcagcttctcttccccccaaaaccaaggacaccctcatgatctccgggac
 cctgaggtcacatgctggtggtggagcgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcata
 atgccaagacaagccgcgaggagcagtagacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat
 ggcaaggagtacaagtgcaaggtctcaacaaagccctcccagccccatcgagaaaacctctcaaagccaaaggcagccccgag
 aaccacaggtgtacacctgccccatccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgctgtaaggtcttatcca
 gcgacatcgccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctt
 ctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccggtgatgcatgaggctctgcacaac
 cactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaatga

5 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 quimera anti-PTPRS (472 a.a.) (SEQ ID NO: 92). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 9H5-4 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana.

MELGLSWVFLVALLNGVQCQVQLVETGGGLVLRPGNSLKLSCVTSGFTFSNYRMHWLRQ
 PPGKRLEWIAVITVKSADNYGANYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNRLREEDTATYYCS
 RSVYYGYVLAFDYWGQGTTLTVSSastkgpsvflapsskstsggtaalglvkdypfpvvtvswngaltsghvhtf
 pavlqssgylsllsvvtvpssslgtqtyicvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtppcpapellggpsvflfppkpkdtlmsrtpvt
 cvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqpre
 pqvytlppsrdeltnqvslclvkgfypsdiavewesngqpennyktpvldsdgsfflyskltdksrwqqgnvfscsvmhealth
 nhytqkslslspgk

10 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 quimera anti-PTPRS (705 pb) (SEQ ID NO: 93). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 9H5-4 quimera y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig k humana.

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATG
 TGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC
 ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGA
 AACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGT
 CCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAAC
 CTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTGGA
 CGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACgaactgtggctgcaccatctgtctcatctcccgccatct
 gatgagcagttgaaacttgaaactgcctctgtgtgtgcctgctgaataactctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataac
 gccctccaatcgggtaactcccaggagaggtcacagagcaggacagcaaggacacacctacagcctcagcagcacctgacgctga
 gcaaagcagactacgagaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacagg
 ggagagtgctag

A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 quimera anti-PTPRS (234 a.a.) (SEQ ID NO: 94). Las letras mayúsculas muestran la región variable de VL de 9H5-4 quimera y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig κ humana.

5

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK
 PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGG
 GTKLEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfyreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqskdstyslstltskadye
 khkvyacevthqglsspvtksfnrgec

<13G5-57>

10 Las secuencias de ácido nucleico y las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 quimera preparado se representan respectivamente mediante los siguientes números de secuencia.

Cadena pesada	Cadena ligera
SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 97
(Secuencia de ácido nucleico)	(Secuencia de ácido nucleico)
SEC ID NO: 96	SEQ ID NO: 98
(Secuencia de aminoácidos)	(Secuencia de aminoácidos)

15 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 quimera anti-PTPRS (1413 pb) (SEQ ID NO: 95). Las letras mayúsculas muestran la región variable de VH de 13G5-57 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana.

ATGAACTTGGGGCTCAGCTTGATTTTCCTTGTCTTGTTTTAAAAGGTGTCCAGTGTG
 AAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA
 CTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCACTTTCAGTACTATTACATGIATTGGGTTCCGCA
 GACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTTCGCATACATTAGTAATGGTGGTGGTAGCAC
 CTATTATCCAGACTGTAAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAAC
 ACCCTGTACCTGCAAATGAGCCGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATTACTGTG
 CAAGACATGTTTACTACGGGAGGAACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCT
 CAGTCACCGTCTCCTCAgctagcaccaagggcccatcggctctcccctggcaccctcctcaagagcacctctgggggc
 acagcggccctgggctgcctgtcaaggactactccccgaaccggtagcgtgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgca
 cacctccccggctgctctacagctcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagctgggcaccagacctaca
 tctgaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccct
 gccagcacctgaactcctgggggaccgtcagctctctctcccccaaaaccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggt
 cacatgcgtggtggtgacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaga
 caaagccgaggaggagcagtagacaacagcagctaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgaccaggactggtgaatggcaagga
 gtacaagtgaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctcacaagccaaagggcagccccgagaaccacag
 gtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatc
 ccgtggagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcctctctctaca
 gcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacctctctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaaccactacacgc
 agaagagcctctcctgtctccggtaaatga

5 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 quimera anti-PTPRS (470 a.a.) (SEQ ID NO: 96). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 13G5-57 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana.

MNLGLSLIFLVLVLKGVQCEVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFTFSDYYMYWVRQT
 PEKRLEWVAYISNGGGSTYYPDTVKGFRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYCAR
 HVYYGRNYAMDYWGQTSVTVSSastkgpsvflapsskstsggtaalgclvkdypcpvtvswngaltsghvhtf
 pavlqssglyslsvvtvpssslgtqyicvnhkpsntkvdckvepkscdkthtppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpvt
 cvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqnystyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgpre
 pqvytlppsrdeitknqvsitclvkgfypsdiavewesngqpennyktppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
 nhytqkslsispk

10 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 quimera anti-PTPRS (705 pb) (SEQ ID NO: 97). Las letras mayúsculas muestran la región variable de 13G5-57VL quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig k humana.

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATG
 TGATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTC
 ACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGA
 AACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGT
 CCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAAC
 CTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACA
 CGTTCGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatctccgccatc
 tgatgagcagtgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgctaataactctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtgataa
 cgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgacacagagcaggacagcaaggacagcactacagcctcagcagcaccctgacgctg
 agcaaagcagactacgagaacacaaagtctacgctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagctcaacag
 gggagagtgctag

5 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 quimera anti-PTPRS (234 a.a.) (SEQ ID NO: 98). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 13G5-57 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig k humana.

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQK
 PDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGG
 GTKLEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcInnfypreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdsdstyslsstlflskadye
 khkvayacevthqglsspvtksfnrgec

10 Las secuencias de ácido nucleico y las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y de la cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 quimera preparado se representan respectivamente mediante los siguientes números de secuencia.

Cadena pesada	Cadena ligera
SEQ ID NO: 99	SEQ ID NO: 101
(Secuencia de ácido nucleico)	(Secuencia de ácido nucleico)
SEQ ID NO: 100	SEQ ID NO: 102
(Secuencia de aminoácidos)	(Secuencia de aminoácidos)

15 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 quimera anti-PTPRS (1413 pb) (SEQ ID NO: 99). Las mayúsculas muestran la región variable VH de 22H8-84 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana.

ATGGAATGTAAGTGGATACTTCTTTTATTCTGTGTAAGTTCAGGTGTCTACTCACA
 GGTTTCAGCTCCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGCAAGACCTGGGGCTTCAGTGAAGT
 TGTCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTTACTAGCTACTGGATGCAGTGGGTAACA
 GAGGCCTGGACAGGGTCTGGAATGGATTGGGGCTATTTATCCTGGAGATGGTGATACT
 AGGTACACTCAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACATTGACTGCAGATAAATCCTCCAGC
 ACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCTTGGCATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTG
 CAAGAAGGATTTACTACGGCTATTACTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTC
 AGTACCCGCTCCTCAgctagcaccaggccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggac
 agcggccctgggctgctgcaaggacttccccgaaccggtagcgtgctggaactcaggcggcctgaccagcggcgtgcaca
 cttccccgctgtctactagctcaggacttactccctcagcagcgtggtgaccgtgcccctcagcagcttgggcaccagacctacatc
 tgaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtggacaagaaagtgagcccaaatctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgc
 ccagcacctgaactcctggggggaccgtcagcttctcttcccccaaaagcaccctcatgatctccggaccctgaggtca
 catgctggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtcaactggtacgtgacggcgtggaggtgcataatgcaagaca
 aagccgctgggaggagcagtaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaaggagta
 caagtcaaggtctccaacaagccctcccagccccatcgagaaaacctcctcaagcacaagggcagccccgagaaccacaggtg
 tacacctgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgctcaaggcttctatcccagcagatcgcc
 gtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgctcccgtgctggactccgacggctccttctctctacagc
 aagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaactcttctcatgctccgtgatgatgaggtctgcacaaccactacacgag
 aagaccctctcctgtctccgggtaaatga

A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 quimera anti-PTPRS (470 a.a.) (SEQ ID NO: 100). Las mayúsculas muestran la región variable VH de 22H8-84 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana.

5

MECNWILPFILSVTSGVYSQVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYWMQWVKQ
 RPGQGLEWIGAIYPGDGDTRYTQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCAR
 RIYYGYYYAMDYWGQTSVTVSSastkgpsvflapsskstsgtaalgclvkdyfpepvtvswngaltsgvhtfp
 avlqssglyslsvvtvpsslgtqtienvnhkpsntkvdkkvepkscdkthtccppapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpetvc
 vvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprep
 qvylppsrdeitknqvsitclvkgfypsdiavewesngqpennyktppldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhn
 hytqkslsispkg

A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo 22H8-84 quimera anti-PTPRS (717 pb) (SEQ ID NO: 101). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 22H8-84 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig k humana.

10

ATGGAGACAGACACAATCCTGCTATGGGTGCTGCTGCTCTGGGTTCCAGGCTCCACT
 GGTGACATTGTGCTGACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGGG
 CCACCATCTCCTGCAAGGCCAGCCAAAGTGTTGATTATGATGGTGATAGTTATATGAA
 CTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAA
 TCTAGAATCTGGGATCCCAGCCAGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAC
 CCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCAAAGT
 AATGAGGATCCTCTCACGTTCCGGTGTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAA^{cgaactgtggctgc}
^{accatctgtcttcatctcccgcctctgatgagcagtgaaatctggaactgcctctgttgtgtgctgctgaataacttctatcccagagagggc}
^{caaagtacagtggaaggtggataaacgcctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagcacctac}
^{agcctcagcagcacctgacgctgagcaaagcagactacgagaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcaggcctgagctc}
^{gcccgtcacaagagctcaacaggggagagtgctag}

5 La secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo anti-PTPRS de la quimera 22H8-84 (238 a.a.) se muestra a continuación (SEQ ID NO: 102). Las letras mayúsculas muestran la región variable de la quimera 22H8-84 VL, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera Ig κ humana.

METDTILLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYMNW
 YQQKPGQPPKLLIYAASNLES^{GIPARFSGSGSDFTLN}IHPVEEEDAATYYCQ^{QSNEDPL}
 TFGAGTKLEL^{Krtvaapsvfifppsdeqlksgtasvcllnnfybreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqskdstyslsstl}
 skadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

10 Las secuencias de ácidos nucleicos y las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 quimera preparado están representadas respectivamente mediante los siguientes números de secuencia.

Cadena pesada	Cadena ligera
SEQ ID NO: 35	SEC ID NO: 37
(Secuencia de ácido nucleico)	(Secuencia de ácido nucleico)
SEQ ID NO: 36	SEC ID NO: 38
(Secuencia de aminoácidos)	(Secuencia de aminoácidos)

15 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 quimera anti-PTPRS (1413 pb) (SEQ ID NO: 35). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 49F2-30 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana.

ATGAACTTCGGGCTCAGGTTGATTTTCCTTGCCCTCATTTTAAAAGGTGCCAGTGTG
 AGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAA
 CTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCATTTTCAGTAGCTATGGCATGTCTTGGGTTCGCC
 AGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTAGTGAC
 ACCTATTATCCAGACAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAA
 CAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCAGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATGTATT
 ACTGTGCAAGACAGGTCTACTATGGTCTTTACTGGTATTTTCGATGTCTGGGGCGCAG
 GGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgctagcaccaaggcccatcggcttccccctggcaccctcctccaagagcacc
 tctggggcagcagcggccctgggctgcctgtgtaagacttccccgaaccggtagcgggtgctggaactcaggcgcctgaccag
 cggcgtgcacacctccggctcctacagctcagactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgcccagcagctgggcacc
 cagacctacatcgcaacgtgaatcacaagcccagcaacccaaggtggacaagaaagtgagccaaatctgtgacaaaactcacat
 gccaccgtgcccagcactgaactcctgggggaccgtcagcttctcttcccccaaaaccaaggacaccctcatgatctccggag
 ccctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgata
 atgccaagacaagccgaggagcagtagacaacagcagcgtaccgtggtgagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaat
 ggcaaggagtacaaggtcaaggtctcaacaagccctccagccccatcgagaaaacctcctcaagcacaaggcagccccgag
 aaccacaggtgtacacccctccccatccggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgctcaaagcttctatcca
 ggcacatcgccgtgagtgaggagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccagcctccctgctggactccgacggctcct
 ctctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggtctgcacaac
 cactacagcagaagagcctctcctgtctccggtaaatga

5 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 quimera anti-PTPRS (470 a.a.) (SEQ ID NO: 36). Las letras mayúsculas muestran la región variable VH de 49F2-30 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena pesada de IgG1 humana.

MNFGRLRLIFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFIFSSYGMSWVRQT
 PDKRLEWVATISSGSDTYYPDSVKGRFTISRDNANNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCAR
 QVYYGLYWYFDVWGAGTTVTVSSastkgspsvflpsskstsggtaalgclvkdypfpvtvswngaltsgvhtf
 pavlqssglyslsvvtvpssllgtqyicvnhkpsntkvdvdkvepkscdkthtccppapellggpsvflfppkpkdtlmsirtpevt
 cvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyrvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqpre
 pqvylppsrldeltnqvsllclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealth
 nhytqkslslspgk

10 A continuación se muestra la secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 quimera anti-PTPRS (705 pb) (SEQ ID NO: 37). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 49F2-30 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig k humana.

ATGGAGTCACAGATTCAGGTCTTTGTATTCGTGTTTCTCTGGTTGTCTGGTGTGACG
 GAGACATTGTGATGACCCAGTCTCACAAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGG
 GTCAGCATCATTTGTAAGGCCAGTCAGGATGTGAATACTGCTGTAGCCTGGTATCAA
 CAGAAACCAGGACAATCTCCTAAATTACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACACT
 GGAGTCCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTCACCTTCACCATC
 AGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAATTTACTGTCAGCAACATTATAGTACT
 CCGTACACGTTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAcgaactgtggctgaccatctgtcttcat
 ctcccccatctgatgagcagttgaaactggaactgcctctgtgtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
 aaggtggataacgccctcaatcgggtaactccaggagagtgacagagcagagcaaggacagcacctacagcctcagcagca
 ccctgacgctgagcaagcagactacgagaacacaaagtctacgctgcgaagtcaccatcagggcctgagctgcccgtcacaag
 agcttcaacaggggagagtgctag

15 A continuación se muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 quimera anti-PTPRS (234 a.a.) (SEQ ID NO: 38). Las letras mayúsculas muestran la región variable VL de 49F2-30 quimera, y las letras minúsculas muestran la región constante de la cadena ligera de Ig k humana.

MESQIQVFVFLWLSGVDGDIVMTQSHKFMSTSVGDRVSIICKASQDVNTAVAWYQQ
 KPGQSPKLLIYSASYRTGVPDRFTGSGSGTDFFTISSVQAEDLAIYYCQQHYSTPYTFG
 GGTKLEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvcllnfyreakvqkvkdnlqsgnsqesvteqdskdstyslsltlskady
 ekhkvyacevthqglsspvtkfnsrgec

20 Ejemplo 6

Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos del anticuerpo quimérico anti-PTPRS humana preparado (ch49F2-

30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84)

Se midió la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (actividad ADCC). La actividad se obtuvo utilizando la citotoxicidad celular calculada a partir del valor medido de la lactasa deshidrogenasa (LDH) liberada de una célula como índice. Las células mononucleares de sangre periférica humana que van a ser células efectoras se purificaron mediante centrifugación por gravedad específica utilizando HISTOPAQUE-1077. Como célula que va a ser una diana, se utilizó una célula transformada de manera forzada de un gen de hPTPRS utilizando CHO (cepa de células de ovario de hámster chino) (2×10^4 /pocillo). Las células efectoras y diana se mezclaron de manera que su proporción fuese 10:1, 20:1, 40:1 y 80:1, 10 µg/ml de anticuerpo quimérico anti-PTPRS humana preparado (ch49F2-30, ch9H5-4, Ch13G5-57 y ch22H8-84) o un anticuerpo de control Synagis y la mezcla se cultivó durante 4 horas a 37°C para evaluar el efecto de citotoxicidad celular del anticuerpo. Como resultado, ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84 del anticuerpo quimérico anti-hPTPRS lisaron la célula hPTPRS/CHO de la diana en una forma dependiente del número de células efectoras (FIG. 17A y FIG 17B). Este resultado mostró que el anticuerpo quimérico anti-PTPRS preparado mostró selectivamente la citotoxicidad contra las células que expresaban PTPRS.

