

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 671 506**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)

**A61K 39/395** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.12.2013 PCT/US2013/077452**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.07.2014 WO14105810**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.12.2013 E 13821368 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 2935331**

54 Título: **Proteínas de unión al receptor de prolactina y usos de las mismas**

30 Prioridad:

**24.12.2012 US 201261745707 P**

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

**06.06.2018**

73 Titular/es:

**ABBVIE INC. (100.0%)  
1 North Waukegan Road  
North Chicago, IL 60064, US**

72 Inventor/es:

**ANDERSON, MARK;  
WANG, JIEYI;  
THAKUR, ARCHANA;  
CHAO, DEBRA;  
HSIEH, CHUNG-MING;  
ZHANG, QIAN;  
REILLY, EDWARD, B.;  
DIGIAMMARINO, ENRICO, L.;  
LONGENECKER, KENTON, L.;  
JUDGE, RUSSELL, A.;  
EGAN, DAVID, A. y  
HUTCHINS, CHARLES, W.**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 671 506 T3**

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

**DESCRIPCIÓN**

Proteínas de unión al receptor de prolactina y usos de las mismas

**CAMPO DE LA INVENCIÓN**

5 La presente invención se refiere a proteínas de unión al receptor de prolactina (PRLR) y su uso en la prevención y/o el tratamiento de diversas enfermedades que incluyen cáncer.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

10 El receptor de prolactina (PRLR) es un receptor transmembranario que interacciona con prolactina (PRL), una hormona peptídica. El PRLR contiene un único dominio transmembranario y es homólogo a receptores para citocinas, tales como IL2, IL3, IL4, IL6, IL7, eritropoyetina y GM-CSF. PRLR está presente en glándulas mamarias, ovario, glándulas pituitarias, corazón, pulmón, timo, bazo, hígado, páncreas, riñón, glándula suprarrenal, útero, músculo esquelético, piel y áreas del sistema nervioso central (Mancini et al., *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2008, 37(1):67-99). Tras la activación por prolactina, el PRLR se dimeriza, produciendo la activación de la cinasa de Janus 2, una tirosina cinasa que inicia la vía de JAK-STAT y también produce la activación de proteínas cinasas activadas por mitógeno y Src cinasa. La hormona de crecimiento también se une a PRLR y activa el receptor.

15 El PRLR participa en múltiples funciones biológicas, que incluyen crecimiento celular, diferenciación, desarrollo, lactación y reproducción. El ADNc de PRLR humano se aisló originalmente de bibliotecas de hepatoma y cáncer de mama (Boutin et al., *Molec. Endocr.* 3: 1455-1461, 1989). La secuencia de nucleótidos predijo una proteína madura de 598 aminoácidos con un dominio citoplásmico mucho más largo que el PRLR de hígado de rata. El gen de PRLR reside en la misma región cromosómica que el gen del receptor de la hormona de crecimiento, que ha sido mapeado en 5p13-p14 (Arden, et al., *Cytogenet. Cell Gene* 53: 161-165, 1990).

20 Se ha determinado la organización genómica del gen de PRLR humano (Hu, Z.-Z. et al., *J. Clin. Endocr. Metab.* 84: 1153-1156, 1999). La región 5 prima no traducida del gen de PRLR contiene 2 primeros exones alternativos: E13, el homólogo humano de E13 de rata y ratón, y un novedoso tipo humano de primer exón alternativo llamado E1N. La región 5 prima no traducida también contiene un exón 2 no codificante común y parte del exón 3, que contiene el codón de iniciación de la traducción. Los exones E13 y E1N están a 800 pares de bases el uno del otro. Estos 2 exones se expresan en tejido de mama humano, células de cáncer de mama, gónadas e hígado. En general, el transcrito que contiene E13 es predominante en la mayoría de los tejidos. El producto del gen de PRLR está codificado por los exones 3-10, de los que el exón 10 codifica la mayoría del dominio intracelular. Los exones E13 y E1N se transcriben de promotores PIII y PN alternativos, respectivamente. El promotor PIII contiene elementos Sp1 y C/EBP que son idénticos a aquellos en el promotor de roedor y es el 81 % similar a la región -480/-106 en la rata y ratón. El promotor PN contiene sitios de unión putativos para las proteínas de la familia ETS y la mitad de un sitio para receptores nucleares.

35 PRLR existe en varias isoformas diferentes que se diferencian en la longitud de sus dominios citoplásmicos. Se han encontrado cuatro isoformas de ARNm de PRLR (L, I, S1a y S1b) en tejido adiposo abdominal subcutáneo humano y tejido adiposo de mama (Ling, C. et al., *J. Clin. Endocr. Metab.* 88: 1804-1808, 2003). Además, se ha detectado la expresión de tanto L-PRLR como I-PRLR en tejido adiposo abdominal subcutáneo humano y tejido adiposo de mama usando análisis de inmunotransferencia. Informes recientes han sugerido que PRLR se expresa y activa en tejidos de cáncer de mama humano y de cáncer de próstata (Li et al., *Cancer Res.*, 64:4774-4782, 2004; Gill et al., *J Clin Pathol.*, 54:956-960, 2001; Touraine et al., *J Clin Endocrinol Metab.*, 83:667-674, 1998). Se informó que la activación de Stat5 y la expresión de PRLR están asociados a alto grado histológico en el 54 % de los especímenes de cáncer de próstata (Li et al., arriba). Otros informes han sugerido que los especímenes de cáncer de mama primario son sensibles a PRL en ensayos de formación de colonias y que las concentraciones de PRL en plasma se correlacionan con el riesgo cáncer de mama (Twosroger et al., *Cancer Res.*, 64:6814-6819, 2004; Dosroger et al., *Cancer Res.*, 66:2476-2482, 2006). Otro informe indicó que ratones transgénicos para PRL desarrollan carcinomas mamarios malignos o hiperplasia de próstata (Wennbo et al., *J Clin Invest.*, 100:2744-2751, 1997; Wennbo et al., *Endocrinology*, 138:4410-4415, 1997).

50 Se ha mostrado que un anticuerpo monoclonal contra PRLR disminuye la incidencia de tumores mamarios en ratones (Sissom et al., *Am. J. Pathol.* 133:589-595, 1988). Además, se ha mostrado que un antagonista de PRL (PRL mutante S179D) inhibe la proliferación de una línea celular de carcinoma de próstata humano DU-145, *in vitro*, y DU-145 indujo tumores *in vivo* (Xu et al., *Cancer Res.*, 61:6098-6104,

El documento WO 2011/069798 desvela anticuerpos monoclonales contra PRLR que inhiben la señalización de PLRL. Por consiguiente, sigue existiendo una necesidad de proteínas de unión a PRLR que puedan usarse para fines terapéuticos para tratar cáncer.

**SUMARIO DE LA INVENCIÓN**

55 La presente divulgación se refiere a proteínas de unión a PRLR y conjugados de las mismas. Las proteínas de unión de la invención incluyen anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de los mismos capaces de unirse a PRLR

humano. Además, la invención proporciona métodos de preparación y uso de proteínas de unión a PRLR de la invención y conjugados de las mismas.

La presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo capaz de unirse al receptor de prolactina (PRLR), que comprende un dominio de unión al antígeno con al menos dos conjuntos de CDR de dominio variable seleccionados de un grupo que consiste en:

(1) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 40, 41 y 42 o SEQ ID NO: 46, 47 y 42, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 49, 50 y 51;

(2) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 56, 57 y 58 o SEQ ID NO: 62, 63 y 58, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO 65, 66 y 67;

(3) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 71, 72 y 73 o SEQ ID NO: 71, 77 y 73, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 79, 80 y 81; y

(4) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 85, 86 y 87 o SEQ ID NO: 149, 150 y 87, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 92, 93 y 94. La presente invención también proporciona una construcción de anticuerpo que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención, comprendiendo dicha construcción de anticuerpo además un polipéptido de conector o un dominio constante de inmunoglobulina.

La presente invención también proporciona un ácido nucleico aislado que codifica la secuencia de aminoácidos del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención.

La presente invención también proporciona un ácido nucleico aislado que codifica una secuencia de aminoácidos de la construcción de anticuerpo de la invención.

La presente invención también proporciona un vector que comprende un ácido nucleico aislado según la presente invención.

La presente invención también proporciona una célula hospedadora que comprende un vector según la invención.

La presente invención también proporciona un método de producción de una proteína de la invención capaz de unirse a PRLR, que comprende cultivar la célula hospedadora de la invención en medio de cultivo en condiciones suficientes para producir una proteína de unión capaz de unirse a PRLR.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención para su uso en un método de reducción de actividad de PRLR humano.

La presente invención también proporciona el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención para su uso en reducir la actividad de PRLR humano en un sujeto humano que padece un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial, o tratar un sujeto que tiene un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la invención es para el uso en el que el trastorno es cáncer, opcionalmente además melanoma, cáncer endometrial, linfoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, carcinoma renal, cáncer gastrointestinal, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer pancreático y cáncer de próstata.

La presente invención también proporciona un conjugados anticuerpo anti-PRLR-fármaco (ADC) que comprende el anticuerpo anti-PRLR, o fragmento de unión al antígeno del mismo, según la invención conjugado con al menos un fármaco.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende el ADC de la invención.

La presente invención también proporciona el ADC de la invención para su uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto en necesidad del mismo, opcionalmente en el que el cáncer está seleccionado del grupo que consiste en melanoma, cáncer endometrial, linfoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, carcinoma renal, cáncer gastrointestinal, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer pancreático y cáncer de próstata.

En un aspecto, la presente divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, que comprende un dominio de unión al antígeno, dicha proteína de unión capaz de unirse al receptor de prolactina (PRLR), comprendiendo dicho dominio de unión al antígeno al menos una CDR que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 97, 98, 99, 100, 101, 102, 151 y 152. En un aspecto, la al menos una CDR comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada

- del grupo que consiste en SEQ ID NO: 40-42, 46, 47, 49-51, 56-58, 62, 63, 65-67, 71-73, 77, 79-81, 85-87, 92-94, 149 y 150. En otra realización, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, comprende al menos 3 CDR. En otra realización más, las 3 CDR son un conjunto de CDR del dominio variable de la cadena pesada (CDR1, CDR2 y CDR3) seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO: 40, 41 y 42; SEQ ID NO: 46, 47 y 42; SEQ ID NO: 56, 57 y 58; SEQ ID NO: 62, 63 y 58; SEQ ID NO: 71, 72, y 73; SEQ ID NO: 71, 77 y 73; SEQ ID NO: 85, 86, y 87; SEQ ID NO: 149, 150 y 87. Alternativamente o en combinación, 3 CDR son un conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera (CDR1, CDR2 y CDR3) seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 49, 50 y 51; SEQ ID NO: 65, 66 y 67; SEQ ID NO: 79, 80 y 81; y SEQ ID NO: 92, 93 y 94.
- 10 En otro aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, comprende al menos un conjunto de CDR del dominio variable de la cadena pesada y al menos un conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera. En algunos aspectos, los al menos dos conjuntos de CDR de dominio variable están seleccionados de un grupo que consiste en:
- 15 1) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 40, 41 y 42 o SEQ ID NO: 46, 47 y 42, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 49, 50 y 51;
- (2) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 56, 57 y 58 o SEQ ID NO: 62, 63 y 58, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO 65, 66 y 67;
- 20 (3) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 71, 72 y 73 o SEQ ID NO: 71, 77 y 73, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 79, 80 y 81; y
- (4) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 85, 86 y 87 o SEQ ID NO: 149, 150 y 87, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 92, 93 y 94.
- 25 En otros aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, comprende además una región estructural de aceptor humano. En algunos aspectos, la región estructural de aceptor humano comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 14-38. En aún otros aspectos, la región estructural de aceptor humano comprende al menos una sustitución de aminoácido de la región estructural, en la que la secuencia de aminoácidos de la región estructural es al menos el 65 % idéntica a la
- 30 secuencia de dicha región estructural de aceptor humano y comprende al menos 70 restos de aminoácidos idénticos a dicha región estructural de aceptor humano. Alternativamente, la región estructural de aceptor humano comprende al menos una sustitución de aminoácido de la región estructural en un resto clave, dicho resto clave seleccionado del grupo que consiste en:
- un resto adyacente a una CDR;
- 35 un resto de sitio de glucosilación;
- un resto raro;
- un resto capaz de interactuar con PRLR humano;
- un resto capaz de interactuar con una CDR;
- un resto canónico;
- 40 un resto de contacto entre la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera;
- un resto dentro de una zona de Vernier; y
- un resto en una región que solapa entre una CDR1 de cadena pesada variable definida por Chothia y una primera región estructural de la cadena pesada definida por Kabat.
- 45 En otros aspectos, el resto clave está seleccionado del grupo que consiste en 2L, 43L, 48L, 58L, 64L, 87L, 27H, 48H, 60H, 63H, 64H, 65H, 67H, 69H, 71H, 73H, 75H, 93H. En otro aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es un dominio variable humano consenso.
- En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, comprende al menos un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que
- 50 consiste en SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44; SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60; SEQ ID NO: 61; SEQ ID NO: 70; SEQ ID NO: 74; SEQ ID NO: 75; SEQ ID NO: 76; SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; SEQ ID NO: 90; SEQ ID NO: 121; SEQ ID NO: 122 y SEQ ID NO: 123. En algunos aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, comprende dos

dominios variables, en la que dichos dos dominios variables tienen secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en:

- (1) uno de SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 o SEQ ID NO: 45; y uno de SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 o SEQ ID NO: 54;
- 5 (2) uno de SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60 o SEQ ID NO: 61; y uno de SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68 o SEQ ID NO: 69;
- (3) uno de SEQ ID NO: 70; SEQ ID NO: 74; SEQ ID NO: 75 o SEQ ID NO: 76; y uno de SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82 o SEQ ID NO: 83; y
- 10 (4) uno de SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; SEQ ID NO: 90; SEQ ID NO: 121; SEQ ID NO: 122 o SEQ ID NO: 123; y uno de SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 95 o SEQ ID NO: 96.