Se estudió el efecto del anticuerpo anti-PTPRS en pDC. Las PBMC se aislaron a partir de sangre periférica humana, se mezclaron con 10 µg/ml de un anticuerpo quimérico anti-PTPRS humana y se cultivaron durante 24 horas. Después de eso, se llevó a cabo la estimulación durante 24 horas con CpG2216 que es un ligando de un receptor tipo Toll 9 expresado en pDC para inducir la producción de IFNα. Veinticuatro horas después de la estimulación con CpG, se sometió a ensayo la cantidad de producción de IFNα. En consecuencia, la producción de IFNα se inhibió completamente mediante el tratamiento del anticuerpo quimérico anti-PTPRS humana preparado (ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84) (FIG. 18A). Además, cuando la célula se recogió 6 horas después del tratamiento con ch49F2-30, ch9H5-4, ch13G5-57 y ch22H8-84 y se confirmó la pDC mediante doble tinción con un anticuerpo anti-BDCA2 y un anticuerpo anti-BDCA4, se encontró que la población de pDC disminuyó más que el tratamiento con Synagis del anticuerpo de control (FIG. 18B y FIG. 18C). Estos resultados mostraron que el tratamiento del anticuerpo quimérico anti-PTPRS abolió por consiguiente la producción de IFNα mediante la estimulación con CpG2216.

Aplicabilidad Industrial

La presente invención proporciona un anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones que reconoce específicamente PTPRS humana, el uso de un inmunógeno para la producción del anticuerpo, y un método para la producción de una célula que produce el anticuerpo anti-PTPRS humana.

Números de acceso

FERM BP-11356
 FERM BP-11357
 FERM BP-11358
 FERM BP-11359
 FERM BP-11360
 FERM BP-11361
 FERM BP-11362
 FERM BP-11363

Texto libre de la lista de secuencias

SEQ ID NO: 3: cebador directo
 SEQ ID NO: 4: cebador inverso
 SEQ ID NO: 5: cebador directo
 SEQ ID NO: 6: cebador inverso
 SEQ ID NO: 7: cebador directo
 SEQ ID NO: 8: cebador inverso
 SEQ ID NO: 9: cebador directo
 SEQ ID NO: 10: cebador inverso
 SEQ ID NO: 11: cebador antisentido
 SEQ ID NO: 12: cebador de anclaje
 SEQ ID NO: 12: n es desoxiinosina.
 SEQ ID NO: 13: cebador antisentido
 SEQ ID NO: 14: cebador AUAP
 SEQ ID NO: 15: cebador antisentido
 SEQ ID NO: 16: cebador antisentido
 SEQ ID NO: 17: cebador
 SEQ ID NO: 18: cebador

SEQ ID NO: 19: cebador
 SEQ ID NO: 20: cebador
 SEQ ID NO: 21: cebador
 SEQ ID NO: 22: cebador
 5 SEC ID NO 23: cebador
 SEC ID NO 24: cebador
 SEC ID NO 35: secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS 49F2-30 quimera
 SEQ ID NO: 36: secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS 49F2-30 quimera
 10 SEC ID NO 37: secuencia de ácido nucleico de cadena ligera del anticuerpo anti-PTPRS 49F2-30 quimera
 SEQ ID NO: 38: secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de anticuerpo anti-PTPRS 49F2-30 quimera
 SEC ID NO: 39: cebador
 SEQ ID NO: 40: cebador
 SEQ ID NO: 41: cebador
 SEC ID NO 42: cebador
 15 SEQ ID NO: 73: cebador directo
 SEQ ID NO: 74: cebador inverso
 SEQ ID NO: 75: cebador directo
 SEQ ID NO: 76: cebador inverso
 SEQ ID NO: 77: cebador directo
 20 SEQ ID NO: 78: cebador inverso
 SEQ ID NO: 79: cebador directo
 SEQ ID NO: 80: cebador inverso
 SEQ ID NO: 81: cebador directo
 SEQ ID NO: 82: cebador inverso
 25 SEQ ID NO: 83: cebador directo
 SEQ ID NO: 84: cebador inverso
 SEQ ID NO: 85: cebador directo
 SEQ ID NO: 86: cebador inverso
 SEQ ID NO: 87: cebador directo
 30 SEQ ID NO: 88: cebador inverso
 SEQ ID NO: 89: cebador directo
 SEQ ID NO: 90: cebador inverso
 SEQ ID NO: 91: secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS 9H5-4 quimera
 SEQ ID NO: 92: secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS 9H5-4 quimera
 35 SEC ID NO: 93: secuencia de ácido nucleico de cadena ligera de anticuerpo anti-PTPRS 9H5-4 quimera
 SEQ ID NO: 94: secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo anti-PTPRS 9H5-4 quimera
 SEC ID NO: 95: secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS 13G5-57 quimera
 SEQ ID NO: 96: secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS 13G5-57 quimera
 40 SEQ ID NO: 97: secuencia de ácido nucleico de cadena ligera del anticuerpo anti-PTPRS 13G5-57 quimera
 SEC ID NO: 98: secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo anti-PTPRS 13G5-57 quimera
 SEQ ID NO: 99: secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS 22H8-84 quimera
 SEQ ID NO: 100: secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo anti-PTPRS 22H8-84 quimera
 45 SEQ ID NO: 101: secuencia de ácido nucleico de cadena ligera de anticuerpo anti-PTPRS 22H8-84 quimera
 SEQ ID NO: 102: secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de anticuerpo anti-PTPRS 22H8-84 quimera

LISTA DE SECUENCIAS

50 <110> SBI Biotech Co., Ltd.
 <120> ANTICUERPO ANTI-PROTEÍNA TIROSINA FOSFATASA SIGMA TIPO RECEPTOR HUMANO
 <130> W6373-000000
 55 <150> JP 2011-101752
 <151> 28-04-2011
 <160> 102
 60 <170> Patente In versión 3.4
 <210> 1
 <211> 1501

ES 2 638 088 T3

<212> PRT
<213> Homo sapiens

5 <220>
<221> PEPTIDO
<222> (1)..(1501)

<400> 1

Met Ala Pro Thr Trp Gly Pro Gly Met Val Ser Val Val Gly Pro Met
1 5 10 15

Gly Leu Leu Val Val Leu Leu Val Gly Gly Cys Ala Ala Glu Glu Pro
20 25 30

Pro Arg Phe Ile Lys Glu Pro Lys Asp Gln Ile Gly Val Ser Gly Gly
35 40 45

Val Ala Ser Phe Val Cys Gln Ala Thr Gly Asp Pro Lys Pro Arg Val
50 55 60

Thr Trp Asn Lys Lys Gly Lys Lys Val Asn Ser Gln Arg Phe Glu Thr
65 70 75 80

Ile Glu Phe Asp Glu Ser Ala Gly Ala Val Leu Arg Ile Gln Pro Leu
85 90 95

10

ES 2 638 088 T3

Arg Thr Pro Arg Asp Glu Asn Val Tyr Glu Cys Val Ala Gln Asn Ser
 100 105 110

Val Gly Glu Ile Thr Val His Ala Lys Leu Thr Val Leu Arg Glu Asp
 115 120 125

Gln Leu Pro Ser Gly Phe Pro Asn Ile Asp Met Gly Pro Gln Leu Lys
 130 135 140

Val Val Glu Arg Thr Arg Thr Ala Thr Met Leu Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160

Asn Pro Asp Pro Glu Ile Thr Trp Phe Lys Asp Phe Leu Pro Val Asp
 165 170 175

Pro Ser Ala Ser Asn Gly Arg Ile Lys Gln Leu Arg Ser Gly Ala Leu
 180 185 190

Gln Ile Glu Ser Ser Glu Glu Thr Asp Gln Gly Lys Tyr Glu Cys Val
 195 200 205

Ala Thr Asn Ser Ala Gly Val Arg Tyr Ser Ser Pro Ala Asn Leu Tyr
 210 215 220

Val Arg Val Arg Arg Val Ala Pro Arg Phe Ser Ile Leu Pro Met Ser
 225 230 235 240

His Glu Ile Met Pro Gly Gly Asn Val Asn Ile Thr Cys Val Ala Val
 245 250 255

Gly Ser Pro Met Pro Tyr Val Lys Trp Met Gln Gly Ala Glu Asp Leu
 260 265 270

Thr Pro Glu Asp Asp Met Pro Val Gly Arg Asn Val Leu Glu Leu Thr
 275 280 285

Asp Val Lys Asp Ser Ala Asn Tyr Thr Cys Val Ala Met Ser Ser Leu
 290 295 300

Gly Val Ile Glu Ala Val Ala Gln Ile Thr Val Lys Ser Leu Pro Lys

ES 2 638 088 T3

Thr Leu Ser Trp Ser Pro Pro Arg Gln Glu Ser Ile Ile Lys Tyr Glu
530 535 540

Leu Leu Phe Arg Glu Gly Asp His Gly Arg Glu Val Gly Arg Thr Phe
545 550 555 560

Asp Pro Thr Thr Ser Tyr Val Val Glu Asp Leu Lys Pro Asn Thr Glu
565 570 575

Tyr Ala Phe Arg Leu Ala Ala Arg Ser Pro Gln Gly Leu Gly Ala Phe
580 585 590

Thr Pro Val Val Arg Gln Arg Thr Leu Gln Ser Ile Ser Pro Lys Asn
595 600 605

Phe Lys Val Lys Met Ile Met Lys Thr Ser Val Leu Leu Ser Trp Glu
610 615 620

Phe Pro Asp Asn Tyr Asn Ser Pro Thr Pro Tyr Lys Ile Gln Tyr Asn
625 630 635 640

Gly Leu Thr Leu Asp Val Asp Gly Arg Thr Thr Lys Lys Leu Ile Thr
645 650 655

His Leu Lys Pro His Thr Phe Tyr Asn Phe Val Leu Thr Asn Arg Gly
660 665 670

Ser Ser Leu Gly Gly Leu Gln Gln Thr Val Thr Ala Trp Thr Ala Phe
675 680 685

Asn Leu Leu Asn Gly Lys Pro Ser Val Ala Pro Lys Pro Asp Ala Asp
690 695 700

Gly Phe Ile Met Val Tyr Leu Pro Asp Gly Gln Ser Pro Val Pro Val
705 710 715 720

Gln Ser Tyr Phe Ile Val Met Val Pro Leu Arg Lys Ser Arg Gly Gly
725 730 735

ES 2 638 088 T3

Gln Phe Leu Thr Pro Leu Gly Ser Pro Glu Asp Met Asp Leu Glu Glu
740 745 750

Leu Ile Gln Asp Ile Ser Arg Leu Gln Arg Arg Ser Leu Arg His Ser
755 760 765

Arg Gln Leu Glu Val Pro Arg Pro Tyr Ile Ala Ala Arg Phe Ser Val
770 775 780

Leu Pro Pro Thr Phe His Pro Gly Asp Gln Lys Gln Tyr Gly Gly Phe
785 790 795 800

Asp Asn Arg Gly Leu Glu Pro Gly His Arg Tyr Val Leu Phe Val Leu
805 810 815

Ala Val Leu Gln Lys Ser Glu Pro Thr Phe Ala Ala Ser Pro Phe Ser
820 825 830

Asp Pro Phe Gln Leu Asp Asn Pro Asp Pro Gln Pro Ile Val Asp Gly
835 840 845

Glu Glu Gly Leu Ile Trp Val Ile Gly Pro Val Leu Ala Val Val Phe
850 855 860

Ile Ile Cys Ile Val Ile Ala Ile Leu Leu Tyr Lys Asn Lys Pro Asp
865 870 875 880

Ser Lys Arg Lys Asp Ser Glu Pro Arg Thr Lys Cys Leu Leu Asn Asn
885 890 895

Ala Asp Leu Ala Pro His His Pro Lys Asp Pro Val Glu Met Arg Arg
900 905 910

Ile Asn Phe Gln Thr Pro Gly Met Leu Ser His Pro Pro Ile Pro Ile
915 920 925

Ala Asp Met Ala Glu His Thr Glu Arg Leu Lys Ala Asn Asp Ser Leu
930 935 940

ES 2 638 088 T3

Lys Leu Ser Gln Glu Tyr Glu Ser Ile Asp Pro Gly Gln Gln Phe Thr
 945 950 955 960

Trp Glu His Ser Asn Leu Glu Val Asn Lys Pro Lys Asn Arg Tyr Ala
 965 970 975

Asn Val Ile Ala Tyr Asp His Ser Arg Val Ile Leu Gln Pro Ile Glu
 980 985 990

Gly Ile Met Gly Ser Asp Tyr Ile Asn Ala Asn Tyr Val Asp Gly Tyr
 995 1000 1005

Arg Arg Gln Asn Ala Tyr Ile Ala Thr Gln Gly Pro Leu Pro Glu
 1010 1015 1020

Thr Phe Gly Asp Phe Trp Arg Met Val Trp Glu Gln Arg Ser Ala
 1025 1030 1035

Thr Ile Val Met Met Thr Arg Leu Glu Glu Lys Ser Arg Ile Lys
 1040 1045 1050

Cys Asp Gln Tyr Trp Pro Asn Arg Gly Thr Glu Thr Tyr Gly Phe
 1055 1060 1065

Ile Gln Val Thr Leu Leu Asp Thr Ile Glu Leu Ala Thr Phe Cys
 1070 1075 1080

Val Arg Thr Phe Ser Leu His Lys Asn Gly Ser Ser Glu Lys Arg
 1085 1090 1095

Glu Val Arg Gln Phe Gln Phe Thr Ala Trp Pro Asp His Gly Val
 1100 1105 1110

Pro Glu Tyr Pro Thr Pro Phe Leu Ala Phe Leu Arg Arg Val Lys
 1115 1120 1125

Thr Cys Asn Pro Pro Asp Ala Gly Pro Ile Val Val His Cys Ser
 1130 1135 1140

Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Cys Phe Ile Val Ile Asp Ala Met

ES 2 638 088 T3

1145						1150						1155			
Leu	Glu	Arg	Ile	Lys	Pro	Glu	Lys	Thr	Val	Asp	Val	Tyr	Gly	His	
1160						1165					1170				
Val	Thr	Leu	Met	Arg	Ser	Gln	Arg	Asn	Tyr	Met	Val	Gln	Thr	Glu	
1175						1180					1185				
Asp	Gln	Tyr	Ser	Phe	Ile	His	Glu	Ala	Leu	Leu	Glu	Ala	Val	Gly	
1190						1195					1200				
Cys	Gly	Asn	Thr	Glu	Val	Pro	Ala	Arg	Ser	Leu	Tyr	Ala	Tyr	Ile	
1205						1210					1215				
Gln	Lys	Leu	Ala	Gln	Val	Glu	Pro	Gly	Glu	His	Val	Thr	Gly	Met	
1220						1225					1230				
Glu	Leu	Glu	Phe	Lys	Arg	Leu	Ala	Asn	Ser	Lys	Ala	His	Thr	Ser	
1235						1240					1245				
Arg	Phe	Ile	Ser	Ala	Asn	Leu	Pro	Cys	Asn	Lys	Phe	Lys	Asn	Arg	
1250						1255					1260				
Leu	Val	Asn	Ile	Met	Pro	Tyr	Glu	Ser	Thr	Arg	Val	Cys	Leu	Gln	
1265						1270					1275				
Pro	Ile	Arg	Gly	Val	Glu	Gly	Ser	Asp	Tyr	Ile	Asn	Ala	Ser	Phe	
1280						1285					1290				
Ile	Asp	Gly	Tyr	Arg	Gln	Gln	Lys	Ala	Tyr	Ile	Ala	Thr	Gln	Gly	
1295						1300					1305				
Pro	Leu	Ala	Glu	Thr	Thr	Glu	Asp	Phe	Trp	Arg	Met	Leu	Trp	Glu	
1310						1315					1320				
Asn	Asn	Ser	Thr	Ile	Val	Val	Met	Leu	Thr	Lys	Leu	Arg	Glu	Met	
1325						1330					1335				
Gly	Arg	Glu	Lys	Cys	His	Gln	Tyr	Trp	Pro	Ala	Glu	Arg	Ser	Ala	
1340						1345					1350				