En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, comprende al menos un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 52; SEQ ID NO: 53; SEQ ID NO: 54; SEQ ID NO: 64; SEQ ID NO: 68; SEQ ID NO: 69; SEQ ID NO: 78; SEQ ID NO: 82; SEQ ID NO: 83; SEQ ID NO: 91; SEQ ID NO: 95; y SEQ ID NO: 96.

15

En una realización particular, la proteína de unión comprende una secuencia de cadena pesada y una secuencia de cadena ligera seleccionadas del grupo que consiste en: (a) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125; (b) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127; (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; (e) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125; (f) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126; (g) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127; (h) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; (i) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125; (j) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126; (k) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127; (l) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; (m) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132; (n) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133; (o) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; (p) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132; (q) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133; (r) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; (s) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132; (t) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133; (u) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; (v) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138; (w) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140; (y) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138; (z) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; (aa) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140; (bb) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138; (cc) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; (dd) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y una cadena ligera que tiene la secuencia de

20

25

30

35

40

45

50

55

60

aminoácidos de SEQ ID NO: 140; (ee) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; (ff) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145; (gg) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146; (hh) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; (ii) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145; (jj) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146; (kk) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; (ll) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145; (mm) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146; (nn) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; (oo) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; y (pp) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, se une a PRLR. En algunos aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es capaz de modular una función biológica de PRLR. En otros aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es capaz de neutralizar PRLR. En aún otros aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, tiene una constante de velocidad de asociación ( $K_{as}$ ) a PRLR seleccionada del grupo que consiste en: al menos aproximadamente  $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ; al menos aproximadamente  $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ; al menos aproximadamente  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ; al menos aproximadamente  $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ; y al menos aproximadamente  $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ; como se mide por resonancia de plasmones superficiales. En otros aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, tiene una constante de velocidad de disociación ( $K_{dis}$ ) a PRLR seleccionada del grupo que consiste en: como máximo aproximadamente  $10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-4} \text{ s}^{-1}$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ; y como máximo aproximadamente  $10^{-6} \text{ s}^{-1}$ , como se mide por resonancia de plasmones superficiales. En otros aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, tiene una constante de disociación ( $K_D$ ) a PRLR seleccionada del grupo que consiste en: como máximo aproximadamente  $10^{-7} \text{ M}$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-8} \text{ M}$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-9} \text{ M}$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-10} \text{ M}$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-11} \text{ M}$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-12} \text{ M}$ ; y como máximo  $10^{-13} \text{ M}$ .

En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que compite con un anticuerpo. En un aspecto, una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, compite con un anticuerpo que comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera seleccionados del grupo que consiste en:

(1) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 y SEQ ID NO: 45; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 54;

(2) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60 y SEQ ID NO: 61; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 69;

(3) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; SEQ ID NO: 90; SEQ ID NO: 121; SEQ ID NO: 122; y SEQ ID NO: 123; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 95 y SEQ ID NO: 96;

(4) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 112 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 103;

(5) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 113 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 104;

(6) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 114 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 105;

(7) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 116 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 107;

(8) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 117 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 108;

5 (9) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 118 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 109;

(10) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 119 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 110; y

10 (11) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 120 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 111.

En otro aspecto, la proteína de unión, *por ejemplo*, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, compite con un anticuerpo que comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera seleccionados del grupo que consiste en:

15 (1) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 y SEQ ID NO: 45; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 54;

20 (2) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60 y SEQ ID NO: 61; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 69;

25 (3) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; SEQ ID NO: 90; SEQ ID NO: 121; SEQ ID NO: 122; y SEQ ID NO: 123; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 95 y SEQ ID NO: 96;

(4) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 112 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 103;

(5) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 113 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 104;

30 (6) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 114 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 105; y

(7) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 120 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 111.

35 En otro aspecto, la proteína de unión, *por ejemplo*, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, compite con un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 119 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 110.

En otro aspecto, la proteína de unión, *por ejemplo*, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, compite con un anticuerpo que comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera seleccionados del grupo que consiste en:

40 (1) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 115 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 106;

(2) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 116 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 107; y

45 (3) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 117 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 108.

50 En otro aspecto, la proteína de unión, *por ejemplo*, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, compite con un anticuerpo que comprende una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 y SEQ ID NO: 45; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 54. En otros aspectos, la proteína de unión, *por ejemplo*, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, compite con un anticuerpo que comprende una





SEQ ID NO: 153; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; (oo) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; y (pp) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

5 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o todos de los restos de aminoácidos E8, F10, C12, R25, E43, G44, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, Y99, I100, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende al menos cinco de los restos de aminoácidos. En otro aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende todos de los restos de aminoácidos E8, F10, C12, R25, E43, G44, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, Y99, I100, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto particular, la proteína de unión es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab6, chAb6 y Ab14-Ab25.

10 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o todos de los restos de aminoácidos E8, I9, F10, K11, C12, R25, E43, G44, W72, T74, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, T98, Y99, I100, W139, L143, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende al menos cinco de los restos de aminoácidos. En otro aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende todos de los restos de aminoácidos E8, I9, F10, K11, C12, R25, E43, G44, W72, T74, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, T98, Y99, I100, W139, L143, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto particular, la proteína de unión es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab4, Ab7, chAb7, Ab35-Ab43 y Ab53-Ab55.

20 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o todos de los restos de aminoácidos R25, T141, L143, E145, R147, E155, W156, E157, I158, H159, F160, A161, G162, Q163, Q164, F167, S171, R183, K185, D187, H188, W191 y W194 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende al menos 15 de los restos de aminoácidos. En algunos aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende todos de los restos de aminoácidos R25, T141, L143, E145, R147, E155, W156, E157, I158, H159, F160, A161, G162, Q163, Q164, F167, S171, R183, K185, D187, H188, W191 y W194 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto particular, la proteína de unión es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab3, Ab8, chAb8 y Ab44-Ab52.

30 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende al menos uno, dos, tres, cuatro o todos de los restos de aminoácidos R25, K185, D187, H188 o W191 de SEQ ID NO: 2. En algunos aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende todos de los restos de aminoácidos R25, K185, D187, H188 o W191 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto particular, la proteína de unión es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab3, Ab4, Ab6-Ab8, chAb6, chAb7, chAb8, Ab14-Ab25 y Ab35-Ab55.

40 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende los aminoácidos 91-96 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto particular, la proteína de unión es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab4, Ab6, Ab7, chAb6, chAb7, Ab14-Ab25, Ab35-Ab43 y Ab53-Ab55.

50 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope que tiene restos dentro de al menos los aminoácidos 8-100, 185-191, 8-143, o 183-194 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto particular, la proteína de unión es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab3, Ab4, Ab6-Ab8, chAb6, chAb7, chAb8, Ab14-Ab25 y Ab35-Ab55.

55 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR y que tiene la misma especificidad epitópica que un anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, chAb5, Ab6, chAb6, Ab7, chAb7, Ab8, chAb8, Ab9, chAb9, Ab10, chAb10, Ab11, chAb11, Ab12, chAb12, Ab13, chAb13,

Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20, Ab21, Ab22, Ab23, Ab24, Ab25, Ab26, Ab27, Ab28, Ab29, Ab30, Ab31, Ab32, Ab33, Ab34, Ab35, Ab36, Ab37, Ab38, Ab39, Ab40, Ab41, Ab42, Ab43, Ab44, Ab45, Ab46, Ab47, Ab48, Ab49, Ab50, Ab51, Ab52, Ab53, Ab54 y Ab55.

5 En diversos de los aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es capaz de modular una función biológica de PRLR. En otros de los aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, se une al ligando que se une al dominio D1 de PRLR. En otros aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, se une a un epítope de PRLR que no inhibe la dimerización de PRLR. En aspectos anteriores adicionales, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, no se une al dominio D2 de PRLR. En aspectos anteriores adicionales, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, se une a la región de unión al ligando del dominio D1 de PRLR. En aspectos anteriores adicionales, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, no compite con el anticuerpo LFA102 por la unión de PRLR. En aspectos anteriores adicionales, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, bloquea la unión de prolactina a PRLR.

15 En realizaciones particulares de cualquiera de las realizaciones anteriores de la invención, la proteína de unión es un anticuerpo, o una porción de unión al antígeno del mismo. En aspectos particulares de cualquiera de los aspectos anteriores de la invención, la proteína de unión es un anticuerpo humano, o una porción de unión al antígeno del mismo.

20 En otro aspecto, la proteína de unión de cualquiera de los aspectos anteriores de la divulgación es una proteína de unión cristalizada, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo.

25 En otro aspecto, la invención se refiere a una construcción de anticuerpo que comprende una proteína de unión en la que dicha construcción de anticuerpo comprende además un polipéptido de conector o un dominio constante de inmunoglobulina. En una realización, la proteína de unión de dicha construcción de anticuerpo está seleccionada del grupo que consiste en una molécula de inmunoglobulina, un Fv unido por disulfuro, un anticuerpo monoclonal, un scFv, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo injertado en CDR, un diacuerpo, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo multiespecífico, un Fab, un anticuerpo específico dual, un Fab', un anticuerpo biespecífico, un F(ab')<sub>2</sub> y un Fv,

30 Alternativamente, o además, la proteína de unión de dicha construcción de anticuerpo puede comprender un dominio constante de inmunoglobulina de la cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en un dominio constante de IgM humana, un dominio constante de IgG4 humana, un dominio constante de IgG1 humana, un dominio constante de IgE humana, un dominio constante de IgG2 humana y un dominio constante de IgG3 humana, un dominio constante de IgA humana.

35 En otras realizaciones, la construcción de anticuerpo comprende un dominio constante de inmunoglobulina que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10-13.

40 En otro aspecto, la invención se refiere a un conjugado de anticuerpo que comprende una construcción de anticuerpo como se describe previamente, en el que dicho conjugado de anticuerpo comprende además un agente seleccionado del grupo que consiste en: una molécula de inmunoadhesión, un agente de obtención de imágenes, un agente terapéutico y un agente citotóxico. En una realización, el conjugado de anticuerpo comprende un agente de obtención de imágenes seleccionado del grupo que consiste en una radiomarca, una enzima, una marca fluorescente, una marca luminiscente, una marca bioluminiscente, una marca magnética y biotina. En otro aspecto, el conjugado de anticuerpo comprende una radiomarca seleccionada del grupo que consiste en: <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>35</sup>S, <sup>90</sup>Y, <sup>99</sup>Tc, <sup>111</sup>In, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>177</sup>Lu, <sup>166</sup>Ho y <sup>153</sup>Sm. En otras realizaciones, el conjugado de anticuerpo comprende un agente terapéutico o citotóxico seleccionado del grupo que consiste en: un antimetabolito, un agente alquilante, un antibiótico, un factor de crecimiento, una citocina, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, una antraciclina, toxina y un agente apoptótico. Por ejemplo, el agente antimitótico puede seleccionarse del grupo que consiste en una dolastatina, una auristatina, un maitansinoide, un alcaloide de planta, un taxano, y un alcaloide de la vinca. En algunos aspectos, la proteína de unión de dicha construcción de anticuerpo posee un patrón de glucosilación humano.

50 En ciertos aspectos, la construcción de anticuerpo es una construcción de anticuerpo cristalizada. En algunos aspectos, la construcción de anticuerpo cristalizada es una construcción de anticuerpo cristalizada de liberación controlada farmacéutica sin vehículo. En otro aspecto, la construcción de anticuerpo tiene una semivida mayor *in vivo* que el homólogo soluble de dicha construcción de anticuerpo. En algunos aspectos, la construcción de anticuerpo retiene actividad biológica.

55 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un ácido nucleico aislado que codifica una secuencia de aminoácidos de proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo. En otro aspecto, la divulgación se refiere a un ácido nucleico aislado que codifica una secuencia de aminoácidos de construcción de

anticuerpo, como se describe en el presente documento, en el que dicha construcción de anticuerpo comprende además un polipéptido de conector o un dominio constante de inmunoglobulina.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un vector que comprende dicho ácido nucleico aislado. En otra realización, dicho vector está seleccionado del grupo que consiste en pcDNA, pTT, pTT3, pEFBOS, pBV, pJV y pBJ.

5 En otro aspecto, la divulgación proporciona una célula hospedadora que comprende dicho vector. En otro aspecto, dicha célula hospedadora es una célula procariota, mientras que en aún otras realizaciones, dicha célula hospedadora es *E. coli*. En otros aspectos, dicha célula hospedadora es una célula eucariota. En algunos aspectos, dicha célula eucariota está seleccionada del grupo que consiste en una célula de protista, una célula de animal, una célula de planta y una célula fúngica. En todavía otros aspectos, la célula eucariota es una célula de animal  
10 seleccionada del grupo que consiste en: una célula de mamífero, una célula aviar y una célula de insecto, mientras que en otras realizaciones la célula hospedadora es una célula CHO. En otro aspecto, la célula hospedadora es COS, mientras que en otras realizaciones la célula hospedadora es una célula de levadura. En algunos aspectos, dicha célula de levadura es *Saccharomyces cerevisiae*. En otros aspectos, la célula hospedadora es una célula Sf9 de insecto.

15 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método de producción de una proteína capaz de unirse a PRLR, que comprende cultivar una célula hospedadora como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, que comprende un vector que comprende un ácido nucleico aislado que codifica una secuencia de aminoácidos de construcción de anticuerpo como se ha descrito anteriormente, en medio de cultivo en condiciones suficientes para producir una proteína de unión capaz de unirse a PRLR. En un aspecto, la divulgación se refiere a una proteína producida según  
20 dicho método.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a una composición para la liberación de una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, comprendiendo dicha composición: (a) una formulación, en el que dicha formulación comprende una proteína de unión cristalizada, como se describe en el presente documento, y un componente; y (b) al menos un vehículo polimérico. En un aspecto, el vehículo polimérico  
25 es un polímero seleccionado de uno o más del grupo que consiste en: poli(ácido acrílico), poli(cianoacrilatos), poli(aminoácidos), poli(anhídridos), poli(depsipéptido), poli(ésteres), poli(ácido láctico), poli(ácido láctico-co-glicólico) o PLGA, poli(b-hidroxibutirato), poli(caprolactona), poli(dioxanona); poli(etilenglicol), poli((hidroxipropil)metacrilamida), poli[(organofosfaceno)], poli(orto-ésteres), poli(alcohol vinílico), poli(vinilpirrolidona), copolímeros de anhídrido maleico-alkil vinil éter, polioles plurónicos, albúmina, alginato, celulosa y derivados de  
30 celulosa, colágeno, fibrina, gelatina, ácido hialurónico, oligosacáridos, glicaminoglicanos, polisacáridos sulfatados, mezclas y copolímeros de los mismos. En otro aspecto, dicho componente está seleccionado del grupo que consiste en albúmina, sacarosa, trehalosa, lactitol, gelatina, hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina, metoxipoliethylenglicol y polietilenglicol. En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método de tratamiento de un mamífero que comprende la etapa de administrar al mamífero una cantidad eficaz de dicha composición.

35 En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, como se describe en el presente documento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En un aspecto, dicho vehículo farmacéuticamente aceptable funciona como adyuvante útil para aumentar la absorción, o dispersión de la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo. En otro aspecto, dicho adyuvante es hialuronidasa.

40 En otro aspecto, la composición farmacéutica comprende además al menos un agente terapéutico adicional para tratar un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial. Por ejemplo, el agente adicional puede seleccionarse del grupo que consiste en: agente terapéutico, agente de obtención de imágenes, agente citotóxico, inhibidores de la angiogénesis; inhibidores de cinasas; moléculas bloqueantes de la coestimulación; bloqueantes de moléculas de adhesión; anticuerpo anti-citocina o fragmento funcional del mismo; metotrexato; ciclosporina;  
45 rapamicina; FK506; marca detectable o indicador; un antagonista de TNF; un antirreumático; un relajante muscular, un narcótico, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueante neuromuscular, un antimicrobiano, un antipsoriásico, un corticosteroide, un esteroide anabolizante, una eritropoyetina, una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor, una hormona de crecimiento, una fármaco de reposición hormonal, un agente radiofarmacéutico, un antidepresivo, un antipsicótico,  
50 un estimulante, una medicación para el asma, un beta-agonista, un esteroide inhalado, un esteroide oral, una epinefrina o análogo, una citocina, y un antagonista de citocina.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de reducción de la actividad de PRLR humano poniendo en contacto PRLR humano con una proteína de unión de la divulgación, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, de forma que se reduzca la actividad de PRLR humano.

55 En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de reducción de la actividad de PRLR humano en un sujeto humano que padece un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial, administrando al sujeto humano una proteína de unión de la divulgación, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, de forma que se reduzca la actividad de PRLR humano en el sujeto humano.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de tratamiento de un sujeto para una enfermedad o un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial administrando al sujeto una proteína de unión de la divulgación, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, de forma que se logre el tratamiento. En un aspecto, el trastorno es un cáncer. En otro aspecto, el cáncer está seleccionado del grupo que consiste en melanoma, cáncer endometrial, linfoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, carcinoma renal, cáncer gastrointestinal, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer pancreático y cáncer de próstata. En otro aspecto más, el cáncer es cáncer de mama. En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, se administra al sujeto por al menos un modo seleccionado del grupo que consiste en parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intrabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelular, intracerebeloso, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraóseo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarectal, intrarenal, intraretiniano, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal y transdérmico.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un anticuerpo anti-PRLR, o fragmento de unión al antígeno del mismo, que compite específicamente con una proteína de unión anti-PRLR como se describe en el presente documento, en el que dicha competición puede detectarse en un ensayo de unión competitiva usando dicho anticuerpo, el polipéptido PRLR humano, y la proteína de unión anti-PRLR.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un conjugado anticuerpo anti-PRLR-fármaco (ADC) que comprende un anticuerpo anti-PRLR de la invención, fragmento de unión al antígeno del mismo de la invención, y al menos un fármaco, en el que el anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, comprende al menos 3 CDR.

Por ejemplo, la divulgación proporciona un conjugado anticuerpo anti-PRLR-fármaco (ADC) en el que el anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, comprende al menos 3 CDR seleccionadas de un conjunto de CDR del dominio variable de la cadena pesada (CDR1, CDR2 y CDR3) que consiste en SEQ ID NO: 40, 41 y 42; SEQ ID NO: 46, 47, y 42; SEQ ID NO: 56, 57, y 58; SEQ ID NO: 62, 63 y 58; SEQ ID NO: 71, 72, y 73; SEQ ID NO: 71, 77 y 73; SEQ ID NO: 85, 86 y 87; SEQ ID NO: 149, 150 y 87. Alternativamente o en combinación, la divulgación proporciona un conjugado anticuerpo anti-PRLR-fármaco (ADC) en el que el anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, comprende al menos 3 CDR seleccionadas de un conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera (CDR1, CDR2 y CDR3) que consiste en SEQ ID NO: 49, 50 y 51; SEQ ID NO: 65, 66 y 67; SEQ ID NO: 79, 80 y 81; y SEQ ID NO: 92, 93 y 94.

En otra realización del ADC expuesto anteriormente, el fármaco está seleccionado del grupo que consiste en un inhibidor mitótico, un antibiótico antitumoral, un agente inmunomodulador, un vector para terapia génica, un agente alquilante, un agente antiangiogénico, un antimetabolito, un agente que contiene boro, un agente quimioprotector, una hormona, un agente antihormonal, un corticosteroide, un agente terapéutico fotoactivo, un oligonucleótido, un agente de radionúclido, un inhibidor de la topoisomerasa, un inhibidor de tirosina cinasas y un radiosensibilizador. En otra realización, la invención caracteriza un ADC, en el que el fármaco está seleccionado del grupo que consiste en Ixempra, dolastatina 10, dolastatina 15, auristatina E, auristatina PE, monometil auristatina D (MMAD o derivado de auristatina D), monometil auristatina E (MMAE o derivado de auristatina E), monometil auristatina F (MMAF o derivado de auristatina F), fenilendiamina de auristatina F (AFP), auristatina EB (AEB), auristatina EFP (AEFP), éster de ácido 5-benzoilvalérico-AE (AEVB), metotrexato, daunorubicina, vincristina, maitansina, maitansinol, ésteres C-3 de maitansinol, ansamitocina P1, ansamitocina P2, ansamitocina P3, ansamitocina P4, docetaxel, paclitaxel, paclitaxel en nanopartículas, sulfato de vindesina, vincristina, vinblastina, vinorelbina, actinomicinas, pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepinas, dímeros de pirrolobenzodiazepinas (PBD), actinomicina D, antramycin, chicamicina A, DC-18, DC-81, mazetramicina, neotramicina A, neotramicina B, porotramicina, protracarcina B, SG2285, sibanomicina, sibiromicina, tomaimicina, antraciclina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, caliqueamicinas,  $\gamma_1'$ ;  $\alpha_2'$ ,  $\alpha_3'$ , N-acetil- $\gamma_1'$ , PSAG,  $\theta_1'$ , duocarmicinas, adozelesina, bizelesina y carzelesina, bleomicina, mitomicina, plicamicina, bacillus calmette-guerin (BCG), levamisol, vacunas para el cáncer, vacuna para el virus del papiloma humano (VPH) bivalente recombinante tipos 16 y 18, vacuna para el virus del papiloma humano (VPH) cuadrivalente recombinante tipos 6, 11, 16 y 18, sipuleucel-T, citocinas, hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorelaxina; hormonas de glucoproteína tales como hormona estimulante del folículo (FSH), hormona estimulante tiroidea (TSH) y hormona luteinizante (LH), factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos, prolactina, lactógeno placentario, factor de necrosis tumoral, sustancia inhibidora mulleriana, péptido asociado a gonadotropina de ratón, inhibina, activina, factor de crecimiento endotelial vascular, integrina, trombopoyetina (TPO), factores de crecimiento nervioso tales como NGF, factor de crecimiento de plaquetas, factores de crecimiento transformante (TGF), factor de crecimiento similar a la insulina-I y -II, eritropoyetina (EPO), factores octeoinductivos, interferones tales como interferón  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , factores estimulantes de colonias (CSF), granulocito-macrófago-CSF (GM-CSF) y granulocito-CSF (G-CSF), interleucinas (IL) tales como IL-1, IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, factor de necrosis tumoral y otros factores de polipéptido que incluyen LIF y ligando kit (KL), factores estimulantes de colonias, eritropoyetina (epoetina), filgrastim, sargramostim, promegapoyetina, Oprelvekin, agentes terapéuticos de genes inmunomoduladores, ácido nucleico que codifica un gen terapéutico funcional que se usa para sustituir un gen mutado o disfuncional de otro modo (por ejemplo, truncado) asociado a cáncer, ácido nucleico que codifica o proporciona de otro modo la producción de una proteína terapéutica para tratar cáncer, sulfonatos de alquilo, busulfán, mostazas nitrogenadas, clorambucilo, ciclofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina y melfalán, nitrosoureas, carmustina, fotemustina, lomustina, nimustina,