ES 2 638 088 T3

Arg Tyr Gln Tyr Phe Val Val Asp Pro Met Ala Glu Tyr Asn Met.
 1355 1360 1365

Pro Gln Tyr Ile Leu Arg Glu Phe Lys Val Thr Asp Ala Arg Asp
 1370 1375 1380

Gly Gln Ser Arg Thr Val Arg Gln Phe Gln Phe Thr Asp Trp Pro
 1385 1390 1395

Glu Gln Gly Val Pro Lys Ser Gly Glu Gly Phe Ile Asp Phe Ile
 1400 1405 1410

Gly Gln Val His Lys Thr Lys Glu Gln Phe Gly Gln Asp Gly Pro
 1415 1420 1425

Ile Ser Val His Cys Ser Ala Gly Val Gly Arg Thr Gly Val Phe
 1430 1435 1440

Ile Thr Leu Ser Ile Val Leu Glu Arg Met Arg Tyr Glu Gly Val
 1445 1450 1455

Val Asp Ile Phe Gln Thr Val Lys Met Leu Arg Thr Gln Arg Pro
 1460 1465 1470

Ala Met Val Gln Thr Glu Asp Glu Tyr Gln Phe Cys Tyr Gln Ala
 1475 1480 1485

Ala Leu Glu Tyr Leu Gly Ser Phe Asp His Tyr Ala Thr
 1490 1495 1500

- <210> 2
- <211> 4665
- <212> ADN
- 5 <213> Homo sapiens
- <220>
- <221> gen
- 10 <222> (1)..(4665)
- <300>
- <301> Strausberg t al.
- <302> Generación y análisis inicial de más de 15.000 secuencias de ADNc humano y de ratón completas
- <303> Proc. Natl. Acad. Sci. ESTADOS UNIDOS.
- 15 <304> 99
- <305> 26
- <306> 16899-16903
- <307> 2002
- 20 <400> 2

ES 2 638 088 T3

gggctcgagg cctctctgtg agggaccggg gggccatccc cctccagggc ggagatcgga
60

ggtcgctgcc aagcatggcg cccacctggg gccctggcat ggtgtctgtg gttgggccca
120

tgggcctcct tgtggctctg ctcgttggag gctgtgcagc agaagagccc cccaggttta
180

tcaaagaacc caaggaccag atcggcgtgt cgggggggtgt ggctctttc gtgtgtcagg
240

ccacgggtga cccaagcca cgagtgcctt ggaacaagaa gggcaagaag gtcaactctc
300

agcgctttga gacgattgag tttgatgaga gtgcaggggc agtgctgagg atccagccgc
360

tgaggacacc gcgggatgaa aacgtgtacg agtgtgtggc ccagaactcg gttggggaga
420

tcacagtcca tgccaagctt actgtcctcc gagaggacca gctgccctct ggcttcccca
480

acatcgacat gggcccacag ttgaaggtag tggagcggac acggacagcc accatgctct
540

gtgcagccag cggcaaccct gaccctgaga tcacctggtt caaggacttc ctgcctgtgg
600

atcctagtgc cagcaatgga cgcataaac agctgcgatc aggagccctg cagattgaaa
660

gcagtgagga aaccgaccag ggcaaatatg agtgtgtggc caccaacagc gccggcgtgc
720

gctactcctc acctgccaac ctctacgtgc gagtccgccg cgtggccccg cgcttctcca
780

tcctgcccat gagccacgag atcatgccag ggggcaacgt gaacatcacc tgcgtggccc
840

ES 2 638 088 T3

tgggctcgcc catgccatac gtgaagtgga tgcagggggc cgaggacctg acccccgagg
900

atgacatgcc cgtgggtcgg aacgtgctgg aactcacaga tgtcaaggac tcggccaact
960

acacctgctg ggccatgtcc agcctggggc tcattgaggc ggttgctcag atcacggtga
1020

aatctctccc caaagctccc gggactocca tggtgactga gaacacagcc accagcatca
1080

ccatcacgtg ggactcgggc aaccagatc ctgtgtccta ttacgtcatc gaatataaat
1140

ccaagagcca agacggggcg tadcagatta aagaggacat caccaccaca cgttacagca
1200

tcggcggcct gagccccaac tcggagtagc agatctgggt gtcggccgtc aactccatcg
1260

gccagggggc ccccagcgag tccgtggtca cccgcacagg cgagcaggcc ccggccagcg
1320

cgccgaggaa cgtgcaagcc cggatgctca gcgcgaccac catgattgtg cagtgggagg
1380

agccggtgga gcccaacggc ctgatccgcg gctaccgctg ctactacacc atggaaccgg
1440

agcaccctgt gggcaactgg cagaagcaca acgtggacga cagcctgctg accaccgtgg
1500

gcagcctgct ggaggacgag acctacaccg tgcgggtgct cgccttcacc tccgtcggcg
1560

acgggcccct ctoggacccc atccaggta agacgcagca gggagtgccg ggccagccca
1620

tgaacctgcg ggccgaggcc aggtcggaga ccagcatcac gctgtcctgg agccccccg
1680

ggcaggagag tatcatcaag tacgagctcc tcttccggga aggcgacat ggccgggagg
1740

tgggaaggac cttcgacccg acgacttct acgtggtgga ggacctgaag cccaacacgg
1800

agtacgcctt ccgcctggcg gcccgctcgc cgcaggcctt gggcgccttc acccccgtgg
1860

tgcggcagcg cacgctgcag tccatctcgc ccaagaactt caaggtgaaa atgatcatga
1920

ES 2 638 088 T3

agacatcagt tctgctcagc tgggagttcc ctgacaacta caactcacc acaccctaca
1980

agatccagta caatgggctc aactgggatg tggatggccg taccaccaag aagctcatca
2040

cgcacctcaa gccccacacc ttctacaact ttgtgctgac caatcgcggc agcagcctgg
2100

gcggcctcca gcagacggtc accgcctgga ctgccttcaa cctgctcaac ggcaagccca
2160

gcgtcgcccc caagcctgat gctgacggct tcatcatggt gtatcttctt gacggccaga
2220

gccccgtgcc tgtccagagc tatttcattg tgatggtgcc actgocgaag tctcgtggag
2280

gccaatctct gaccccgctg ggtagcccag aggacatgga tctggaagag ctcatccagg
2340

acatctcagc gctacagagg cgcagcctgc ggcactcgcg tcagctggag gtgccccggc
2400

cctatattgc agctcgcttc tctgtgctgc caccacggtt ccatccccgc gaccagaagc
2460

agtatggcgg cttcgataac cggggcctgg agcccggcca ccgctatgct ctcttcgtgc
2520

ttgccgtgct tcagaagagc gaggctacct ttgcagccag tcccttctca gacccttcc
2580

agctggataa cccggacccc cagcccacgc tggatggcga ggaggggctt atctgggtga
2640

tcgggcctgt gctggccgtg gtcttcataa tctgcattgt cattgctatc ctgctctaca
2700

agaacaaacc cgacagtaaa cgcaaggact cagaaccccg caccaaagtc ctctgaaca
2760

atgccgacct cgcccctcac caccocaagg accctgtgga aatgagacgc attaacttcc
2820

agactccagg catgcttagc caccgcgcaa ttcccatcgc agacatggcg gagcacacgg
2880

agcggctcaa ggccaacgac agcctcaagc tctcccagga gtatgagtcc atcgaccctg
2940

gacagcagtt cacatgggaa cattccaacc tggaagtga caagccgaag aaccgctatg

ES 2 638 088 T3

3000

ccaacgtcat cgcctatgac cactcccgtg tcatcctcca gccattgaa ggcatcatgg
3060

gcagtgatta catcaatgcc aactacgtgg acggctaccg gcgtcagaac gcgtacattg
3120

ccacgcaggg gccgctgcct gagaccttg gggacttctg gcgtatggtg tgggagcagc
3180

ggtcggcgac catcgtcatg atgacgcggc tggaggagaa gtcacggatc aagtgtgatc
3240

agtattggcc caacagaggc acggagacct acggcttcat ccaggtcacg ttgctagata
3300

ccatcgagct ggccacattc tgcgtcagga cattctctct gcacaagaat ggctccagtg
3360

agaaacgcga ggtccgccag ttccagtta cggcgtggcc ggaccatggc gtgcccgaat
3420

accaacgcc cttcctggct ttctcgcgga gagtcaagac ctgcaacccg ccagatgccg
3480

gccccatcgt ggttcaactgc agtgccggtg tgggccgcac aggctgcttt atcgtcatcg
3540

acgccatgct tgagcggatc aagccagaga agacagtcga tgtctatggc cacgtgacgc
3600

tcatgaggtc ccagcgcaac tacatgggtc agacggagga ccagtacagc ttcattccagc
3660

aggccctgct ggaggccgtg ggctgtggca acacagaagt gcccgcacgc agcctctatg
3720

cctacatcca gaagctggcc caggtggagc ctggcgaaca cgtcactggc atggaactcg
3780

agttcaagcg gctggctaac tccaaggccc acacgtcacg cttcatcagt gccaatctgc
3840

cttgaataaa gttcaagaac cgcctgggtg acatcatgcc ctatgagagc acacgggtct
3900

gtctgcaacc catccggggt gtggagggct ctgactacat caacgccagc ttcattgatg
3960

gctacaggca gcagaaggcc tacatcgcca cacaggggcc gctggcggag accacggaag
4020

ES 2 638 088 T3

acttctggcg catgctgtgg gagaacaatt cgacgatcgt ggtgatgctg accaagctgc
4080

gggagatggg ccgggagaag tgtcaccagt actggccggc cgagcgctct gcccgctacc
4140

agtactttgt ggtagatccg atggcagaat acaacatgcc tcagtatata ctgcgagagt
4200

tcaaggtcac agatgcccgg gatggccagt cccggactgt ccggcagttc cagttcacag
4260

actggccgga acaggggtgtg ccaaagtcgg gggagggctt catcgacttc attggccaag
4320

tgcataagac taaggagcag tttggccagg acggcccat ctctgtccac tgcagtgccg
4380

gcgtgggcag gacgggcgtc ttcacacgc ttagcatcgt gctggagcgg atgcggtatg
4440

aaggcgtggt ggacatcttt cagacggtga agatgctacg aaccagcgg ccggccatgg
4500

tgcagacaga ggatgagtac cagttctggt accaggcggc actggagtac ctcggaagct
4560

ttgaccacta tgcaacctaa agccatgggt cccccaggc ccgacaccac tggccccgga
4620

tgccctgccc cctcccgggc ggacctcctg aggcctggac cccca
4665

<210> 3
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

5

<220>
<223> Primer directo

10

<400> 3
cacggcctat gacctcca
18

<210> 4
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

15

<220>
<223> Cebador inverso

20

<400> 4
aagttcttgg gcgagacttg
20

<210> 5
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

25

<220>
<223> Cebador directo

30

<400> 5

ES 2 638 088 T3

ccacccatgg caaattcc
18

5 <210> 6
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador inverso

10 <400> 6

tgggatttcc attgatgaca ag
22

15 <210> 7
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador directo

20 <400> 7

actcaccac accctacaag a
21

25 <210> 8
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador inverso

30 <400> 8

cttgggtgta cggccatc
18

35 <210> 9
<211> 39
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador directo

40 <400> 9

aaagaattcg cegccaccat ggcgccacc tggggccct
39

45 <210> 10
<211> 34
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Cebador inverso

50 <400> 10

aaagcggccg cttagggtgc atagtgggtca aagc
34

<210> 11

ES 2 638 088 T3

<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

5 <220>
<223> Cebador antisentido

<400> 11
tccagagttc caggtcactg tcac
24

10 <210> 12
<211> 36
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Cebador de anclaje

<220>
<221> base modificada
20 <222> (24)..(25)
<223> n es desoxiinosina.

<220>
<221> base modificada
25 <222> (29)..(30)
<223> n es desoxiinosina.

<220>
<221> base modificada
30 <222> (34)..(35)
<223> n es desoxiinosina.

<400> 12
ggccacgcgt cgactagtac gggnggggnn gggngg
36

35 <210> 13
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Cebador antisentido

<400> 13
aggggccagt ggatagacag atgg
24

45 <210> 14
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

50 <220>
<223> Cebador AUAP

<400> 14
ggccacgcgt cgactagtac
20

55 <210> 15
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

60 <220>

ES 2 638 088 T3

<223> Cebador antisentido

<400> 15

ttcactgcca tcaatcttcc actt
24

5

<210> 16

<211> 21

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

10

<220>

<223> Cebador antisentido

<400> 16

gatggataca gttggtgcag c
21

15

<210> 17

<211> 39

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

20

<220>

<223> Cebador

<400> 17

accaagcttg cgcaccat gaacttcggg ctcaggttg
39

25

<210> 18

<211> 33

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

30

<220>

<223> Cebador

<400> 18

cttggtgcta gctgaggaga cggtgaccgt ggt
33

35

<210> 19

<211> 33

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

40

<220>

<223> Cebador

<400> 19

accgtctcct cagctagcac caagggccca tcg
33

45

<210> 20

<211> 30

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

50

<220>

<223> Cebador

<400> 20

tttgaattct catttaccg gagacagga
30

55

<210> 21

<211> 39

ES 2 638 088 T3

<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

5 <220>
<223> Cebador

<400> 21
 accaagcttg cgcaccat ggagtcacag attcaggtc
 39

10 <210> 22
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Cebador

<400> 22
 agccacagtt cgttttattt ccagcttggc ccc
 33

20 <210> 23
<211> 33
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

25 <220>
<223> Cebador

<400> 23
 ctggaataa aacgaactgt ggctgcacca tct
 33

30 <210> 24
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

35 <220>
<223> Cebador

<400> 24
 aaagaattcc tagcactctc cctgttgaa
 30

40 <210> 25
<211> 469
<212> ADN
<213> Mus musculus

<400> 25

ES 2 638 088 T3

atgaacttgc ggctcaggtt gattttcctt gccctcattt taaaaggtgt ccagtgtgag
60

gtgcagctgg tggagtctgg gggagactta gtgaagcctg gagggtcctt gaaactctcc
120

tgtgcagcct ctggattcat tttcagtagc tatggcatgt cttgggttcg ccagactcca
180

gacaagaggc tggagtgggt cgcaaccatt agtagtgggt gtagtgacac ctattatcca
240

gacagtgtga aggggcgatt caccatctcc agagacaatg ccaacaacac cctgtacctg
300

caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acaggtctac
360

tatggctttt actggtatctt cgatgtctgg ggcgcaggga ccacggtcac cgtctcctca
420

gccaaaacga caccatcctc tgtctatcca ctggccccta agggcgaat
469

<210> 26

<211> 156

<212> PRT

<213> Mus musculus

5

<400> 26

ES 2 638 088 T3

Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Ala Leu Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe
 35 40 45

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

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80

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

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Val Tyr Tyr Gly Leu Tyr Trp Tyr Phe Asp
 115 120 125

Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr
 130 135 140

Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys Gly Glu
 145 150 155

<210> 27
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

5

<400> 27

Ser Tyr Gly Met Ser
 1 5

<210> 28
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

<400> 28

Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

15

<210> 29
 <211> 12

ES 2 638 088 T3

<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 29

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

5

<210> 30
<211> 413
<212> ADN
<213> Mus musculus

10

<400> 30

atggagtcac agattcaggt cttgtattc gtgtttctct ggttgctgg tgttgacgga
60

gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc
120

atcatttgta aggccagtca ggatgtgaat actgctgtag cctgggatca acagaaacca
180

ggacaatctc ctaaattact gatttactcg gcacccacc ggtacactgg agtccctgat
240

cgcttcaactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct
300

gaagacctgg caatttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgtacac gttcggaggg
360

gggaccaagc tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat caa
413

15

<210> 31
<211> 137
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 31

ES 2 638 088 T3

Met Glu Ser Gln Ile Gln Val Phe Val Phe Val Phe Leu Trp Leu Ser
 1 5 10 15
 Gly Val Asp Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser
 20 25 30
 Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Ile Cys Lys Ala Ser Gln Asp
 35 40 45
 Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
 50 55 60
 Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp
 65 70 75 80
 Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
 85 90 95
 Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr
 100 105 110
 Ser Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 115 120 125
 Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile
 130 135

<210> 32
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

5

<400> 32
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
 1 5 10

<210> 33
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

10

<400> 33
 Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
 1 5

15

<210> 34
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

20

<400> 34
 Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro
 1 5

<210> 35
 <211> 1413
 <212> ADN

25

ES 2 638 088 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia de ácido nucleico de cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 quimera anti-PTPRS