estreptozocina, triazinas e hidracinas, dacarbazina, procarbazona, temozolomida, etileniminas, tiopeta, diazicuona, mitomicina C, derivados de metilamina, epóxidos, altretamina, dianhidrogallactitol, dibromodulcitol, angiostatina, ABX EFG, C1-1033, PKI-166, vacuna de EGF, EKB-569, GW2016, ICR-62, EMD 55900, CP358, PD153035, AG1478, IMC-C225, OSI-774, Erlotinib, angiostatina, arrestina, endostatina, BAY 12-9566 y con fluorouracilo o doxorubicina, canstatina, carboxiamidotriazol y con paclitaxel, EMD121974, S-24, vitaxina, ácido dimetilxantenonaacético, IM862, interleucina-12, interleucina-2, NM-3, HuMV833, PTK787, RhuMab, angiozima, IMC-1C11, Neovastat, marimstat, prinomastat, BMS-275291, COL-3, MM1270, SU101, SU6668, SU11248, SU5416, con paclitaxel, con gemcitabina y cisplatino, y con irinotecán y cisplatino y con radiación, tecogalán, temozolomida y PEG interferón  $\alpha 2b$ , tetratiomolibdato, TNP-470, talidomida, CC-5013 y con taxotere, tumstatina, 2-metoxiestradiol, trampa de VEGF, inhibidores de mTOR (deforolimus, everolimus y temsirolimus), inhibidores de tirosina cinasas (por ejemplo, imatinib, gefitinib, dasatinib, sunitinib, nilotinib, lapatinib, sorafenib, fosfoinositida 3-cinasas (PI3K), antagonistas de ácido fólico, metotrexato, ácido 4-amino-fólico, lometrexol, pemetrexed, trimetrexato, un antagonista de pirimidina, azacitidina, capecitabina, citarabina, decitabina, 5-fluorouracilo, 5-fluoro-2'-desoxiuridina 5'-fosfato, 5-fluorouridina trifosfato, gemcitabina, foxuridina, un antagonista de purina azatioprina, cladribina, mercaptopurina, fludarabina, pentostatina, 6-tioguanina, inhibidores de adenosina desaminasa, cladribina, fludarabina, nelarabina, pentostatina, boroficina, bortezomib, agentes quimioprotectores, amifostina, dexrazoxano, mesna, andrógenos, estrógenos, acetato de medroxiprogesterona, progestinas, aminoglutetimida, anastrozol, bicalutamida, clortrianiseno, acetato de ciproterona, degarelix, exemestano, flutamida, fulvestrant, goserelina, letrozol, leuprolida, lupron, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, tamoxifeno, triptorelina, asparaginasa, dacarbazina, hidroxiurea, levamisol, mitotano, procarbazona, tretinoína, glucocorticoides, prednisona, cromágenos, colorantes, oligonucleótidos antisentido tanto que existen de forma natural como sintetizados usando nucleótidos estándar y/o no estándar (incluyendo interferencia por ARN (iARN)), ARN bicatenario (ARNbc), ARN interferente pequeño (ARNip), microARN (miARN), aptámeros, oligonucleótidos CpG, ribozimas, angiozima, <sup>111</sup>In, <sup>177</sup>Lu, <sup>212</sup>Bi, <sup>213</sup>Bi, <sup>211</sup>At, <sup>62</sup>Cu, <sup>64</sup>Cu, <sup>67</sup>Cu, <sup>90</sup>Y, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>P, <sup>47</sup>Sc, <sup>111</sup>Ag, <sup>67</sup>Ga, <sup>142</sup>Pr, <sup>153</sup>Sm, <sup>161</sup>Tb, <sup>166</sup>Dy, <sup>166</sup>Ho, <sup>186</sup>Re, <sup>188</sup>Re, <sup>189</sup>Re, <sup>212</sup>Pb, <sup>223</sup>Ra, <sup>225</sup>Ac, <sup>59</sup>Fe, <sup>75</sup>Se, <sup>77</sup>As, <sup>89</sup>Sr, <sup>99</sup>Mo, <sup>105</sup>Rh, <sup>109</sup>Pd, <sup>143</sup>Pr, <sup>149</sup>Pm, <sup>169</sup>Er, <sup>194</sup>Ir, <sup>198</sup>Au, <sup>199</sup>Au, <sup>211</sup>Pb, Co-58, Ga-67, Br-80m, Tc-99m, Rh-103m, Pt-109, In-111, Sb-119, I-125, Ho-161, Os-189m, Ir-192, Dy-152, At-211, Bi-212, Ra-223, Rn-219, Po-215, Bi-211, Ac-225, Fr-221, At-217, Bi-213, Fm-255, <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>N, <sup>15</sup>O, <sup>75</sup>Br, <sup>198</sup>Au, <sup>224</sup>Ac, <sup>126</sup>I, <sup>133</sup>I, <sup>77</sup>Br, <sup>113m</sup>In, <sup>95</sup>Ru, <sup>97</sup>Ru, <sup>103</sup>Ru, <sup>105</sup>Ru, <sup>107</sup>Hg, <sup>203</sup>Hg, <sup>121m</sup>Te, <sup>122m</sup>Te, <sup>125m</sup>Te, <sup>165</sup>Tm, <sup>167</sup>Tm, <sup>168</sup>Tm, <sup>197</sup>Pt, <sup>109</sup>Pd, <sup>105</sup>Rh, <sup>142</sup>Pr, <sup>143</sup>Pr, <sup>161</sup>Tb, <sup>166</sup>Ho, <sup>199</sup>Au, <sup>57</sup>Co, <sup>58</sup>Co, <sup>51</sup>Cr, <sup>59</sup>Fe, <sup>75</sup>Se, <sup>201</sup>Tl, <sup>225</sup>Ac, <sup>76</sup>Br, <sup>169</sup>Yb, taxano, cisplatino, metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, E09, RB 6145, nicotinamida, 5-bromodesoxiuridina (BUdR), 5-yododesoxiuridina (IUdR), bromodesoxicidina, fluorodesoxiuridina (FUdR), hidroxiurea, derivados de hematoporfirina, Photofrin(r), derivados de benzoporfirina, NPe6, etioporfirina de estaño (SnET2), feoborbida a, bacterioclorofila a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de cinc, camptotecinas, irinotecán, topotecán, amsacrina, daunorubicina, doxorubicina, epipodofilotoxinas, elipticinas, epirubicina, etopósido, razoxano, tenipósido, Axitinib, Bosutinib, Cediranib, Dasatinib, Erlotinib, Gefitinib, Imatinib, Lapatinib, Lestaurtinib, Nilotinib, Semaxanib, Sunitinib, Vandetanib, abrina, cadena A de abrina, toxina alfa, proteínas de *Aleurites fordii*, amatoxina, crotina, curcina, proteínas de diantina, toxina diftérica, cadena A de la difteria, fragmentos activos no de unión de toxina diftérica, desoxirribonucleasa (DNasa), gelonina, mitogelina, cadena A de modecina, inhibidor de *Momordica charantia*, neomicina, onconasa, fenomicina, proteínas de *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), proteína antiviral de hierba carmín, endotoxina de *Pseudomonas*, exotoxina de *Pseudomonas*, cadena A de exotoxina de *Pseudomonas aeruginosa*, restrictocina, ricina, cadena A de ricina, ribonucleasa (Rnasa), inhibidor de *Saponaria officinalis*, saporina, alfa-sarcina, enterotoxina-A estafilocócica, toxina tetánica, cisplatino, carboplatino y oxaliplatino (Eloxatin, Sanofi Aventis), inhibidores del proteasoma, PS-341, inhibidores de HDAC, vorinostat, belinostat, entinostat, mocetinostat, panobinostat, inhibidores de COX-2, ureas sustituidas, inhibidores de proteínas de choque térmico, geldanamicina, supresores adrenocorticales, tricotecenos, A12, 19D12, Cp751-871, H7C10, alfaIR3, ScFV/FC, EM/164, Matuzumab, Erbitux, Vectibix, mAb 806, Nimotuxumab, AVEO, AMG102, 5D5 (OA-5d5), H244G11, Ab #14 (MM 121-14), Herceptin, 1B4C3; 2D1D12, NVP-AEW541-A, BMS-536,924 (1H-benzoimidazol-2-il)-1H-piridin-2-ona), BMS-554.417, Cycloligan, TAE226, PQ401, Iressa, CI-1033 (PD 183805), Lapatinib (GW-572016), Tykerb, Tarceva, PKI-166, PD-158780, EKB-569, Tyrphostin AG 1478 (4-(3-cloroanilino)-6,7-dimetoxiquinazolina), PHA665752, ARQ 197, capecitabina, 5-trifluorometil-2'-desoxiuridina, metotrexato sódico, Raltitrexed, Pemetrexed, Tegafur, citosina arabinósido (citarabina), 5-azacitidina, 6-mercaptopurina (Mercaptopurine, 6-MP), azatioprina, 6-tioguanina, pentostatina, fosfato de fludarabina, cladribina (2-CdA, 2-clorodesoxiadenosina), inhibidor de la reductasa de ribonucleótido, ciclofosfamida, Neosar, ifosfamida, Tiotepa, BCNU→ 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, CCNU→ 1, -(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosourea (metil CCNU), hexametilmelamina, busulfán, HCl de procarbazona, dacarbazina (DTIC), clorambucilo, melfalán, carboplatino, oxaliplatino, HCl de doxorubicina, citrato de daunorubicina, HCl de mitoxantrona, actinomicina D, etopósido, HCl de topotecán, tenipósido, HCl de irinotecán (CPT-II), vincristina, sulfato de vinblastina, tartrato de vinorelbina, sulfato de vindesina, paclitaxel, docetaxel, abraxano, ixabepilona, mesilato de imatinib, malato de sunitinib, tosilito de sorafenib, clorhidrato de nilotinib monohidratado, L-asparaginasa, alfa interferón, Avastin, IL-2, aldesleucina, proleucina, IL-12, citrato de toremifeno, fulvestrant, HCl de raloxifeno, anastrozol, letrozol, fadrozol (CGS 16949A), exemestano, acetato de leuprolida, Lupron, acetato de goserelina, pamoato de triptorelina, buserelina, nafarelina, cetorelix, bicalutamida, nilutamida, acetato de megestrol, análogos de somatostatina, prednisolona, dexametasona, ketoconazol, sirolimus, temsirolimus (CCI-779), deforolimus (AP23573) y everolimus (RAD001).

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un ADC de la invención. En otro aspecto más, la divulgación se refiere a un método de tratamiento de cáncer en un sujeto en necesidad del

mismo, comprendiendo dicho método administrar un ADC como se ha descrito anteriormente, de forma que el sujeto se trata.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un método de tratamiento de cáncer en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo dicho método administrar un ADC como se ha descrito anteriormente, de forma que el sujeto se trata, en el que el cáncer está seleccionado del grupo que consiste en melanoma, cáncer endometrial, linfoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, carcinoma renal, cáncer gastrointestinal, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer pancreático y cáncer de próstata. En otros aspectos, la divulgación se refiere a un método de tratamiento de cáncer en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo dicho método administrar un ADC como se ha descrito anteriormente, de forma que el sujeto se trata, en el que el cáncer es cáncer de mama. En otros aspectos, la divulgación se refiere a un método de tratamiento de cáncer en un sujeto en necesidad del mismo, comprendiendo dicho método administrar un ADC como se ha descrito anteriormente, de forma que el sujeto se trata, en el que el ADC se administra al sujeto por un modo seleccionado del grupo que consiste en parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intrarticular, intrabronquial, intrabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelular, intracerebeloso, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraóseo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarectal, intrarenal, intraretiniano, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal y transdérmico.

### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

Figura 1. Alineamiento de secuencias de la cadena pesada variable para los anticuerpos murinos Ab5 (SEQ ID NO:112), Ab6 (SEQ ID NO:113), Ab7 (SEQ ID NO:114), Ab8 (SEQ ID NO:115), Ab9 (SEQ ID NO:116), Ab10 (SEQ ID NO:117), Ab11 (SEQ ID NO: 118), Ab12 (SEQ ID NO:119) y Ab13 (SEQ ID NO:120).

Figura 2. Alineamiento de secuencias de la cadena ligera variable para los anticuerpos murinos Ab5 (SEQ ID NO:103), Ab6 (SEQ ID NO:104), Ab7 (SEQ ID NO:105), Ab8 (SEQ ID NO:106), Ab9 (SEQ ID NO:107), Ab10 (SEQ ID NO:108), Ab11 (SEQ ID NO:109), Ab12 (SEQ ID NO:110) y Ab13 (SEQ ID NO:111).

Figura 3. Alineamiento de secuencias de la cadena pesada variable para los anticuerpos murinos Ab5 (SEQ ID NO: 112), Ab6 (SEQ ID NO: 113), Ab7 (SEQ ID NO: 114) y Ab8 (SEQ ID NO: 115); y secuencias de la cadena pesada variable humanizadas derivadas de los mismos, es decir, Ab1 VH.1z (SEQ ID NO:39), Ab1 VH.1 (SEQ ID NO:43), Ab1 VH.1a (SEQ ID NO:44), Ab1 VH.1b (SEQ ID NO:45), Ab2 VH.1z (SEQ ID NO:55), Ab2 VH.1 (SEQ ID NO:59), Ab2 VH.1a (SEQ ID NO:60), Ab2 VH.1b (SEQ ID NO:61), Ab3 VH.1z (SEQ ID NO:70), Ab3 VH.1 (SEQ ID NO:74), Ab3 VH.1a (SEQ ID NO:75), Ab3 VH.1b (SEQ ID NO:76), Ab4 VH.1z (SEQ ID NO:84), Ab4 VH.1 (SEQ ID NO:88), Ab4 VH.1a (SEQ ID NO:89), Ab4 VH.1a.2 (SEQ ID NO:121), Ab4 VH.1a.3 (SEQ ID NO:122), Ab4 VH.1b (SEQ ID NO:123), y Ab4 VH.1b.2 (SEQ ID NO:90).

Figura 4. Alineamiento de secuencias de la cadena ligera variable para los anticuerpos murinos Ab5 (SEQ ID NO: 103), Ab6 (SEQ ID NO: 104), Ab7 (SEQ ID NO: 105) y Ab8 (SEQ ID NO: 106); y secuencias de la cadena pesada variable humanizadas derivadas de los mismos, es decir, Ab1 VL.1 (SEQ ID NO:48), Ab1 VL.1a (SEQ ID NO:52), Ab1 VL.2 (SEQ ID NO:53), Ab1 VL.2a (SEQ ID NO:54), Ab2 VL.1 (SEQ ID NO:64), Ab2 VL.1a (SEQ ID NO:68), Ab2 VL.1b (SEQ ID NO:69), Ab3 VL.1 (SEQ ID NO:78), Ab3 VL.1a (SEQ ID NO:82), Ab3 VL.1b (SEQ ID NO:83), Ab4 VL.1 (SEQ ID NO:91), Ab4 VL.1a (SEQ ID NO:95) y Ab4 VL.1b (SEQ ID NO:96).

Figura 5. Efecto de anticuerpos anti-PRLR sobre el crecimiento de células Nb2-11 implantadas en ratones SCID-beige. Los anticuerpos se dosificaron en el día del estudio indicado (día 7, 14 y 21). Las barras de error indican el error estándar de la media (véase el Ejemplo 3).

Figura 6. Resumen de agrupación de epítopes de anticuerpos contra PRLR para los anticuerpos murinos Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11 y Ab12, y para el anticuerpo LFA102 (véase el Ejemplo 4).

Figura 7. Resultados del ensayo de unión simultáneo para anticuerpos quiméricos y humanizados chAb7, Ab39, Ab40, chAb5, Ab30, chAb6, Ab19, Ab21, chAb8, Ab48 y Ab49, y para el anticuerpo LFA102 demuestran que la humanización de anticuerpos quiméricos no cambió significativamente el epítipo central para cada anticuerpo de raíz (véase Ejemplo 4).

Figura 8. Resumen de agrupación de epítopes de anticuerpos contra PRLR para los anticuerpos quiméricos y humanizados chAb7, Ab39, Ab40, chAb5, Ab30, chAb6, Ab19, Ab21, chAb8, Ab48 y Ab49, y para el anticuerpo LFA102 (véase el Ejemplo 4).

Figura 9. Representación de las superficies de epítopes para Ab6 y LFA102 mapeados en la estructura del complejo ternario PRL-PRLR (véase el Ejemplo 5).

Figura 10. Comparación de la unión de ciertos anticuerpos anti-PRLR a PRLRhu, PRLRci y PRLRmu como sigue (véase Ejemplo 10).

Figura 11. Comparación de la unión de ciertos anticuerpos anti-PRLR tras la humanización del anticuerpo quimérico.

### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

5 La presente divulgación se refiere a proteínas de unión a PRLR humano, particularmente anticuerpos anti-PRLR, o porciones de unión al antígeno de los mismos, que se unen a PRLR, y usos de las mismas. Diversos aspectos de la invención se refieren a anticuerpos y fragmentos de anticuerpos, conjugados de los mismos y composiciones farmacéuticas de los mismos, además de ácidos nucleicos, vectores de expresión recombinantes y células hospedadoras para la producción de tales anticuerpos y fragmentos. También están englobados por la invención métodos de uso de los anticuerpos de la invención para detectar PRLR humano, para inhibir la actividad de PRLR humano, ya sea *in vitro* o *in vivo*; y para prevenir o tratar trastornos tales como cáncer de mama.

10 A menos que se defina de otro modo en el presente documento, los términos científicos y técnicos usados a propósito de la presente invención deben tener los significados que son comúnmente entendidos por aquellos expertos habituales en la materia. El significado y alcance de los términos debe ser claro, sin embargo, en el caso de cualquier ambigüedad latente, las definiciones proporcionadas en el presente documento prevalecen sobre cualquier definición de diccionario o extrínseca. Además, a menos que se requiera de otro modo por el contexto, los términos en singular deben incluir pluralidades y los términos en plural deben incluir el singular. En la presente solicitud, el uso de "o" significa "y/o", a menos que se establezca de otro modo. Además, el uso del término "que incluye", además de otras formas, tales como "incluye" e "incluido", no es limitante. Por tanto, términos tales como "elemento" o "componente" engloban tanto elementos como componentes que comprenden una unidad y elementos y componentes que comprenden más de una subunidad, a menos que se establezca específicamente de otro modo.

15 Generalmente, las nomenclaturas usadas a propósito de, y técnicas de, cultivo de células y de tejido, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química de proteínas y ácido nucleico e hibridación descritas en el presente documento son aquellas muy conocidas y comúnmente usadas en la materia. Los métodos y técnicas de la presente invención se realizan generalmente según métodos convencionales muy conocidos en la técnica y como se describen en diversas referencias generales y más específicas que son citadas y tratadas en toda la presente memoria descriptiva, a menos que se indique lo contrario. Se realizan reacciones enzimáticas y técnicas de purificación según las especificaciones del fabricante, como comúnmente se realiza en la materia o como se describe en el presente documento. Las nomenclaturas usadas a propósito de, y los procedimientos de laboratorio y técnicas de, química analítica, química orgánica sintética y química medicinal y farmacéutica descritas en el presente documento son aquellas muy conocidas y comúnmente usadas en la materia. Técnicas convencionales se usan para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación y administración, y tratamiento de pacientes.

20 Para que la presente invención pueda ser más fácilmente entendida, a continuación se definen términos seleccionados.

35 El término "polipéptido", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier cadena polimérica de aminoácidos. Los términos "péptido" y "proteína" se usan indistintamente con el término polipéptido y también se refieren a una cadena polimérica de aminoácidos. El término "polipéptido" engloba proteínas nativas o artificiales, fragmentos de proteínas y análogos de polipéptidos de una secuencia de proteínas. Un polipéptido puede ser monomérico o polimérico.

40 El término "proteína aislada" o "polipéptido aislado" es una proteína o polipéptido que, en virtud de su origen o fuente de derivación, no está asociado a componentes naturalmente asociados que lo acompañan en su estado nativo; está sustancialmente libre de otras proteínas de la misma especie; es expresado por una célula de una especie diferente; o no se produce en la naturaleza. Así, un polipéptido que es químicamente sintetizado o sintetizado en un sistema celular diferente de la célula de la que se origina naturalmente estará "aislado" de sus componentes naturalmente asociados. Una proteína también puede convertirse en sustancialmente libre de componentes naturalmente asociados por aislamiento, usando técnicas de purificación de proteínas muy conocidas en la técnica.

45 El término "recuperar", como se usa en el presente documento, se refiere al proceso de convertir una especie química, tal como un polipéptido sustancialmente libre de componentes naturalmente asociados por aislamiento, por ejemplo, usando técnicas de purificación de proteínas muy conocidas en la técnica.

50 Los términos "PRLR humano" y "PRLR humano no mutante" (abreviado en el presente documento PRLRh, PRLRhwt), como se usan en el presente documento, se refieren a un receptor de citocina de clase 1 que atraviesa una única membrana. El PRLR humano incluye una región extracelular que se une a prolactina, una región transmembranaria y una región citoplásmica. El término PRLR humano pretende incluir PRLR humano recombinante (PRLRhr), que puede prepararse por métodos de expresión recombinante convencionales. La Tabla 1 proporciona la secuencia de aminoácidos de PRLR humano (es decir, SEQ ID NO: 1), y el dominio extracelular del mismo (es decir, SEQ ID NO: 2), que se conocen en la técnica. Además, se conocen en la técnica diversas isoformas de PRLR y se exponen en la Tabla 1 a continuación.

**TABLA 1: Secuencia de PRLR humano**

Proteína	Identificador de secuencia	Secuencia
		12345678901234567890123456789012
		12345678901234567890123456789012
PRLR humano	<b>SEQ ID NO.:1</b>	MKENVASATVFTELLFLNLTCLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPPTDGGGLPTNYS HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFGKQYTS RTYIMMVNATNQMGSFSDELYVDVTVYIV PPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLID LKTGWFTLLYEIRLKPKEAAEWEIHFAGQ QTEFKILSLHPGQKYLQVRCKPDHGYWSA WSPATFIQIPSDFTMNDTTVWISVAVLSA VICLIIVWAVALKGYSMVTCIFPPVPGPKI KGFDAHLEKKGKSEELLSALGCQDFPPTS SDYEDLLVEYLEVDDSEHQHLSVHSKEH PSQGMKPTYLDPDTSGRGSCDSPSLLSEK CEEPQANPSTFYDPEVIEKPENPETTHT WDPQCISMEGKIPIYFHAGGSKCSTWPLP QPSQHNPSSYHNITDVCELAVGPAGAPAT LLNEAGKDALKSSQTIKSREEGKATQORE VESFHSETDQDTPWLLPQEKTPFGSAKPL DYVEIHKVNDGALSLLPKQRENSGKPKK PGTPENNKEYAKVSGVMDNNILVLPDPH AKNVACFEESAKEAPP SLEQNQA EKALAN FTATSSKCR LQLGLDYLD PACFTHSFH
Dominio extracelular de PRLR humano	<b>SEQ ID NO: 2</b>	QLPPGKPEIFKCRSPNKETFTCWWRPPTDGG GLPTNYS LTYHREGETLMHECPDYITGGP NSCHF GKQYTSMWRTYIMMVNATNQMGS SFSDELYVDVTVYIVQDPPELELAVEVK QPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLKTGWFTLL YEIRLKPKEAAEWEIHFAGQQT EFKILSL HPGQKYLQVRCKPDHGYWSAWSPATFIQI PSDFTMN
Isoforma 2 de PRLR humano	<b>SEQ ID NO: 3</b>	MKENVASATVFTELLFLNLTCLLNVQDPD PPELELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTL IDLKTGWFTLLYEIRLKPKEAAEWEIHF AGQQT EFKILSLHPGQKYLQVRCKPDH GYWSAWSPATFIQIPSDFTMNDTTVWIS VAVLSAVICLIIVWAVALKGYSMVTCIF PPVPGPKIKGFDAHLEKKGKSEELLSAL GCQDFPPTS DYEDLLVEYLEVDDSEHQH LSVHSKEHPSQGMKPTYLDPDTSGRGSC DSPSLLSEKCEEPQANPSTFYDPEVIEK PENPETTHTWDPQCISMEGKIPIYFHAG GSKCSTWPLPQPSQHNPSSYHNITDVCE LAVGPAGAPATLLNEAGKDALKSSQTIK SREEGKATQOREVESFHSETDQDTPWLL PQEKTPFGSAKPLDYVEIHKVNDGALS LLPKQRENSGKPKKPGTPENNKEYAKV SGVMDNNILVLPDPHAKNVACFEESA KEAPP SLEQNQA EKALANFTATSSKCR LQLGLDYLD PACFTHSFH
Isoforma 3 de PRLR humano	<b>SEQ ID NO: 4</b>	MKENVASATVFTELLFLNLTCLLNGQLPP GKPEIFKCRSPNKETFTCWWRPPTDGG GLPTNYS LTYHREGETLMHECPDYITGG PNSCHFGKQYTSMWRTYIMMVNATNQM GSFSDELYVDVTVYIVQDPPELELAVE VKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLKTGW FTLLYEIRLKPKEAAEWEIHFAGQQT EFKILSLHPGQKYLQVRCKPDHGYWSA WSPATFIQIPSAW
		12345678901234567890123456789012



Proteína	Identificador de secuencia	Secuencia
Isoforma 4 de PRLR humano	<b>SEQ ID NO: 5</b>	MKENVASATVFTELLFLNTECLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSITY HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFGKQYTSMW RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVITYIVQPD PPELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLK TGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTTEFK ILSLHPGQKYLQVVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSDFTMNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALKGYSMVTCIFPPVPGPKIKGFDAHLEKGGK SEELLSALGCQDFPPTSDEYEDLLVEYLEVDDS EDQHLMSVHSKEHPSQGDPLMLGASHYKNLKS YRPRKISSQGR LAVFTKATLTTVQ
Isoforma 5 de PRLR humano	<b>SEQ ID NO: 6</b>	MKENVASATVFTELLFLNTECLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSITY HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFGKQYTSMW RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVITYIVQPD PPELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLK TGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTTEFK ILSLHPGQKYLQVVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSDFTMNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALKGYSMVTCIFPPVPGPKIKGFDAHLEKGGK SEELLSALGCQDFPPTSDEYEDLLVEYLEVDDS EDQHLMSVHSKEHPSQEREQRQAQEARDS
Isoforma 6 de PRLR humano	<b>SEQ ID NO: 7</b>	MKENVASATVFTELLFLNTECLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSITY HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFGKQYTSMW RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVITYIVQPD PPELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLK TGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTTEFK ILSLHPGQKYLQVVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSDFTMNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALKGYSMVTCIFPPVPGPKIKGFDAHLEVTTP
Isoforma 7 de PRLR humano	<b>SEQ ID NO: 8</b>	MKENVASATVFTELLFLNTECLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSITY HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFGKQYTSMW RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVITYIVQPD PPELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLK TGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTTEFK ILSLHPGQKYLQVVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSGDPLMLGASHYKNLKS YRPRKISSQGR LAVFTKATLTTVQ
Isoforma 8 de PRLR humano	<b>SEQ ID NO: 9</b>	MHECPDYITGGPNSCHFGKQYTSMWRTYIMMV NATNQMGSSFSDELYVDVITYIVQDPPELAV EVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLKTGWFTLL YEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTTEFKILSLHPG QKYLQVVRCKPDHGYWSAWSPATFIQIPSDFT MNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAVALKGYSM VTCIFPPVPGPKIKGFDAHLEVTTP

5 "Actividad biológica", como se usa en el presente documento, se refiere a todas las propiedades biológicas inherentes del receptor de prolactina. Propiedades biológicas de PRLR incluyen, pero no se limitan a, unión a prolactina, unión a hormona de crecimiento, unión a lactógeno placentario, activación de la actividad de JAK2 cinasa, activación de la actividad de tirosina cinasas de proteína del receptor transmembranario, actividad antiapoptósica, señalización de receptor de la superficie celular, señalización mediada por citocinas, participación en la implantación del embrión, actividad de la cascada JAK-STAT, actividad de la cascada JAK-STAT implicada en la señalización de hormonas de crecimiento, participación en la lactación, participación en el desarrollo de alvéolos de la glándula mamaria, participación en la diferenciación de células epiteliales de la glándula mamaria, participación en el desarrollo de epitelio de la glándula mamaria, participación en el crecimiento de la próstata, regulación de la adhesión celular, regulación de la diferenciación de células epiteliales, actividad biosintética esteroidea y activación de linfocitos T.