5

<400> 35

atgaacttcg ggctcagggt gattttcctt gccctcatt taaaagggtg ccagtgtgag
60

gtgcagctgg tggagtctgg gggagactta gtgaagcctg gagggtcctt gaaactctcc
120

tgtgcagcct ctggattcat tttcagtagc tatggcatgt cttgggttcg ccagactcca
180

gacaagaggc tggagtgggt cgcaaccatt agtagtgggt gtagtgacac ctattatcca
240

gacagtgtga aggggcgatt caccatctcc agagacaatg ccaacaacac cctgtacctg
300

ES 2 638 088 T3

caaatgagca gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acaggtctac
360

tatggtcttt actggtatth cgatgtctgg ggcgcagga ccacggtcac cgtctcctca
420

gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg
480

ggcacagcgg ccttgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtg
540

tggaactcag ggcacctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca
600

ggactctact cctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc
660

tacatctgca acgtgaatca caagcccago aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc
720

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccc cctgcccag cacctgaact cctgggggga
780

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaacc aaggacacc tcatgatctc ccggaccctt
840

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg
900

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
960

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctctgacc aggactggct gaatggcaag
1020

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc
1080

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacacc tgccccatc ccgggatgag
1140

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
1200

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
1260

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
1320

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa cactacag
1380

cagaagagcc tctcctgtc tccgggtaaa tga
1413

<210> 36

<211> 470

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 49F2-30 quimera anti-PTPRS

5

10

ES 2 638 088 T3

<400> 36

Met Asn Phe Gly Leu Arg Leu Ile Phe Leu Ala Leu Ile Leu Lys Gly
 1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe
 35 40 45

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

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Asp Thr Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80

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

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Val Tyr Tyr Gly Leu Tyr Trp Tyr Phe Asp
 115 120 125

Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly

ES 2 638 088 T3

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 405 410 415

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

- <210> 37
- <211> 705
- <212> ADN
- <213> Secuencia Artificial

5

- <220>
- <223> Secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 quimera anti-PTPRS

10

<400> 37
 atggagtcac agattcaggt cttgtattc gtgtttctct ggttgtctgg tgttgacgga
 60
 gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc
 120
 atcatttgta aggccagtca ggatgtgaat actgctgtag cctggatca acagaaacca
 180
 ggacaatctc ctaaattact gattactcg gcatoctacc ggtacactgg agtccctgat
 240
 cgcttactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct

ES 2 638 088 T3

300

gaagacctgg caatttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgtacac gttcggaggg
360

gggaccaagc tggaaataaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc
420

tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcttctgaa taacttctat
480

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag
540

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg
600

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc
660

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gctag
705

<210> 38

<211> 234

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos cadena ligera del anticuerpo 49F2-30 quimera anti-PTPRS

10

<400> 38

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

Gly Val Asp Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser
20 25 30

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

Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
50 55 60

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

ES 2 638 088 T3

<211> 24
<212> ADN
<213> Artificial

5 <220>
<223> Cebador

<400> 41
tccagagttc caagtcacag tcac
24

10 <210> 42
<211> 24
<212> ADN
<213> Artificial

15 <220>
<223> Cebador

<400> 42
aggggccagt g gatagactg atgg
24

20 <210> 43
<211> 471
<212> ADN
<213> Mus musculus

25 <400> 43
atggagttgg gactgagctg ggtatttctt gtggctcttt tgaatggtgt ccagtgtcag
60
gtgcagcttg tagagaccgg gggaggcttg gtgaggcctg gaaattctct gaaactctcc
120
tgtgttacct cgggattcac tttcagtaac taccggatgc actggcttcg ccagcctcca
180
gggaagaggc tggagtggat tgctgtaatt acagtcaaat ctgataatta tggagcaaat
240
tatgcagagt ctgtgaaagg cagattcact atttcaagag atgattcaaa aagcagtgtc
300
tacctgcaga tgaacagatt aagagaggaa gacactgcca cttattattg tagtagatcg
360
gtctactatg gttacgtcct agcctttgac tactggggcc aaggcaccac tctcacagtc
420
tcctcagcca aaacgacacc cccatctgtc tatccactgg ccctaaggg c
471

30 <210> 44
<211> 157
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 44

ES 2 638 088 T3

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

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Arg
 20 25 30

Pro Gly Asn Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Thr Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45

Ser Asn Tyr Arg Met His Trp Leu Arg Gln Pro Pro Gly Lys Arg Leu
 50 55 60

Glu Trp Ile Ala Val Ile Thr Val Lys Ser Asp Asn Tyr Gly Ala Asn
 65 70 75 80

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

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

Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Arg Ser Val Tyr Tyr Gly Tyr Val Leu Ala
 115 120 125

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys
 130 135 140

Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Lys Gly
 145 150 155

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

<400> 45

10 Asn Tyr Arg Met His
 1 5

<210> 46
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

15 <400> 46

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

Val Lys Gly

<210> 47

ES 2 638 088 T3

<211> 12
<212> PRT
<213> Mus musculus

5 <400> 47
Ser Val Tyr Tyr Gly Tyr Val Leu Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 48
<211> 402
<212> ADN
10 <213> Mus musculus

<400> 48
atgatgtcct ctgctcagtt ccttgggtctc ctggtgctct gttttcaagg taccagatgt
60
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc
120
atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca
180
gatggaactg ttaaactcct gatctaactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca
240
aggttcagtg gcagtggtgc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa
300
gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtggac gttcgggtgga
360
ggcaccaagc tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ct
402

15 <210> 49
<211> 134
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 49

ES 2 638 088 T3

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15

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

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

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
 50 55 60

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser

85

90

95

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn
 100 105 110

Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 115 120 125

Ala Asp Ala Ala Pro Thr
 130

5

<210> 50
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 50

10

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

<210> 51
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

15

<400> 51

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
 1 5

20

<210> 52
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 52

ES 2 638 088 T3

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
 1 5

5 <210> 53
 <211> 465
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

<400> 53
 atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttggtt taaaagggtg ccagtggtgaa
 60
 gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaactctcc
 120
 tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca
 180
 gagaagagggc tggagtgggt cgcatacatt agtaatgggtg gtggtagcac ctattatcca
 240
 gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
 300
 caaatgagcc gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acatgtttac
 360
 tacgggagga actatgctat ggactactgg ggccaaggaa cctcagtcac cgtctcctca
 420
 gccaaaacaa caccctcatc agtctatcca ctggccccta agggc
 465

10 <210> 54
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 54
 Met Asn Leu Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
 1 5 10 15
 Val Gln Cys Glu Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Asp Tyr Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
 50 55 60
 Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Asn Gly Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro
 65 70 75 80

15

ES 2 638 088 T3

atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccttgttt taaaaggtgt ccagtgtaa
60

gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaactctcc
120

tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca
180

gagaagagggc tggagtgggt cgcatacatt agtaatgggtg gtggtagcac ctattatcca
240

gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
300

caaatgagcc gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acatgtttac
360

tacgggagga actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca
420

gccaaaacaa cacccccatc agtctatcca ctggccccta agggc
465

<210> 59

<211> 155

<212> PRT

<213> Mus musculus

5

<400> 59

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15

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

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

ES 2 638 088 T3

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
 50 55 60

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

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

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn
 100 105 110

Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 115 120 125

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

Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe
 145 150 155

5 <210> 60
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 60

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

10 <210> 61
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 61

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
 1 5

15 <210> 62
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 62

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
 1 5

25 <210> 63
 <211> 458
 <212> ADN
 <213> Mus musculus

<400> 63

ES 2 638 088 T3

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

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

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ile Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr
 130 135 140

Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
 145 150

5 <210> 65
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 65
 Ser Tyr Trp Met Gln
 1 5

10 <210> 66
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

15 <400> 66
 Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

20 <210> 67
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

ES 2 638 088 T3

<400> 67

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

<210> 68

<211> 430

<212> ADN

<213> Mus musculus

5

<400> 68

atggagacag acacaatcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt
60

gacattgtgc tgaccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc
120

atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatgggtg atagttatat gaactgggtac
180

caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatg ctgcatccaa tctagaatct
240

gggatcccag ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat
300

cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatcctctc
360

acgttcgggtg ctgggaccaa gctggagctg aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc
420

atcaagggcg
430

10

<210> 69

<211> 143

<212> PRT

<213> Mus musculus

15

<400> 69

ES 2 638 088 T3

Met Glu Thr Asp Thr Ile Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
 1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala
 20 25 30

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

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

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

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 85 90 95

Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
 100 105 110

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

Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Lys Gly
 130 135 140

5 <210> 70
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 70
 Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn
 1 5 10 15

10 <210> 71
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

15 <400> 71
 Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

20 <210> 72
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 72
 Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu
 1 5

<210> 73

ES 2 638 088 T3

<223> Cebador inverso
<400> 78
aaagaattcc tagcactctc ccctggtgaa
30
5 <210> 79
<211> 39
<212> ADN
<213> Artificial
10 <220>
<223> Cebador directo
<400> 79
ttaaagcttg ccgccacat gaacttgggg ctcagcttg
39
15 <210> 80
<211> 42
<212> ADN
<213> Artificial
20 <220>
<223> Cebador inverso
<400> 80
cgatgggccc ttggtgctag ctgaggagac ggtgactgag gt
42
25 <210> 81
<211> 39
<212> ADN
<213> Artificial
30 <220>
<223> Cebador directo
<400> 81
accaagcttg ccgccacat gatgtcctct gctcagttc
39
35 <210> 82
<211> 33
<212> ADN
<213> Artificial
40 <220>
<223> Cebador inverso
<400> 82
agccacagtt cgtttgattt ccagcttggg gcc
33
45 <210> 83
<211> 33
<212> ADN
<213> Artificial
50 <220>
<223> Cebador directo
<400> 83
ctggaaatca aacgaactgt ggctgcacca tct
33
55

ES 2 638 088 T3

5
<210> 84
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cebador inverso

<400> 84
aaagaattcc tagcactctc ccctgttgaa
30
10
<210> 85
<211> 39
<212> ADN
<213> Artificial
15
<220>
<223> Cebador directo

<400> 85
ttaaagcttg ccgccacat ggaatgtaac tggatactt
39
20
<210> 86
<211> 42
<212> ADN
<213> Artificial
25
<220>
<223> Cebador inverso

<400> 86
cgatgggccc ttggtgctag ctgaggagac ggtgactgag gt
42
30
<210> 87
<211> 39
<212> ADN
<213> Artificial
35
<220>
<223> Cebador directo

<400> 87
accaagcttg ccgccacat ggagacagac acaatcctg
39
40
<210> 88
<211> 33
<212> ADN
<213> Artificial
45
<220>
<223> Cebador inverso

<400> 88
agccacagtt cgtttcagct ccagcttggt ccc
33
50
<210> 89
<211> 33
<212> ADN
<213> Artificial
55
<220>
<223> Cebador directo

ES 2 638 088 T3

<400> 89
ctggagctga aacgaactgt ggctgcacca tct
33

5 <210> 90
<211> 30
<212> ADN
<213> Artificial

10 <220>
<223> Cebador inverso

<400> 90
aaagaattcc tagcactctc ccctggtgaa
30

15 <210> 91
<211> 1419
<212> ADN
<213> Artificial

20 <220>
<223> Secuencia de ácido nucleico de cadena pesada de anticuerpo 9H5-4 quimera anti-PTPRS

<400> 91
atggagttgg gactgagctg ggtatttctt gtggctcttt tgaatggtgt ccagtgtcag
60

ES 2 638 088 T3

gtgcagcttg tagagaccgg gggaggcttg gtgaggcctg gaaattctct gaaactctcc
120

tgtgttacct cgggattcac tttcagtaac taccggatgc actggcttcg ccagcctcca
180

gggaagaggc tggagtggat tgctgtaatt acagtcaaat ctgataatta tggagcaaat
240

tatgcagagt ctgtgaaagg cagattcact atttcaagag atgattcaaa aagcagtgtc
300

tacctgcaga tgaacagatt aagagaggaa gacactgccca cttattattg tagtagatcg
360

gtctactatg gttacgtcct agcctttgac tactggggcc aaggcaccac tctcacagtc
420

tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctctc caagagcacc
480

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg
540

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttccccgc tgtcctacag
600

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag ctgggcacc
660

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt
720

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccagcacc tgaactcctg
780

gggggaccgt cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccg
840

accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc
900

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgcccaaga caaagccgcg ggaggagcag
960

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat
1020

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc
1080

atctccaaag ccaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg

ES 2 638 088 T3

1140

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc
1200

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct
1260

cccgtgctgg actccgacgg ctctttcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc
1320

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac
1380

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaatga
1419

<210> 92

<211> 472

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 9H5-4 quimera anti-PTPRS

10 <400> 92

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

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Val Arg
20 25 30

Pro Gly Asn Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Thr Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Asn Tyr Arg Met His Trp Leu Arg Gln Pro Pro Gly Lys Arg Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Ala Val Ile Thr Val Lys Ser Asp Asn Tyr Gly Ala Asn
65 70 75 80

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

ES 2 638 088 T3

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

Ala Thr Tyr Tyr Cys Ser Arg Ser Val Tyr Tyr Gly Tyr Val Leu Ala
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

ES 2 638 088 T3

atgatgtcct ctgctcagtt ccttggctct ctgttgctct gttttcaagg taccagatgt
60
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc
120
atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca
180
gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca
240
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa
300
gaagatattg ccaettactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtggac gttcgggtgga
360
ggcaccaagc tggaaatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca
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 gcgaagtcac ccatcagggc
660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gctag
705

<210> 94
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial

5

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 9H5-4 quimera anti-PTPRS

10

<400> 94
Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
1 5 10 15
Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser

ES 2 638 088 T3

20 25 30

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

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
 50 55 60

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

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

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn
 100 105 110

Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu 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> 95
 <211> 1413
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 quimera anti-PTPRS

10

<400> 95

ES 2 638 088 T3

atgaacttgg ggctcagctt gattttcctt gtccctgttt taaaaggtgt ccagtgtgaa
60
gtgaagctgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gagggtcctt gaaactctcc
120
tgtgcaacct ctggattcac tttcagtgac tattacatgt attgggttcg ccagactcca
180
gagaagaggc tggagtgggt cgcatacatt agtaatggtg gtggtagcac ctattatcca
240
gacactgtaa agggccgatt caccatctcc agagacaatg ccaagaacac cctgtacctg
300
caaatgagcc gtctgaagtc tgaggacaca gccatgtatt actgtgcaag acatgtttac
360
tacgggagga actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca
420
gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg
480
ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgctg
540
tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtcttctt acagtcctca
600
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc
660
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc
720
aaatcttgtg acaaaaactca cacatgccca ccgtgccag cacctgaact cctgggggga
780
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt
840

ES 2 638 088 T3

gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg
900

tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
960

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtctctgacc aggactggct gaatggcaag
1020

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc
1080

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc ccgggatgag
1140

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
1200

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
1260

ctggactccg acggctcctt cttctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
1320

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccaactacag
1380

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga
1413

<210> 96

<211> 470

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo 13G5-57 quimera anti-PTPRS

<400> 96

Met Asn Leu Gly Leu Ser Leu Ile Phe Leu Val Leu Val Leu Lys Gly
1 5 10 15

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

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

ES 2 638 088 T3

Ser Asp Tyr Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
50 55 60

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

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Val Tyr Tyr Gly Arg Asn Tyr Ala Met Asp
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

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

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
180 185 190

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

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
210 215 220

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
225 230 235 240

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

ES 2 638 088 T3

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 260 265 270

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

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

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

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 325 330 335

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 340 345 350

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 355 360 365

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
 385 390 395 400

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
 405 410 415

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

5 <210> 97
 <211> 705
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>

ES 2 638 088 T3

<223> Secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 quimera anti-PTPRS

<400> 97

```
atgatgtcct ctgctcagtt ccttgggtctc ctgttgcct gttttcaagg taccagatgt
 60
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc
120
atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actgggatca gcagaaacca
180
gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca
240
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa
300
gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg
360
gggaccaagc tggaaataaa acgaactgtg gctgcacat 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 gcgaagtcac ccatcagggc
660
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gctag
705
```

5

<210> 98
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial

10

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo 13G5-57 quimera anti-PTPRS

<400> 98

ES 2 638 088 T3

Met Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln
 1 5 10 15

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

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

Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val
 50 55 60

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

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

Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn
 100 105 110

Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu 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> 99
 <211> 1413
 <212> ADN
 <213> Artificial

ES 2 638 088 T3

<220>

<223> Secuencia de ácido nucleico de la cadena pesada del anticuerpo 22H8-84 quimera anti-PTPRS

<400> 99

atggaatgta actggatact tccttttatt ctgtcagtaa cttcaggtgt ctactcacag
60

gttcagctcc agcagtctgg ggctgagctg gcaagacctg gggcttcagt gaagttgtcc
120

tgcaaggctt ctggctacac ctttactagc tactggatgc agtgggtaaa acagaggcct
180

ggacagggtc tggaatggat tggggctatt tatcctggag atggtgatac taggtacact
240

cagaagtca agggcaaggc cacattgact gcagataaat cctccagcac agcctacatg
300

caactcagca gcttggcadc tgaggactct gcggtctatt actgtgcaag aaggatttac
360

tacggctatt actatgctat ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca
420

gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg
480

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg
540

5

ES 2 638 088 T3

tggaactcag ggcocctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca
600

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcocctcca gcagcttggg caccagacc
660

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc
720

aaatcttgtg acaaaaactca cacatgccc aacgtgcccag cacctgaact cctgggggga
780

ccgtcagtct tcctcttccc ccaaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct
840

gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg
900

tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac
960

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtccctgcacc aggactggct gaatggcaag
1020

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc
1080

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag
1140

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc
1200

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg
1260

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
1320

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg
1380

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa tga
1413

<210> 100

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial

5

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos de cadena pesada de anticuerpo 22H8-84 quimera anti-PTPRS

10

<400> 100

ES 2 638 088 T3

Met Glu Cys Asn Trp Ile Leu Pro Phe Ile Leu Ser Val Thr Ser Gly
 1 5 10 15

Val Tyr Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg
 20 25 30

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

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

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
 85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Ile Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
 115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
 130 135 140

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

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
 165 170 175

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
 180 185 190

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val

ES 2 638 088 T3

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 101
 <211> 717
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de ácido nucleico de la cadena ligera anticuerpo 22H8-84 quimera anti-PTPRS

10

<400> 101

atggagacag acacaatcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt
 60

gacattgtgc tgaccaatc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc
 120

atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatggtg atagttatat gaactggtac
 180

caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcatctatg ctgcatccaa tctagaatct
 240

gggatcccag ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat
 300

cctgtggagg aggaggatgc tgcaacctat tactgtcagc aaagtaatga ggatcctctc
 360

acgttcgggtg ctgggaccaa gctggagctg aaacgaactg tggctgcacc atctgtcttc
 420

atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg
 480

aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg

ES 2 638 088 T3

540

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc
600

agcacccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc
660

accatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgctag
717

<210> 102
<211> 238
<212> PRT
<213> Artificial

5

<220>
<223> Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de anticuerpo 22H8-84 quimera anti-PTPRS

10

<400> 102

Met Glu Thr Asp Thr Ile Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala
20 25 30

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

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

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

Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
85 90 95

Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
100 105 110

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

ES 2 638 088 T3

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

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

Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn
 165 170 175

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

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

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

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

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo que se une a un dominio extracelular de la proteína tirosina fosfatasa σ de tipo receptor humano (PTPRS humana) sobre una célula dendrítica plasmocitóide y suprime la producción de IFN por, y/o la supervivencia de, la célula.
2. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo es producido por el hibridoma 9H5-4 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11356, el hibridoma 10F7-38 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11357, el hibridoma 13G5-52 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11358, el hibridoma 13G5-57 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11359, el hibridoma 14A8-85 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11360, el hibridoma 22H8-84 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11361, el hibridoma 49F2-30 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11362 o el hibridoma 55E7-79 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11363.
3. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicho anticuerpo es producido por el hibridoma 55E7-79 que se depositó como Núm. de Acceso FERM BP-11363.
4. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con la reivindicación 1, que se produce mediante recombinación genética a partir del anticuerpo producido por el hibridoma de acuerdo con la reivindicación 2 ó 3.
5. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con la reivindicación 4, que es humanizado.
6. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5, que se produce por ingeniería genética utilizando un polinucleótido que codifica el anticuerpo.
7. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende:
- (A) una CDR1 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 45, una CDR2 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 46, una CDR3 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 47, una CDR1 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 50, una CDR2 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 51, y una CDR3 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 52;
- (B) una CDR1 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 55, una CDR2 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 56, una CDR3 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 57, una CDR1 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: ID NO: 60, una CDR2 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 61, y una CDR3 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 62;
- (C) una CDR1 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 65, una CDR2 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 66, una CDR3 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 67, una CDR1 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: ID NO: 70, una CDR2 de cadena ligera presentada en el SEQ ID NO: 71, y una CDR3 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 72;
- (D) una CDR1 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 27, una CDR2 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 28, una CDR3 de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 29, una CDR1 de cadena ligera expuesta en la SEC ID NO: 32, una CDR2 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 33, y una CDR3 de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 34;
- (E) una región variable de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 44 y una región variable de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 49;
- (F) una región variable de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 54 y una región variable de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 59;
- (G) una región variable de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 64 y una región variable de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 69; o
- (H) una región variable de cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 26 y una región variable de cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 31.
8. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con la reivindicación 1, que está quimerizado.
9. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende:
- (A) una cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 92 y una cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 94;
- (B) una cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 96 y una cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 98;
- (C) una cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 100 y una cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 102;
- o
- (D) una cadena pesada expuesta en el SEQ ID NO: 36 y una cadena ligera expuesta en el SEQ ID NO: 38.
10. Un hibridoma que produce el anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1.

11. Un método para la producción de una célula que produce el anticuerpo monoclonal de la reivindicación 1, que comprende:
- 5 1) administrar una célula que expresa una proteína exógena que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana a un animal para inmunizar al animal con la célula y
 - 2) seleccionar una célula productora de anticuerpos que produce el anticuerpo de la reivindicación 1 del animal inmunizado.
12. El anticuerpo o fragmento monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho anticuerpo puede obtenerse mediante las siguientes etapas:
- 15 1) administrar a un animal una célula que expresa exógenamente una proteína que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana para inmunizar al animal con la célula;
 - 2) seleccionar una célula productora de anticuerpos que produce un anticuerpo que se une a PTPRS humana a partir de la célula productora de anticuerpos del animal inmunizado; y
 - 3) cultivar la célula productora de anticuerpos seleccionada en el apartado (2), y recoger del cultivo un anticuerpo que reconoce PTPRS humana, se une a una célula dendrítica plasmocitóide y suprime la actividad de la célula dendrítica plasmocitóide;
- 20 en donde la actividad de la célula dendrítica plasmocitoide es la producción de IFN y/o la supervivencia celular.
13. El uso de un inmunógeno para la producción del anticuerpo monoclonal de la reivindicación 1, que comprende una célula animal que conserva exógena y expresablemente un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos que incluye un dominio extracelular de PTPRS humana, o una fracción de membrana celular de la misma.
- 25 14. El uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde la célula animal es una célula derivada de ratón.
15. Un método para la detección de una célula dendrítica plasmocitóide, que comprende poner en contacto un anticuerpo monoclonal o un fragmento que incluye una región de unión a antígeno del mismo que se une a un dominio extracelular de PTPRS humana con una célula sujeto y detectar dicho anticuerpo monoclonal o fragmento que se ha unido a la célula.
- 30 16. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y 12 para uso en la detección de una célula dendrítica plasmocitóide.
- 35 17. Un método *ex vivo* para suprimir la actividad de una célula dendrítica plasmocitóide, que comprende poner en contacto el anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y 12 con la célula dendrítica plasmocitóide, en donde dicha actividad de la célula dendrítica plasmocitóide es la producción de IFN y/o la supervivencia celular.
- 40 18. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y 12 para su uso en el tratamiento del organismo humano o animal mediante terapia.
- 45 19. El anticuerpo monoclonal o fragmento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y 12 para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria en la que se mejora la expresión de IFN-alfa.

FIG. 1

MAPTWGPGMSVVGMGLLWLLVGGCAAEEPPRFKEPKDQIGVSGGVAFCQATGDPKPRVTWTKKGGKKNVNSQRFEIEFDE
Péptido Señal
SAGAVLRIQPLRTRPDENYECVAQNSVGEITVHAKLTVLREDQLPSGFFNIDMGPQKVKVERTRTATMLCAASGNPDPEITWEKDE
Dominio tipo Ig
LPVDPSANGRIKQLRSGALQIESSEETDQGKYECVAINSAGRYSSPANLYVRRVAPRESILPMSHEIMPGGNNIICVAVGSP
Dominio similar a fibronectina tipo III
MPYVKWMQGAEDLTPEDDMPVGRNVLELTDVKDSANYICVAMSSLGVIFAVAITVKSLPKARGTPMVTENTAISIIIITWDSGNPD
Dominio similar a fibronectina tipo III
PVSYVYIEYKSKQDGPYQIKEDITITRYSIGGLSPNSEYEWWSAVNSIGQGPSESVTRIGEQAPASAPRNVQARMLSATIMVQ
Dominio similar a fibronectina tipo III
WEEVEPNGLIRGYRVYYTMEPEHEVGNWOKHNVDDSLLITVGSLLEFETYTVRVLAETSVGDGPLSDPIQVKTQQYVGQPMNL
RAEARSEISILSWSPRRQESIKYELLEREGDHGREVGRIEDPIISXAVEDLKNIEYAERLAARSPQLGAEFPAVRQRTLQSISP
Dominio similar a fibronectina tipo III
KNEKWKMIMKTSVLLSWEEPDNYNSPEYKIQYNGLILDVDGRITIKLITHIKPHEYNEVLNRGSSLGLQQTVTAWTAFLLNG
KPSVAPKPDADGFIMVYLPDGQSPVQSYFIVMPLRKSRGQFLTPLGSPEDMDLEELIQDISRLQRRSLRHSRQLEVPRYIAAR
FSVLPPTFHPGDQKYGGFDNRGLEPGHRYVLFVLAVLQKSEPTFAASPFSDPFQLDNPDPQPIVDGEGLIWVGPVLAVFICIVI
Región transmembrana
AILYKNKPDSKRKDSEPRTKCLLNNADLAPHHPKDPVEMRRINFQTPGMLSHPPIADMAEHTERLKANDSLKLSQEYESIDPPGQQ
FTWEHSNLEVNKPNRYANVIAYDHSRVLQPIEGIMGSDYINANYVDGYRCQNAYIATQGLPETFGDFWRMVWEQRSATIVMMIT
Dominio PTP
RLEEKSRIKDQYWPNRGTETYGFIQVTLLDTELATFCVRTFSLHKNGSSEKREVRQFTAWPDHGVPEYPTPLFLLRRVKTCN
PPDAGPIVHCSAGVGRTGCFIVDAMLERKPEKTVDYGHVTLMRSQRNYMVQTEDQYSFIHEALLEAVGCGNTEVPARSLYAYIQ
KLAQVEPGEHVTGMELEFKRLANSKAHTSRFISANLPCNKFKNRLVNIMPYESTRVCLQPIRGVEGSDYINASFIDGYRQQKAYIATQ
Dominio PTP
GPLAETTEDEWRMLWENNSTIVWMLTKLREMGREKCHQWPAERSARYQYEWDPMAEYNMPQYILREFKVIDARDGQSRTVRQ
FQFDWPEQVPKSGEGEIDEIGVHKTEQEGQDGPISVHCSAGVGRIGVEITLSIVLERMRYEGVDIEQTVKMLRTQRPAMVQTI
EDEYQECYQAALEYLGSFDHYAT

FIG. 2

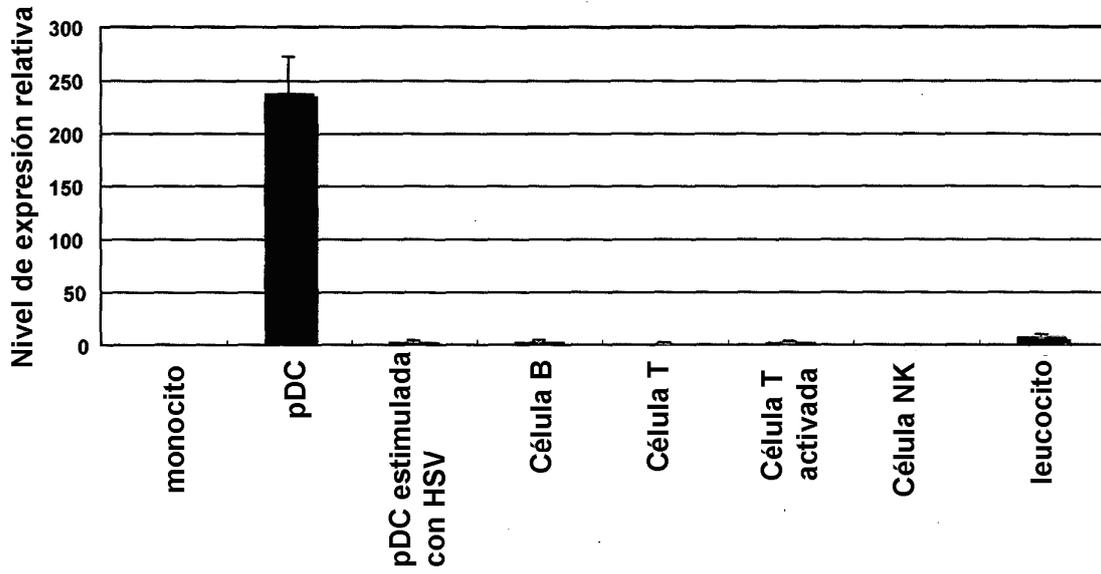


FIG. 3

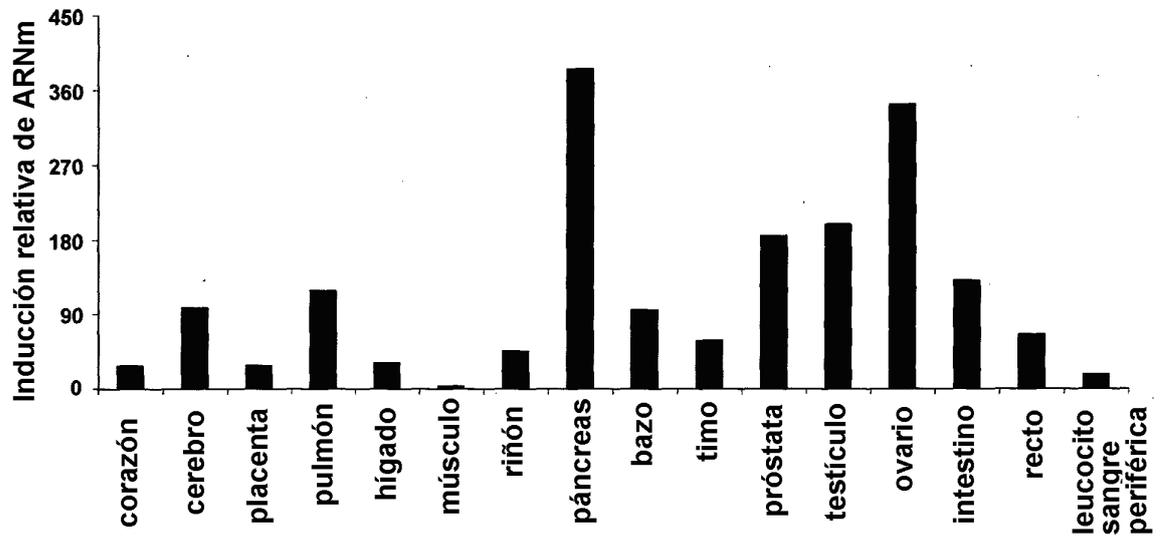


FIG. 4

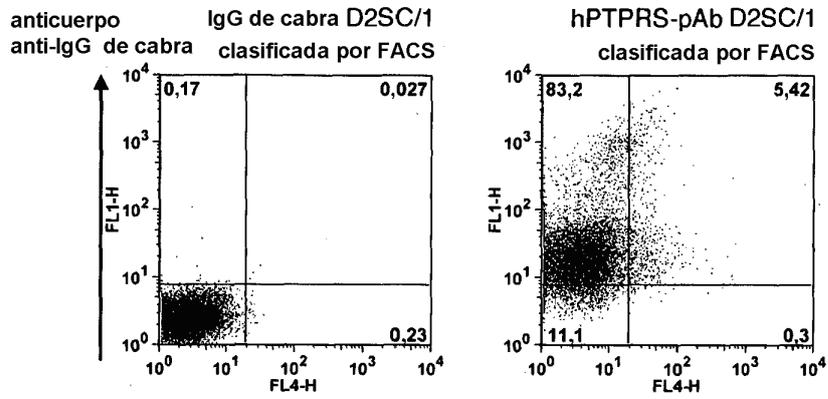
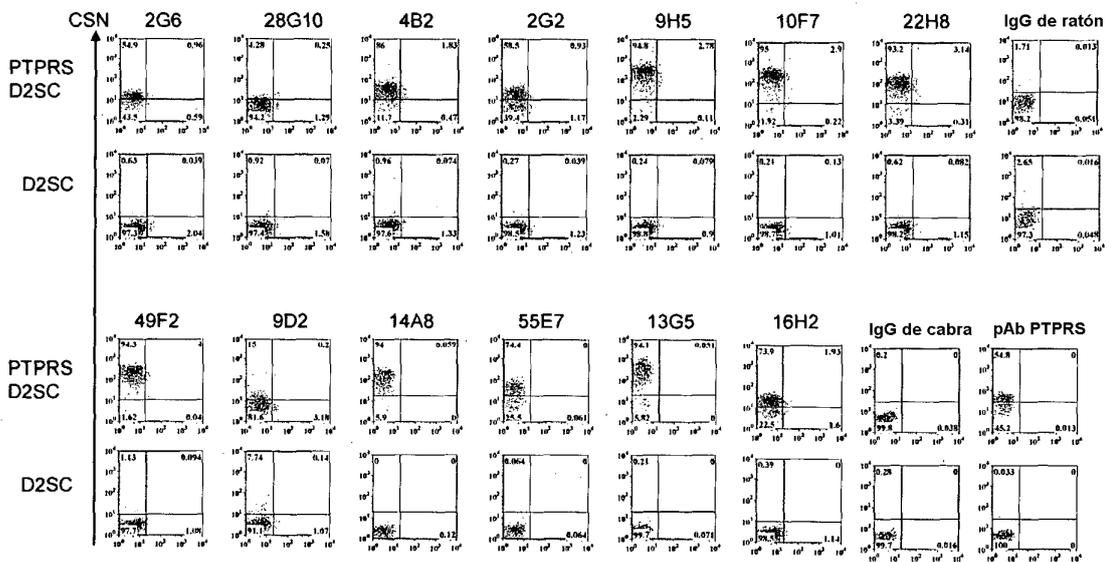