15 Los términos "unión específica" o "que se une específicamente", como se usan en el presente documento en referencia a la interacción de un anticuerpo, una proteína, o un péptido con una segunda especie química, significan que la interacción depende de la presencia de una estructura particular (por ejemplo, un determinante antigénico o epítipo) en la especie química; por ejemplo, un anticuerpo reconoce y se une a una estructura específica de

proteína en vez de a proteínas generalmente. Si un anticuerpo es específico para un epítipo "A", la presencia de una molécula que contiene el epítipo A (o A sin marcar libre), en una reacción que contiene "A" marcado y el anticuerpo, reducirá la cantidad de A marcado unido al anticuerpo.

5 El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, se refiere ampliamente a cualquier molécula de inmunoglobulina (Ig) que consiste en cuatro cadenas de polipéptidos, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L), o cualquier fragmento funcional, mutante, variante, o derivación de los mismos, que retiene las características de unión al epítipo esenciales de una molécula de Ig. Tales formatos de anticuerpo mutante, de variante, o derivado, son conocidos en la técnica. Realizaciones no limitantes de los cuales se tratan más adelante.

10 En un anticuerpo de longitud completa, cada cadena pesada está comprendida de una región variable de la cadena pesada (abreviada en el presente documento HCVR o VH) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada está comprendida de tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera está comprendida de una región variable de la cadena ligera (abreviada en el presente documento LCVR o VL) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera está comprendida de un dominio, CL. Las regiones VH y VL pueden ser adicionalmente subdivididas en regiones de hipervariabilidad, llamadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, llamadas regiones estructurales (FR). Cada VH y VL está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas de extremo amino a extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las moléculas de inmunoglobulina pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclase.

20 El término "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo"), como se usa en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad para unirse específicamente a un antígeno (por ejemplo, PRLRh). Se ha mostrado que la función de unión al antígeno de un anticuerpo puede realizarse por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Tales realizaciones de anticuerpos también pueden ser formatos biespecíficos, específicos dobles o multi-específicos; que se unen específicamente a dos o más antígenos diferentes. Ejemplos de fragmentos de unión englobados dentro del término "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un fragmento F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546, Winter et al., publicación PCT WO 90/05144 A1), que comprende un único dominio variable; y (vi) una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, estén codificados por genes separados, pueden unirse, usando métodos recombinantes, por un conector sintético que les permite producirse como una cadena de proteína individual en la que el par de regiones VL y VH forman moléculas monovalentes (conocidas como Fv monocatenario (scFv); véanse, por ejemplo, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; y Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883). Tales anticuerpos monocatenarios también pretenden estar englobados dentro del término "porción de unión al antígeno" de un anticuerpo. También están englobadas otras formas de anticuerpos monocatenarios, tales como diacuerpos. Los diacuerpos son anticuerpos biespecíficos bivalentes en los que los dominios VH y VL se expresan en una sola cadena de polipéptidos, pero usando un conector que es demasiado corto como para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, forzando así a los dominios a emparejarse con dominios complementarios de otra cadena y creando dos sitios de unión al antígeno (véanse, por ejemplo, Holliger, P., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R.J., et al. (1994) Structure 2:1121-1123). Tales porciones de unión al anticuerpo se conocen en la técnica (Kontermann y Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag, New York. 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5).

45 El término "construcción de anticuerpo", como se usa en el presente documento, se refiere a un polipéptido que comprende uno o más de los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos de la invención unidos a un polipéptido de conector o un dominio constante de inmunoglobulina. Los polipéptidos de conector comprenden dos o más restos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos y se usan para unir una o más porciones de unión al antígeno. Tales polipéptidos de conector son muy conocidos en la técnica (véanse, por ejemplo, Holliger, P., et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R.J., et al. (1994) Structure 2:1121-1123). Un dominio constante de inmunoglobulina se refiere a un dominio constante de la cadena pesada o ligera. Se conocen en la técnica secuencias de aminoácidos del dominio constante de la cadena pesada y cadena ligera de IgG humana y se representan en la Tabla 2.

TABLA 2: Secuencia del dominio constante de cadena pesada y dominio constante de cadena ligera de IgG humana

Proteína	Identificador de secuencia	Secuencia
Región constante de Ig gamma-1	SEQ ID NO.:10	12345678901234567890123456789012 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREEQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Región constante de Ig gamma-1 mutante	SEQ ID NO.:11	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREEQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Región constante de Ig kappa	SEQ ID NO.:12	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSST YLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
Región constante de Ig lambda	SEQ ID NO.:13	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS

5 Todavía además, un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo puede ser parte de moléculas de inmunoadhesión más grandes, formadas por asociación covalente o no covalente del anticuerpo o porción de anticuerpo con una o varias de otras proteínas o péptidos. Ejemplos de tales moléculas de inmunoadhesión incluyen el uso de la región central de estreptavidina para producir una molécula de scFv tetramérica (Kipriyanov, S.M., et al. (1995) Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101) y el uso de un resto de cisteína, un péptido marcador y una marca de polihistidina del extremo C para producir moléculas de scFv bivalentes y biotiniladas (Kipriyanov, S.M., et al. (1994) Mol. Immunol. 31:1047-1058). Pueden prepararse porciones de anticuerpo, tales como fragmentos Fab y F(ab')<sub>2</sub>, a partir de anticuerpos completos usando técnicas convencionales, tales como digestión con papaína o con pepsina, respectivamente, de anticuerpos completos. Además, pueden obtenerse anticuerpos, porciones de anticuerpo y moléculas de inmunoadhesión usando técnicas de ADN recombinante convencionales, como se describe en el presente documento.

15 Un "anticuerpo aislado", como se usa en el presente documento, pretende referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a PRLRh está sustancialmente libre de anticuerpos que se unen específicamente a antígenos distintos de PRLRh). Un anticuerpo aislado que se une específicamente a PRLRh puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas de PRLR de otras especies. Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otro material celular y/o productos químicos.

25 El término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis al azar o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo en las CDR y en particular CDR3. Sin embargo, el término "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que las secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, han sido injertadas en secuencias de la región estructural humana.

30 El término "anticuerpo humano recombinante", como se usa en el presente documento, pretende incluir todos los anticuerpos humanos que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como los anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula hospedadora (descrito adicionalmente en la Sección II C, más adelante), anticuerpos aislados de una biblioteca de anticuerpos humanos combinatoria recombinante (Hoogenboom H.R., (1997) TIB Tech. 15:62-70; Azzazy H., y Highsmith W.E.,

(2002) Clin. Biochem. 35:425-445; Gavilondo J.V., y Larrick J.W. (2002) BioTechniques 29:128-145; Hoogenboom H., y Chames P. (2000) Immunology Today 21:371-378), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para los genes de la inmunoglobulina humana (véanse, por ejemplo, Taylor, L. D., et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295; Kellermann S-A., and Green L.L. (2002) Current Opinion in Biotechnology 13:593-597; Little M. et al (2000) Immunology Today 21:364-370) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implica el corte y empalme de secuencias de genes de la inmunoglobulina humana a otras secuencias de ADN. Tales anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En ciertas realizaciones, sin embargo, tales anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias de Ig humana, mutagénesis somática *in vivo*) y así las secuencias de aminoácidos de las regiones VH y VL de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque derivan de y están relacionadas con las secuencias VH y VL de la línea germinal humana, pueden no existir naturalmente dentro del repertorio de la línea germinal del anticuerpo humano *in vivo*. Una realización proporciona anticuerpos completamente humanos capaces de unirse a PRLR humano que pueden generarse usando técnicas muy conocidas en la técnica, tales como, pero no se limitan a, usando bibliotecas de fagos de Ig humana tales como las desveladas en Jermutus et al., publicación PCT N.º WO 2005/007699 A2.

El término "anticuerpo quimérico" se refiere a anticuerpos que comprenden secuencias de la región variable de la cadena pesada y ligera de una especie y secuencias de la región constante de otra especie, tales como anticuerpos que tienen regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras murinas unidas a regiones constantes humanas.

El término "anticuerpo injertado en CDR" se refiere a anticuerpos que comprenden secuencias de la región variable de la cadena pesada y ligera de una especie, pero en las que las secuencias de una o más de las regiones CDR de VH y/o VL se sustituyen por secuencias de CDR de otra especie, tales como anticuerpos que tienen regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras murinas en las que una o más de las CDR murinas (por ejemplo, CDR3) se han sustituido con secuencias de CDR humana.

Los términos "numeración de Kabat", "definiciones de Kabat" y "marcado de Kabat" se usan indistintamente en el presente documento. Estos términos, que son reconocidos en la materia, se refieren a un sistema de numeración de restos de aminoácidos que son más variables (es decir, hipervariables) que otros restos de aminoácidos en las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras de un anticuerpo, o una porción de unión al antígeno del mismo (Kabat et al. (1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391 y Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición, U.S. Department of Health and Human Services, Publicación de NIH N.º 91-3242). Para la región variable de la cadena pesada, la región hipervariable oscila de las posiciones de aminoácidos 31 a 35 para CDR1, posiciones de aminoácidos 50 a 65 para CDR2 y posiciones de aminoácidos 95 a 102 para CDR3. Para la región variable de la cadena ligera, la región hipervariable oscila de las posiciones de aminoácidos 24 a 34 para CDR1, posiciones de aminoácidos 50 a 56 para CDR2 y posiciones de aminoácidos 89 a 97 para CDR3.

Como se usa en el presente documento, los términos "aceptor" y "anticuerpo aceptor" se refieren al anticuerpo o secuencia de ácidos nucleicos que proporciona o que codifica al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o el 100 % de las secuencias de aminoácidos de una o más de las regiones estructurales. En algunos aspectos, el término "aceptor" se refiere a la secuencia de aminoácidos o ácidos nucleicos del anticuerpo que proporciona o que codifica la(s) región (regiones) constante(s). En otro aspecto más, el término "aceptor" se refiere a la secuencia de aminoácidos o de ácidos nucleicos del anticuerpo que proporciona o que codifica una o más de las regiones estructurales y la(s) región (regiones) constante(s). En un aspecto específico, el término "aceptor" se refiere a una secuencia de aminoácidos o de ácidos nucleicos del anticuerpo humano que proporciona o codifica al menos el 80 %, preferentemente al menos 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, o el 100 % de las secuencias de aminoácidos de una o más de las regiones estructurales. Según este aspecto, un aceptor puede contener al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, o al menos 10 restos de aminoácidos que no se produce (producen) en una o más posiciones específicas de un anticuerpo humano. Una región estructural de aceptor y/o región (regiones) constante(s) de aceptor pueden derivar de u obtenerse, por ejemplo, de un gen de anticuerpo de la línea germinal, un gen de anticuerpo maduro, un anticuerpo funcional (por ejemplo, anticuerpos muy conocidos en la técnica, anticuerpos en desarrollo, o anticuerpos comercialmente disponibles).

Como se usa en el presente documento, el término "CDR" se refiere a la región determinante de la complementariedad dentro de las secuencias variables del anticuerpo. Hay tres CDR en cada una de las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera, que se designan CDR1, CDR2 y CDR3, para cada una de las regiones variables. El término "conjunto de CDR", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de tres CDR que se producen en una única región variable capaz de unirse al antígeno. Los límites exactos de estas CDR se han definido de forma diferente según diferentes sistemas. El sistema descrito por Kabat (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) y (1991)) no solo proporciona un sistema de numeración de restos inequívoco aplicable a cualquier región variable de un anticuerpo, sino que también proporciona límites de restos precisos que definen las tres CDR. Estas CDR pueden denominarse CDR de Kabat. Chothia y colaboradores (Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) y Chothia et al., Nature 342:877-883 (1989)) encontraron que ciertas sub-porciones dentro de las CDR de Kabat adoptaban conformaciones de esqueleto peptídico casi idénticas, a pesar de tener gran diversidad al nivel de secuencia de

aminoácidos. Estas sub-porciones se designaron L1, L2 y L3 o H1, H2 y H3 donde "L" y "H" designan las regiones de la cadena ligera y cadena pesada, respectivamente. Estas regiones pueden denominarse CDR de Chothia, que tienen límites que se solapan con CDR de Kabat. Otros límites que definen CDR que se solapan con las CDR de Kabat se han descrito por Padlan (FASEB J. 9:133-139 (1995)) y MacCallum (J Mol Biol 262(5):732-45 (1996)).