FIG. 5



CSN: Sobrenadante de cultivo

FIG. 6

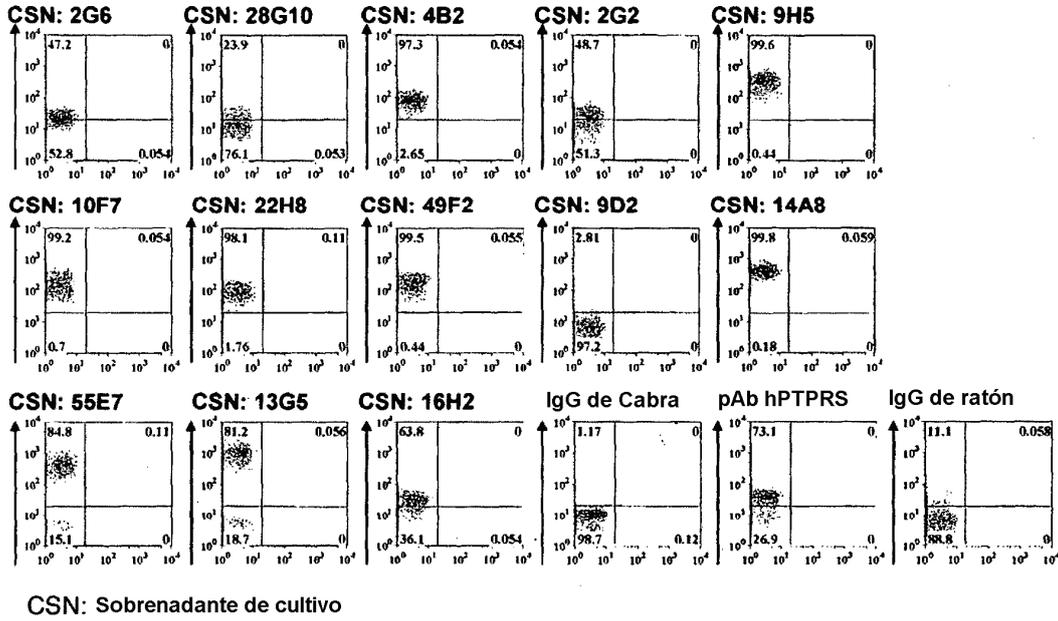


FIG. 7

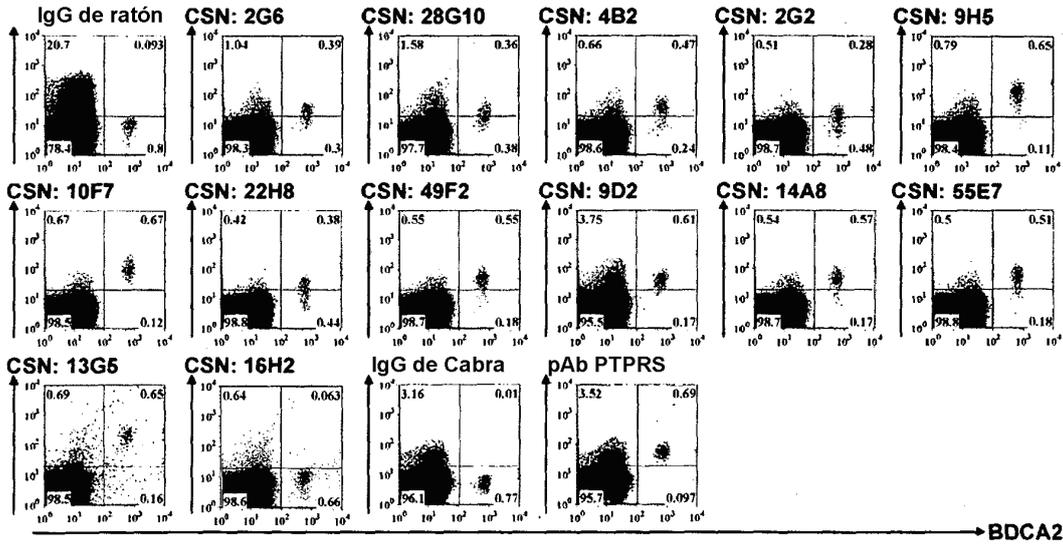


FIG. 8

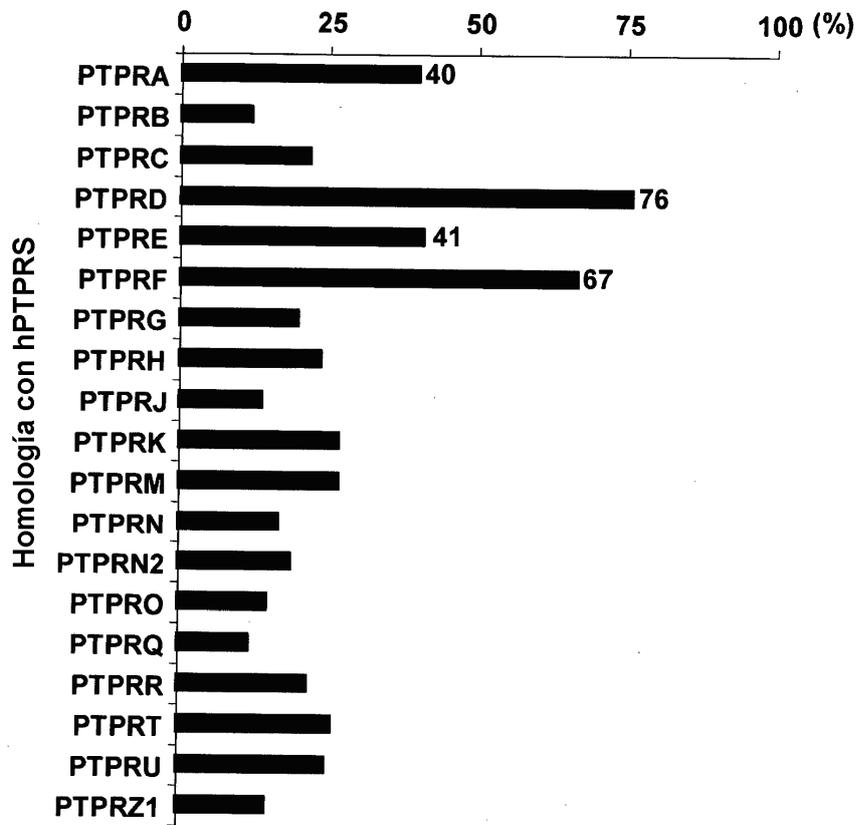


FIG. 9A

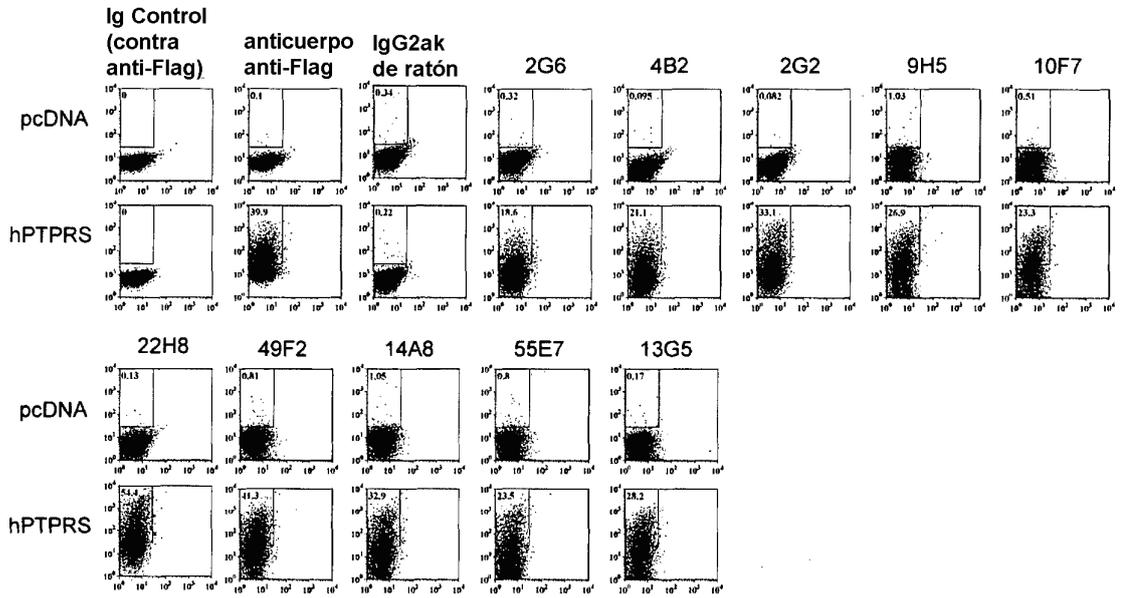


FIG. 9B

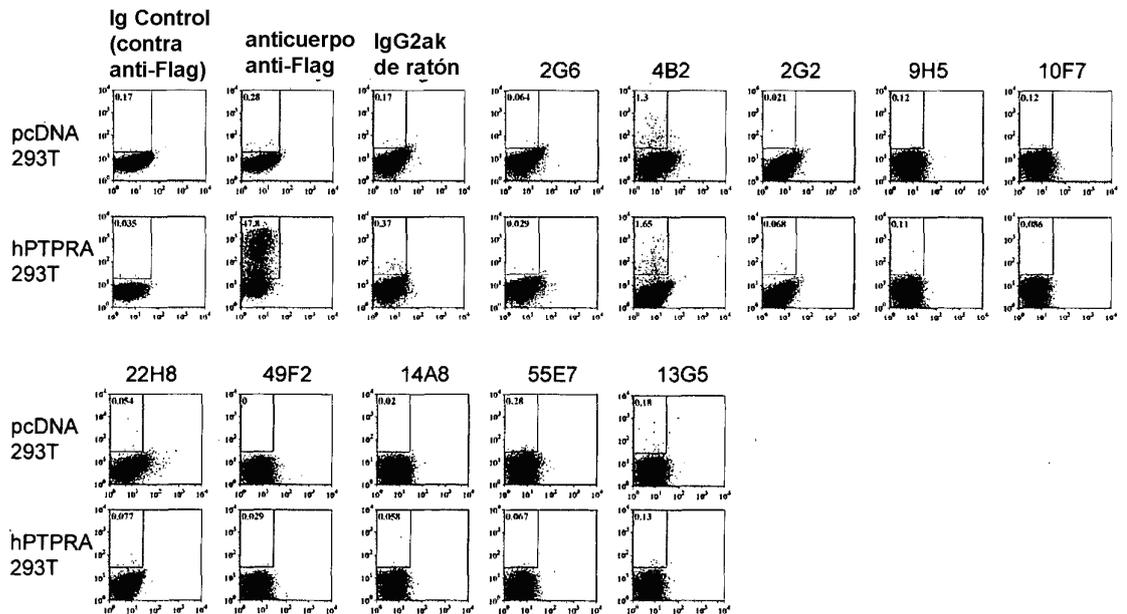


FIG. 9C

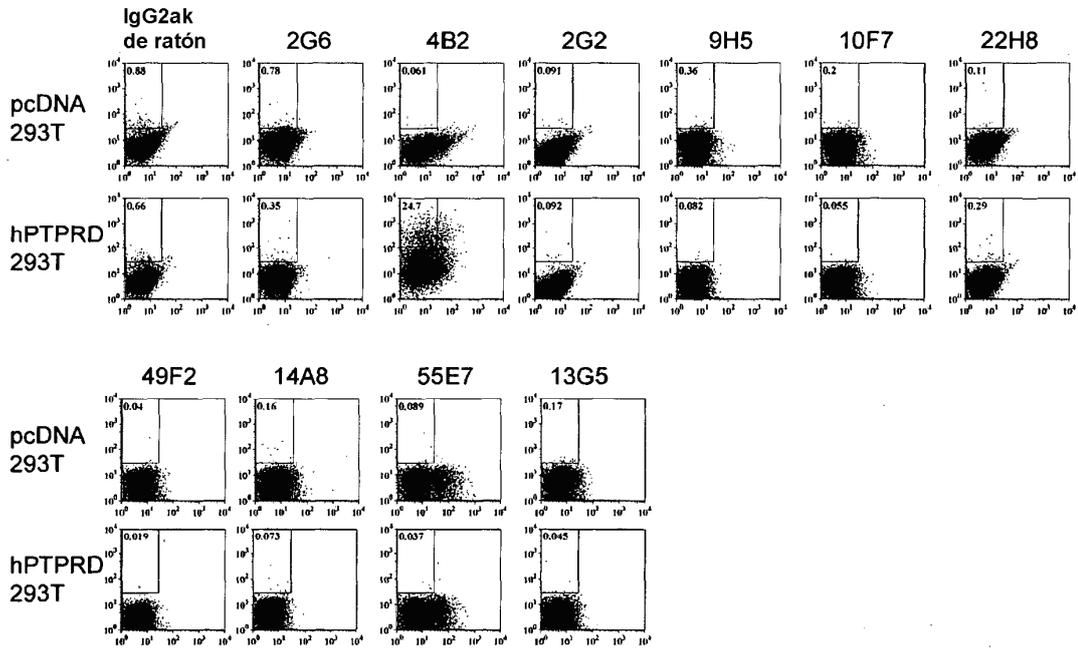


FIG. 9D

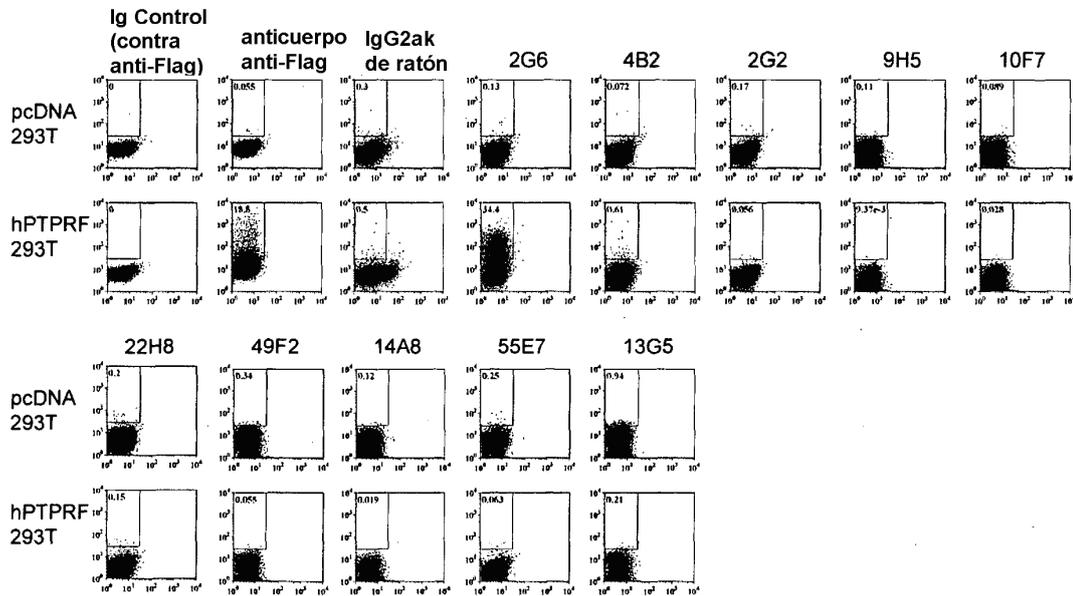


FIG. 10

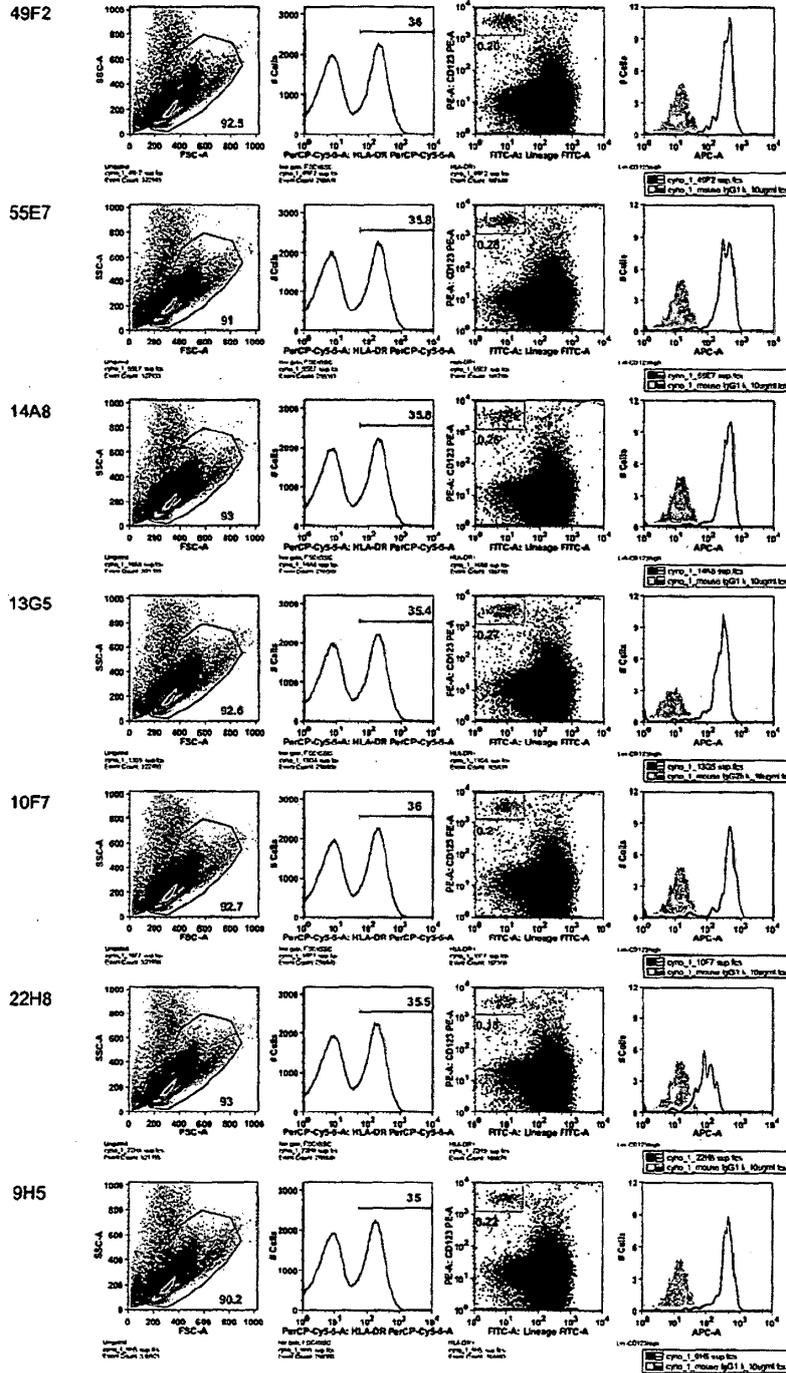


FIG. 11A

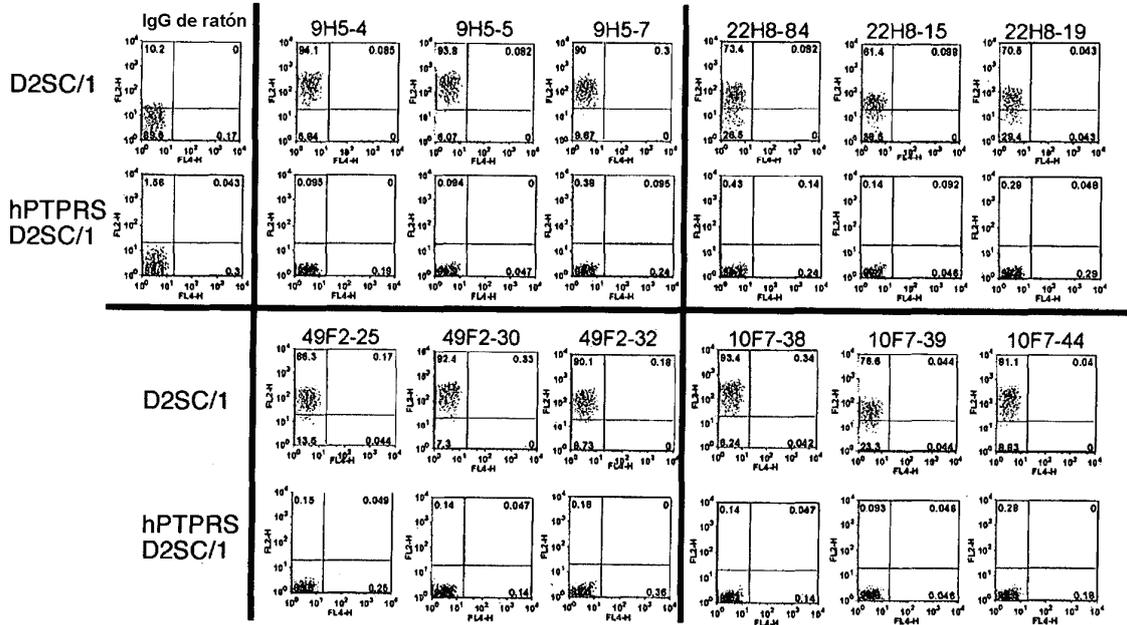


FIG. 11B

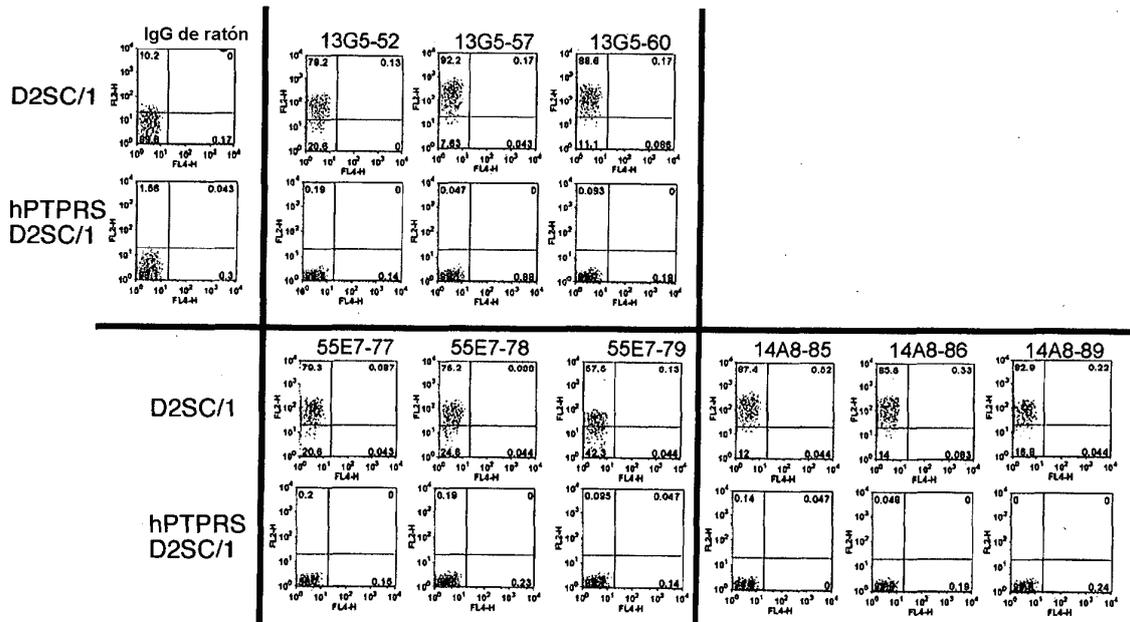


FIG. 11C

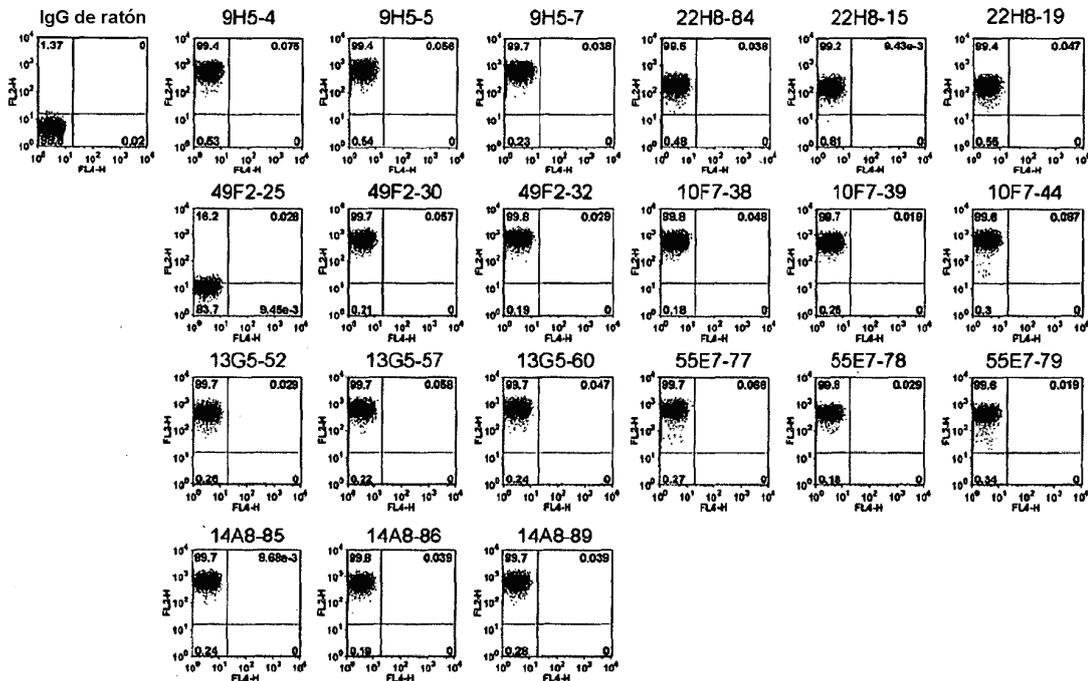


FIG. 11D

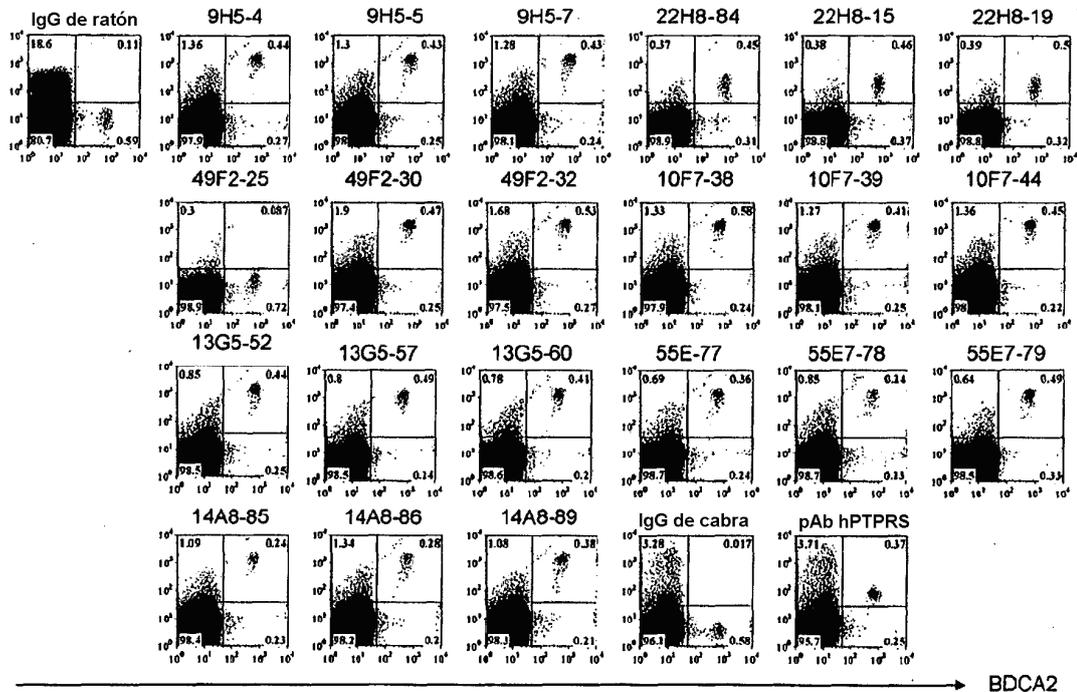


FIG. 12

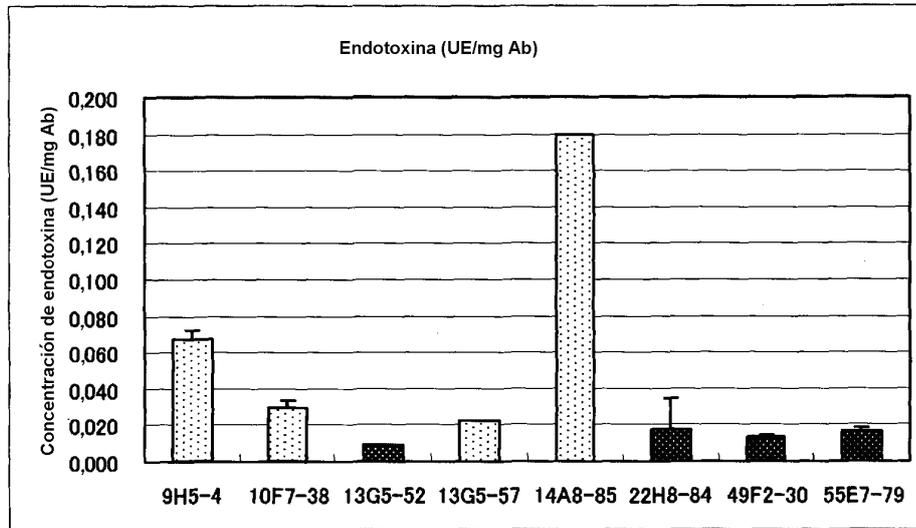
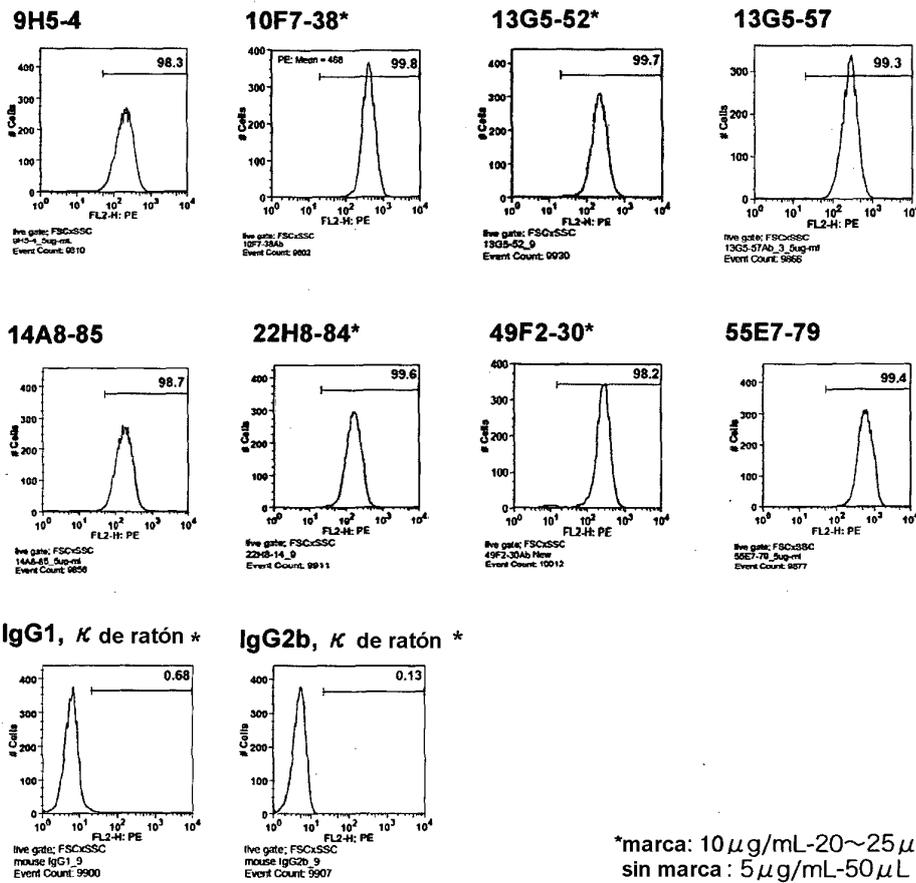