5 Todavía otras definiciones de límites de CDR pueden no seguir estrictamente uno de los sistemas anteriores, pero sin embargo se solaparán con las CDR de Kabat, aunque pueden ser acortadas o alargadas en vista de la predicción o hallazgos experimentales de que restos particulares o grupos de restos o incluso CDR enteras no afectan significativamente la unión al antígeno. Los métodos usados en el presente documento pueden utilizar CDR definidas según cualquiera de estos sistemas, aunque realizaciones preferidas usen las CDR definidas por Kabat o Chothia.

10

Como se usa en el presente documento, el término resto "canónico" se refiere a un resto en una CDR o región estructural que define una estructura de CDR canónica particular como se define por Chothia et al. (J. Mol. Biol. 196:901-907 (1987); Chothia et al., J. Mol. Biol. 227:799 (1992)). Según Chothia et al., porciones críticas de las CDR de muchos anticuerpos tienen conformaciones de esqueleto peptídico casi idénticas a pesar de la gran diversidad al nivel de secuencia de aminoácidos. Cada estructura canónica especifica principalmente un conjunto de ángulos de torsión del esqueleto peptídico para un segmento contiguo de restos de aminoácidos que forman un bucle.

15

Como se usa en el presente documento, los términos "donante" y "anticuerpo donante" se refieren a un anticuerpo que proporciona una o más CDR. En un aspecto preferido, el anticuerpo donante es un anticuerpo de una especie diferente del anticuerpo del que se obtienen o derivan las regiones estructurales. En el contexto de un anticuerpo humanizado, el término "anticuerpo donante" se refiere a un anticuerpo no humano que proporciona una o más CDR.

20

Como se usa en el presente documento, el término "región estructural" o "secuencia de la región estructural" se refiere a las secuencias restantes de una región variable menos las CDR. Debido a que la definición exacta de una secuencia de CDR puede ser determinada por diferentes sistemas, el significado de una secuencia de la región estructural está sometido a interpretaciones correspondientemente diferentes. Las seis CDR (CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de la cadena ligera y CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de la cadena pesada) también dividen las regiones estructurales en la cadena ligera y la cadena pesada en cuatro sub-regiones (FR1, FR2, FR3 y FR4) en cada cadena, en la que CDR1 está posicionada entre FR1 y FR2, CDR2 entre FR2 y FR3, y CDR3 entre FR3 y FR4. Sin especificar las sub-regiones particulares como FR1, FR2, FR3 o FR4, una región estructural, como se denomina por otros, representa las FR combinadas dentro de la región variable de una única cadena de inmunoglobulina que existe de forma natural. Como se usa en el presente documento, una FR representa una de las cuatro sub-regiones, y FR representa dos o más de las cuatro sub-regiones que constituyen una región estructural.

25

30

Se conocen en la técnica secuencias aceptoras de cadena pesada y cadena ligera humanas. En un aspecto, las secuencias aceptoras de cadena pesada y cadena ligera humanas están seleccionadas de las secuencias descritas en la Tabla 3 y Tabla 4.

35

**TABLA 3: Secuenciasceptoras de cadena pesada**

SEQ ID No.	Región de proteína	Secuencia
		12345678901234567890123456789012
14	VH1-18 y JH6 FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT
15	VH1-18 y JH6 FR2	WVRQAPGQGLEWVG
16	VH1-18 y JH6 FR3	RVTMTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR
17	VH1-18 y JH6 FR4	WGQGTITVTVSS
14	21/28 y JH4 FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT
18	21/28 y JH4 FR2	WVRQAPGORLEWVG
19	21/28 y JH4 FR3	RVTITRDTASASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
SEQ ID No.	Región de proteína	Secuencia
		12345678901234567890123456789012
20	21/28 y JH4 FR4	WGQGTITVTVSS
21	VH2-26 y JH6 FR1	QVTLKESGPVVLVKPTETLTLTCTVSGFSL
22	VH2-26 y JH6 FR2	WIRQPPGKALEWLAH
23	VH2-26 y JH6 FR3	RLTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATYYCAR
17	VH2-26 y JH6 FR4	WGQGTITVTVSS
24	M60 y JH4 FR1	QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTLYGFSL
25	M60 y JH4 FR2	WIRQPPGKALEWLA
26	M60 y JH4 FR3	RLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCAR
20	M60 y JH4 FR4	WGQGTITVTVSS
14	VH1-46 y JH6 FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT
15	VH1-46 y JH6 FR2	WVRQAPGQGLEWVG
27	VH1-46 y JH6 FR3	RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCAR
17	VH1-46 y JH6 FR4	WGQGTITVTVSS

**TABLA 4: Secuenciasceptoras de cadena ligera**

SEQ ID No.	Región de proteína	Secuencia
		12345678901234567890123456789012
28	A20 y JK4 FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC
29	A20 y JK4 FR2	WYQQKPGKVPKLLIY
30	A20 y JK4 FR3	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYC
31	A20 y JK4 FR4	FGGGTKVEIKR
28	III-3R y JK4 FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC
29	III-3R y JK4 FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
32	III-3R y JK4 FR3	GVPSRISGSGSGTDFTFTISLQPEDVATYYC
31	III-3R y JK4 FR4	FGGGTKVEIKR
33	A1 y JK4 FR1	DVVMTQSPSLPVLTLGQPASISC
34	A1 y JK4 FR2	WFQQRPGQSPRLLIY
35	A1 y JK4 FR3	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
31	A1 y JK4 FR4	FGGGTKVEIKR
36	01 y JK2 FR1	DIVMTQTPSLPVTPEPASISC
37	01 y JK2 FR2	WYLQKPGQSPQLLIY
35	01 y JK2 FR3	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
38	01 y JK2 FR4	FGGGTKLEIKR

5 Como se usa en el presente documento, el término "gen de anticuerpo de la línea germinal" o "fragmento de gen" se refiere a una secuencia de inmunoglobulina codificada por células no linfoides que no han experimentado el proceso de maduración que conduce a la transposición y mutación genética para la expresión de una inmunoglobulina particular (véanse, por ejemplo, Shapiro et al., Crit. Rev. Immunol. 22(3): 183-200 (2002); Marchalonis et al., Adv Exp Med Biol. 484:13-30 (2001)). Es más probable que los genes del anticuerpo de la línea germinal que los genes del anticuerpo maduro conserven las estructuras de secuencia de aminoácidos esenciales características de individuos en las especies, por tanto es menos probable que sean reconocidos como de una fuente extraña cuando se usan terapéuticamente en esa especie.

15 Como se usa en el presente documento, el término restos "clave" se refiere a ciertos restos dentro de la región variable que tienen más impacto sobre la especificidad de unión y/o afinidad de un anticuerpo, en particular un anticuerpo humanizado. Un resto clave incluye, pero no se limita a, uno o más de los siguientes: un resto que es adyacente a una CDR, un posible sitio de glucosilación (puede ser cualquier sitio de N- o O-glucosilación), un resto raro, un resto capaz de interactuar con el antígeno, un resto capaz de interactuar con una CDR, un resto canónico, un resto de contacto entre la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera,

un resto dentro de la zona de Vernier y un resto en la región que solapa entre la definición de Chothia de una CDR1 de la cadena pesada variable y la definición de Kabat de la primera región estructural de la cadena pesada.

Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo humanizado" es un anticuerpo o una variante, derivado, análogo o fragmento del mismo que se une inmunoespecíficamente a un antígeno de interés y que comprende una región estructural (FR) que tiene sustancialmente la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo humano y una región determinante de la complementariedad (CDR) que tiene sustancialmente la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo no humano. Como se usa en el presente documento, el término "sustancialmente" en el contexto de una CDR se refiere a una CDR que tiene una secuencia de aminoácidos al menos el 80 %, preferentemente al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 % o al menos el 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo no humano CDR. Un anticuerpo humanizado comprende sustancialmente todos de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables (Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, FabC, Fv) en los que todas o sustancialmente todas las regiones CDR se corresponden con las de una inmunoglobulina no humana (es decir, anticuerpo donante) y todas o sustancialmente todas las regiones estructurales son las de una secuencia consenso de inmunoglobulina humana. Preferentemente, un anticuerpo humanizado también comprende al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), normalmente la de una inmunoglobulina humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado contiene tanto la cadena ligera, además de al menos el dominio variable de una cadena pesada. El anticuerpo también puede incluir las regiones CH1, bisagra, CH2, CH3 y CH4 de la cadena pesada. En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado solo contiene una cadena ligera humanizada. En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado solo contiene una cadena pesada humanizada. En realizaciones específicas, un anticuerpo humanizado solo contiene un dominio variable humanizado de una cadena ligera y/o cadena pesada humanizada.

El anticuerpo humanizado puede seleccionarse de cualquier clase de inmunoglobulinas, que incluye IgM, IgG, IgD, IgA e IgE, y cualquier isotipo, que incluye sin limitación IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. El anticuerpo humanizado puede comprender secuencias de más de una clase o isotipo, y pueden seleccionarse dominios constantes particulares para optimizar las funciones efectoras deseadas usando técnicas muy conocidas en la técnica.

Las regiones estructurales y regiones CDR de un anticuerpo humanizado no necesitan corresponderse con precisión con las secuencias parentales, por ejemplo, las CDR de anticuerpo donante o la región estructural consenso pueden ser mutagenizadas por sustitución, inserción y/o delección de al menos un resto de aminoácido de manera que la CDR o resto de la región estructural en ese sitio no se corresponda ni con el anticuerpo donante ni con la región estructural consenso. En un aspecto preferido, tales mutaciones, sin embargo, no serán amplias. Normalmente, al menos el 80 %, preferentemente al menos el 85 %, más preferentemente al menos el 90 %, y lo más preferentemente al menos el 95 % de los restos del anticuerpo humanizado se corresponderán con aquellos de las secuencias de FR y CDR parentales. Como se usa en el presente documento, el término "región estructural consenso" se refiere a la región estructural en la secuencia de inmunoglobulina consenso. Como se usa en el presente documento, el término "secuencia de inmunoglobulina consenso" se refiere a la secuencia formada a partir de los aminoácidos (o nucleótidos) que se producen más frecuentemente en una familia de secuencias de inmunoglobulina relacionadas (véase, por ejemplo, Winnaker, From Genes to Clones (Verlagsgesellschaft, Weinheim, Alemania 1987). En una familia de inmunoglobulinas, cada posición en la secuencia consenso está ocupada por el aminoácido que se produce más frecuentemente en esa posición en la familia. Si dos aminoácidos se producen con igual frecuencia, cualquiera puede incluirse en la secuencia consenso.

Como se usa en el presente documento, zona de "Vernier" se refiere a un subconjunto de restos de la región estructural que pueden ajustarse a la estructura de CDR y afinar el ajuste al antígeno como se describe por Foote y Winter (1992, J. Mol. Biol. 224:487-499). Los restos de la zona de Vernier forman una capa subyacente a las CDR y pueden influir en la estructura de CDR y la afinidad del anticuerpo.

El término "proteína de unión multivalente" se usa en esta memoria descriptiva para indicar una proteína de unión que comprende dos o más sitios de unión al antígeno. La proteína de unión multivalente se manipula preferentemente para tener los tres o más sitios de unión al antígeno, y generalmente es un anticuerpo que no existe de forma natural. El término "proteína de unión multiespecífica" se refiere a una proteína de unión capaz de unirse a dos o más dianas relacionadas o no relacionadas. Proteínas de unión al dominio variable doble (DVD), como se usa en el presente documento, son proteínas de unión que comprenden dos o más sitios de unión al antígeno y son proteínas de unión tetravalentes o multivalentes. Tales DVD pueden ser monoespecíficas, es decir, capaces de unirse a un antígeno, o multiespecíficas, es decir, capaces de unirse a dos o más antígenos. Las proteínas de unión DVD que comprenden dos polipéptidos DVD de cadena pesada y dos polipéptidos DVD de cadena ligera se refieren a una Ig DVD. Cada mitad de una Ig DVD comprende un polipéptido DVD de cadena pesada y un polipéptido DVD de cadena ligera, y dos sitios de unión al antígeno. Cada sitio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera con un total de 6 CDR implicadas en la unión al antígeno por sitio de unión al antígeno.