FIG. 13



*marca: 10 µg/mL-20~25 µL
sin marca: 5 µg/mL-50 µL

FIG. 14

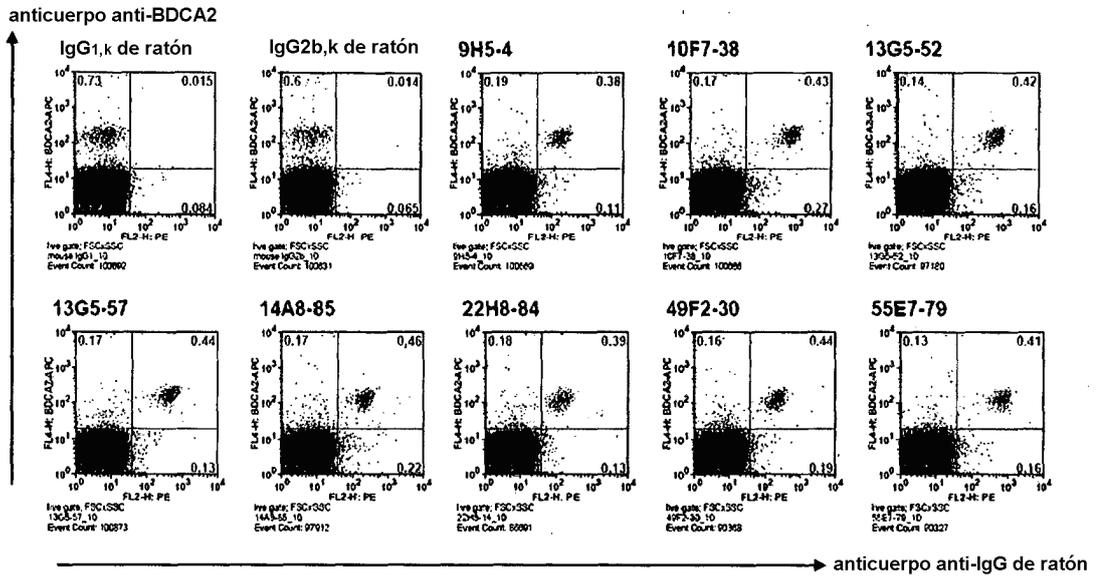


FIG. 15

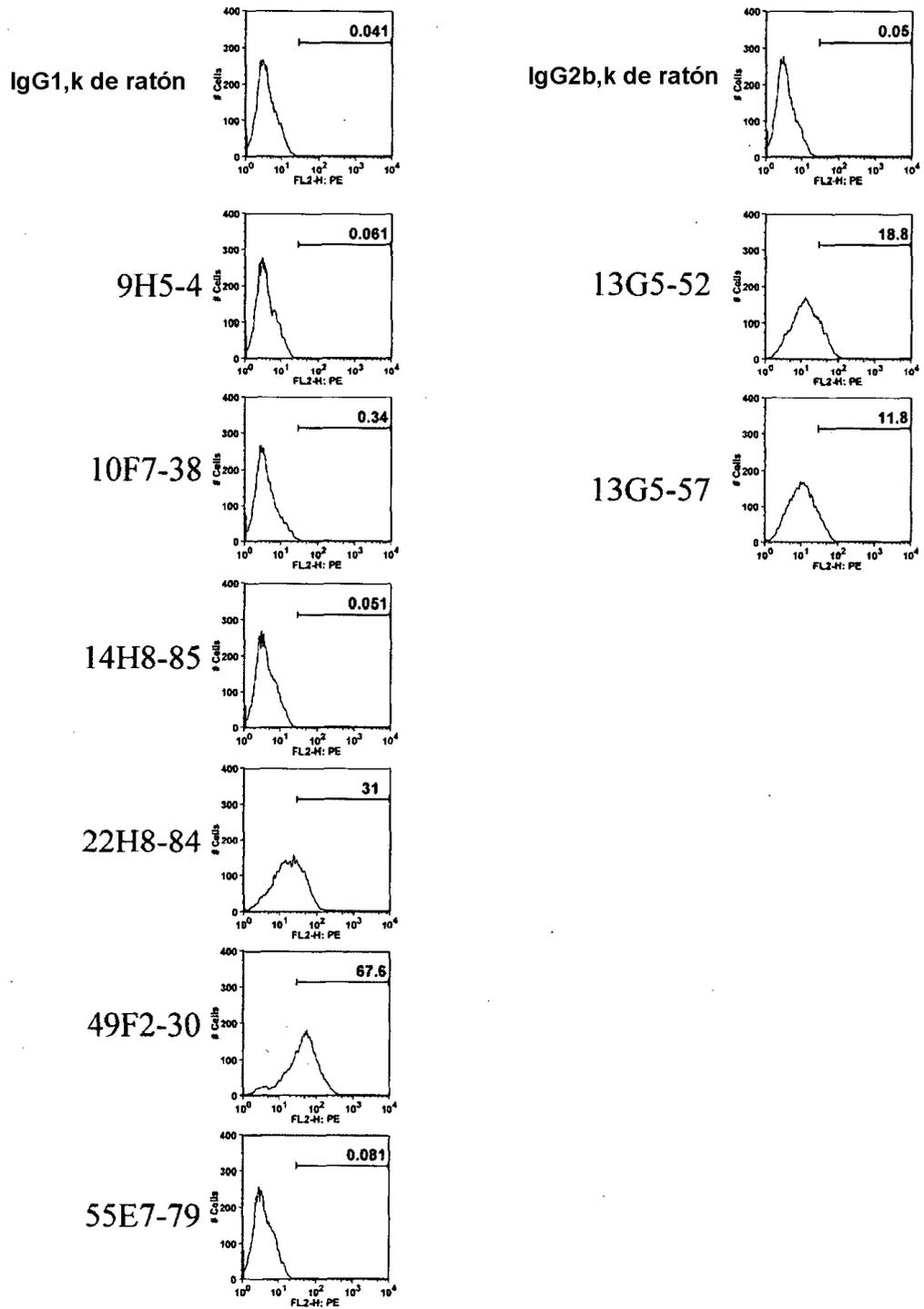
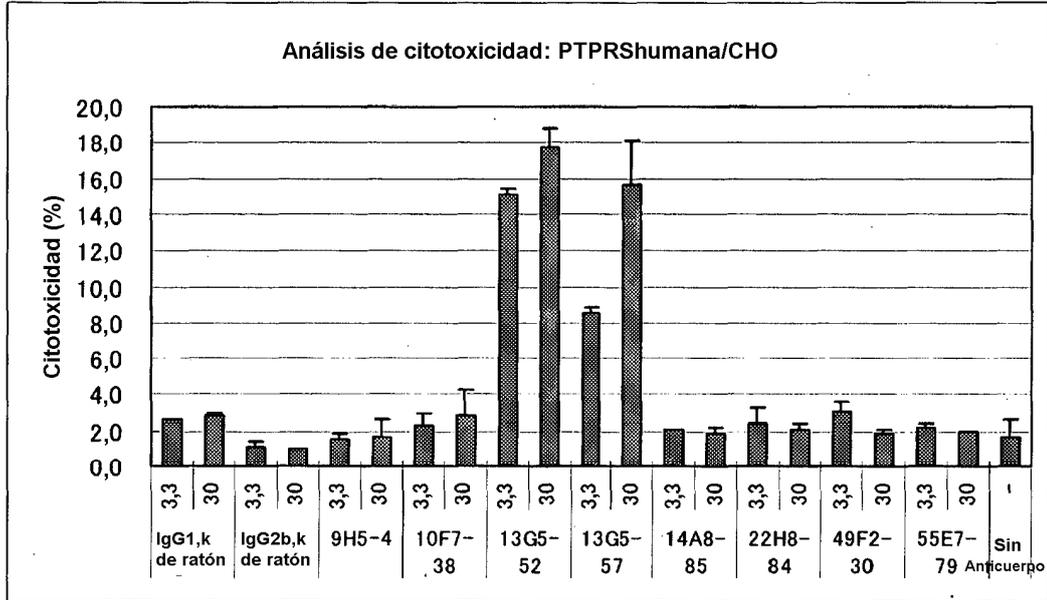


FIG. 16

A



B

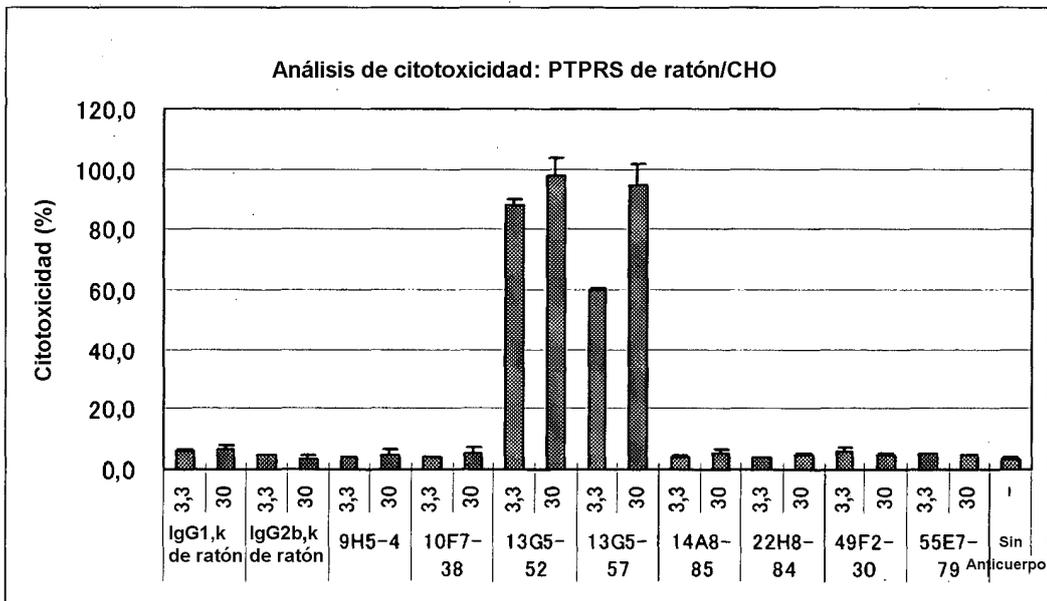


FIG. 17

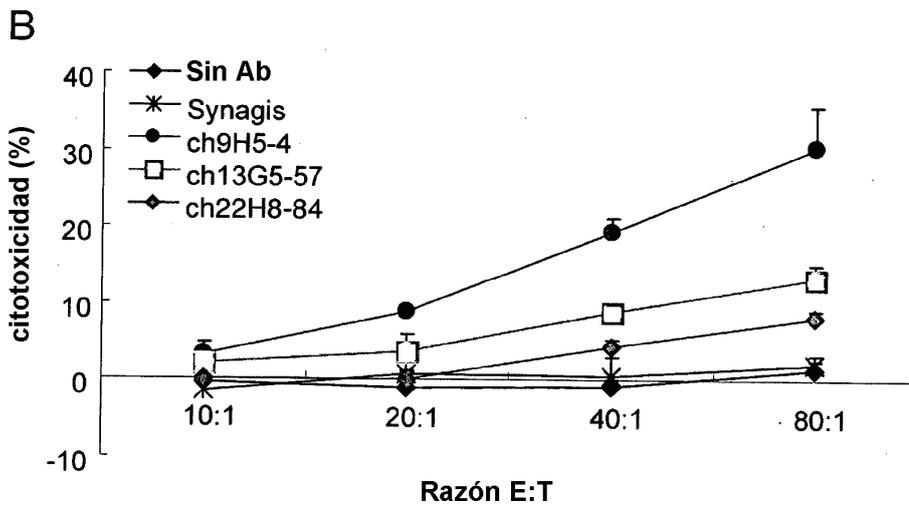
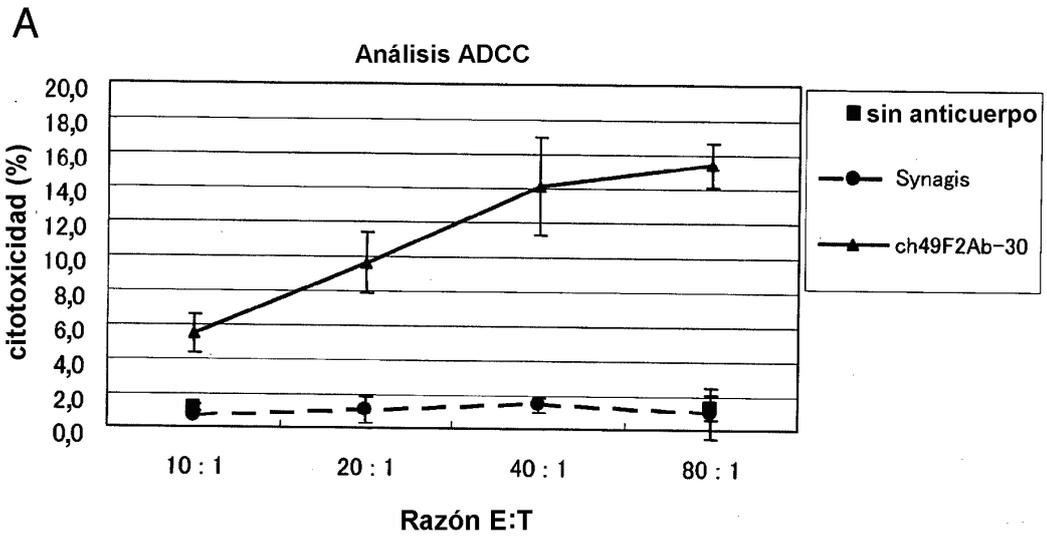
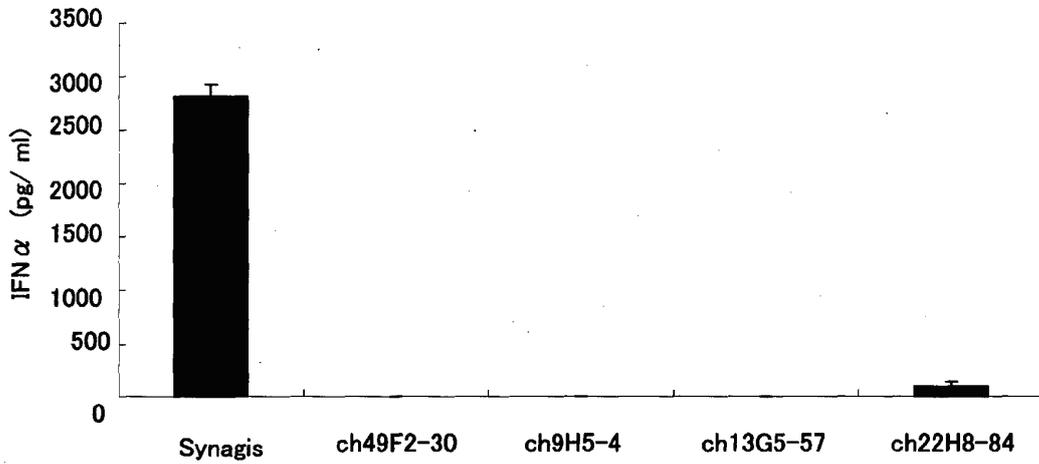
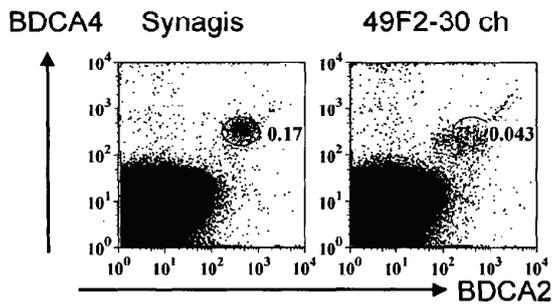


FIG. 18

A



B



C