Como se usa en el presente documento, el término "neutralizar" se refiere a la neutralización de la actividad biológica de un receptor de citocina cuando una proteína de unión se une específicamente al receptor de citocina. Preferentemente, una proteína de unión neutralizante es un anticuerpo neutralizante cuya unión a PRLRh produce inhibición de una actividad biológica de PRLRh. Preferentemente, la proteína de unión neutralizante se une a PRLRh

y reduce una actividad biológica de PRLRh al menos aproximadamente el 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 85 % o más. La inhibición de la proteína de unión neutralizante de una actividad biológica de PRLRh por una proteína de unión neutralizante puede evaluarse midiendo uno o más indicadores de actividad biológica de PRLRh muy conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede medirse la inhibición de fosforilación de PRLR, pSTAT5 o ERK1/2 en una línea celular que expresa PRLR, por ejemplo, la línea celular de carcinoma de mama humano T47D. Alternativamente, puede medirse la inhibición de la proliferación de líneas celulares que expresan PRLR, por ejemplo, células linfoides pro-B Baf3 transfectadas con PRLR humano, células de linfoma de rata Nb2-11, células de carcinoma de mama humano MDA-MB-231-PRLR transfectadas con células de cáncer de mama humanas PRLR o BT474.

El término "actividad" incluye actividades tales como la especificidad de unión/afinidad de un anticuerpo por un antígeno, por ejemplo, un anticuerpo anti-PRLRh que se une a un antígeno de PRLRh y/o la potencia neutralizante de un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo anti-PRLRh cuya unión a PRLRh inhibe la actividad biológica de PRLRh, por ejemplo, inhibición de la fosforilación de PRLR, pSTAT5 o ERK1/2 en una línea celular que expresa PRLR, por ejemplo, la línea celular de carcinoma de mama humano T47D, o inhibición de la proliferación de líneas celulares que expresan PRLR, por ejemplo, células linfoides pro-B Ba/F3 transfectadas con PRLR humano, células de linfoma de rata Nb2-11, células de carcinoma de mama humano MDA-MB-231-PRLR transfectadas con PRLR o células de cáncer de mama humano BT474.

El término "epítoto" incluye cualquier determinante de polipéptido capaz de unión específica a una proteína de unión, por ejemplo, un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo. En ciertos aspectos, los determinantes de epítoto incluyen agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, fosforilo o sulfonilo, y, en ciertos aspectos, pueden tener características estructurales tridimensionales específicas, y/o características de carga específicas. En diversos aspectos, un epítoto puede ser un epítoto lineal o secuencial, es decir, una secuencia de aminoácidos lineal, de la estructura primaria del antígeno, es decir, PRLR. Alternativamente, en otros aspectos, un epítoto puede ser un epítoto conformacional que tiene una forma tridimensional específica cuando el antígeno asume su estructura secundaria. Por ejemplo, el epítoto conformacional puede comprender aminoácidos no lineales, es decir, no secuenciales, del antígeno.

En un aspecto particular, un epítoto es una región de un antígeno que está unida por una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo. En ciertos aspectos, se dice que una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo, se une específicamente al antígeno cuando reconoce preferencialmente su antígeno diana en una mezcla compleja de proteínas y/o macromoléculas. En un aspecto particular, un epítoto del antígeno, es decir, PRLR, incluye aquellos restos de aminoácidos dentro de 4 angstroms (Å) de la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo, cuando la proteína de unión está unida al antígeno.

El término "resonancia de plasmones superficiales", como se usa en el presente documento, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones bioespecíficas en tiempo real por detección de alteraciones en concentraciones de proteína dentro de una matriz de biosensor, por ejemplo usando el sistema BIAcore (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia y Piscataway, NJ). Para descripciones adicionales, véanse Jönsson, U., et al. (1993) *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26; Jönsson, U., et al. (1991) *Biotechniques* 11:620-627; Johnsson, B., et al. (1995) *J. Mol. Recognit.* 8:125-131; y Johnsson, B., et al. (1991) *Anal. Biochem.* 198:268-277.

El término " $k_{as}$ ", como se usa en el presente documento, pretende referirse a la constante de velocidad de asociación para la asociación de un anticuerpo al antígeno para formar el complejo anticuerpo/antígeno como se conoce en la técnica.

El término " $k_{dis}$ ", como se usa en el presente documento, pretende referirse a la constante de velocidad de disociación de un anticuerpo del complejo anticuerpo/antígeno como se conoce en la técnica.

El término " $K_D$ ", como se usa en el presente documento, pretende referirse a la constante de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno particular como se conoce en la técnica.

El término "proteína de unión marcada", como se usa en el presente documento, se refiere a una proteína con una marca incorporada que proporciona la identificación de la proteína de unión. Preferentemente, la marca es un marcador detectable, por ejemplo, incorporación de un aminoácido radiomarcado o unión a un polipéptido de restos de biotínulo que pueden detectarse por avidina marcada (por ejemplo, estreptavidina que contiene un marcador fluorescente o actividad enzimática que puede detectarse por métodos ópticos o colorimétricos). Ejemplos de marcas para polipéptidos incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{166}\text{Ho}$  o  $^{153}\text{Sm}$ ); marcas fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, fósforos de lantánidos), marcas enzimáticas (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, luciferasa, fosfatasa alcalina); marcadores quimioluminiscentes; grupos biotínulo; epítotos de polipéptido predeterminados reconocidos por un indicador secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremalleras de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metal, marcas de epítotos); y agentes magnéticos, tales como quelatos de gadolinio.



El término "conjugado anticuerpo-fármaco" o "ADC" se refiere a una proteína de unión, tal como un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, químicamente unido a uno o más agente(s) químico(s) que pueden opcionalmente ser agentes terapéuticos o citotóxicos. Ejemplos de agentes que pueden usarse en los ADC de la invención incluyen, pero no se limitan a, inhibidores mitóticos, antibióticos antitumorales, agentes inmunomoduladores, vectores para terapia génica, agentes alquilantes, agentes antiangiogénicos, antimetabolitos, agentes que contienen boro, agentes quimioprotectores, hormonas, agentes antihormonales, corticosteroides, agentes terapéuticos fotoactivos, oligonucleótidos, agentes de radionúclido, inhibidores de la topoisomerasa, inhibidores de tirosina cinasas y radiosensibilizadores.

El término "agente" o "fármaco" se usa en el presente documento para indicar un compuesto químico, una mezcla de compuestos químicos, una macromolécula biológica, o un extracto preparado a partir de materiales biológicos.

El término "citotoxina" o "agente citotóxico" incluye cualquier agente que es perjudicial para (por ejemplo, destruye) las células. En un aspecto de la invención, un anticuerpo descrito en el presente documento está conjugado con un agente citotóxico.

Los términos "cristal" y "cristalizado", como se usan en el presente documento, se refieren a un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, que existe en forma de un cristal. Los cristales son una forma del estado sólido de la materia, que es distinta de otras formas tales como el estado sólido amorfo o el estado cristalino líquido. Los cristales están compuestos de matrices tridimensionales de repetición regular de átomos, iones, moléculas (por ejemplo, proteínas tales como anticuerpos), o armazones moleculares (por ejemplo, complejos antígeno/anticuerpo). Estas matrices tridimensionales están dispuestas según relaciones matemáticas específicas que son bien entendidas en el campo. La unidad fundamental, o elemento estructural, que se repite en un cristal se llama la unidad asimétrica. La repetición de la unidad asimétrica en una disposición que se conforma a una simetría cristalográfica bien definida dada proporciona la "celdilla unidad" del cristal. La repetición de la celdilla unidad por traducciones regulares en las tres dimensiones proporciona el cristal. Véase Giege, R. y Ducruix, A. Barrett, *Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach*, 2ª ed., pp. 20 1-16, Oxford University Press, New York, New York, (1999)."

El término "polinucleótido", como se usa en el presente documento, se refiere a una forma polimérica de dos o más nucleótidos, ya sean ribonucleótidos o desoxinucleótidos, o una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. El término incluye formas mono y bicatenarias de ADN, pero preferentemente es ADN bicatenario.

El término "polinucleótido aislado", como se usa en el presente documento, debe significar un polinucleótido (por ejemplo, de origen genómico, de ADNc, o sintético, o alguna combinación de los mismos) que, en virtud de su origen, el "polinucleótido aislado": no está asociado con todo o una porción de un polinucleótido con el que el "polinucleótido aislado" se encuentra en la naturaleza; está operativamente unido a un polinucleótido al que no está unido en la naturaleza; o no se produce en la naturaleza como parte de una secuencia mayor.

El término "vector", como se usa en el presente documento, pretende referirse a una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico al que se ha unido. Un tipo de vector es un "plásmido", que se refiere a un bucle de ADN bicatenario circular en el que pueden unirse segmentos de ADN adicionales. Otro tipo de vector es un vector viral, en el que pueden unirse segmentos de ADN adicionales en el genoma viral. Ciertos vectores son capaces de replicación autónoma en una célula hospedadora en la que se introducen (por ejemplo, vectores bacterianos que tienen un origen de replicación bacteriano y vectores de mamífero episomales). Otros vectores (por ejemplo, vectores de mamífero no episomales) pueden integrarse en el genoma de una célula hospedadora tras la introducción en la célula hospedadora, y así se replican junto con el genoma del hospedador. Además, ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de genes a los que están operativamente unidos. Tales vectores se denominan en el presente documento "vectores de expresión recombinantes" (o simplemente "vectores de expresión"). En general, los vectores de expresión de utilidad en las técnicas de ADN recombinante están frecuentemente en forma de plásmidos. En la presente memoria descriptiva, "plásmido" y "vector" pueden usarse indistintamente, ya que el plásmido es la forma más comúnmente usada de vector. Sin embargo, la invención pretende incluir tales otras formas de vectores de expresión, tales como vectores virales (por ejemplo, retrovirus defectuosos en la replicación, adenovirus y virus adenoasociados), que desempeñan funciones equivalentes.

El término "operativamente unido" se refiere a una yuxtaposición en la que los componentes descritos están en una relación que les permite funcionar en su manera esperada. Una secuencia de control "operativamente unida" a una secuencia codificante se une de tal forma que la expresión de la secuencia codificante se logre en condiciones compatibles con las secuencias de control. Secuencias "operativamente unidas" incluyen tanto secuencias de control de la expresión que son contiguas al gen de interés como secuencias de control de la expresión que actúan en *trans* o a una distancia para controlar el gen de interés. El término "secuencia de control de la expresión", como se usa en el presente documento, se refiere a secuencias de polinucleótidos que son necesarias para efectuar la expresión y procesamiento de secuencias codificantes a las que se unen. Las secuencias de control de la expresión incluyen secuencias de iniciación de la transcripción, terminación, de promotor y potenciador apropiadas; señales de procesamiento de ARN eficientes tales como señales de corte y empalme y de poliadenilación; secuencias que estabilizan ARNm citoplásmico; secuencias que potencian la eficiencia de traducción (es decir, secuencia consenso de Kozak); secuencias que potencian la estabilidad de proteínas; y cuando se desee, secuencias que potencian la

secreción de proteína. La naturaleza de tales secuencias de control se diferencia dependiendo del organismo hospedador; en procariotas, tales secuencias de control generalmente incluyen promotor, sitio de unión al ribosoma y secuencia de terminación de la transcripción; en eucariotas, generalmente, tales secuencias de control incluyen promotores y secuencia de terminación de la transcripción. El término "secuencias de control" pretende incluir componentes cuya presencia es esencial para la expresión y el procesamiento, y también pueden incluir componentes adicionales cuya presencia es ventajosa, por ejemplo, secuencias conductoras y secuencias de componentes de fusión. Las construcciones de proteína de la presente invención pueden expresarse, y purificarse, usando vectores de expresión y células hospedadoras conocidas en la técnica, que incluyen casetes de expresión, vectores, células hospedadoras recombinantes y métodos para la expresión recombinante y el procesamiento proteolítico de poliproteínas y pre-proteínas recombinantes a partir de un único marco de lectura abierto (por ejemplo, documento WO 2007/014162).

"Transformación", como se define en el presente documento, se refiere a cualquier proceso por el que el ADN exógeno entra en una célula hospedadora. La transformación puede producirse en condiciones naturales o artificiales usando diversos métodos muy conocidos en la técnica. La transformación puede basarse en cualquier método conocido para la inserción de secuencias de ácidos nucleicos extrañas en una célula hospedadora procariota o eucariota. El método se selecciona basándose en la célula hospedadora que se transforma y puede incluir, pero no se limita a, infección viral, electroporación, lipofección y bombardeo con partículas. Tales células "transformadas" incluyen células establemente transformadas en las que el ADN insertado es capaz de replicación ya sea como un plásmido de replicación autónomo o como parte del cromosoma hospedador. También incluyen células que expresan transitoriamente el ADN o ARN insertado durante periodos de tiempo limitados.

El término "célula hospedadora recombinante" (o simplemente "célula hospedadora"), como se usa en el presente documento, pretende referirse a una célula en la que se ha introducido ADN exógeno. Debe entenderse que tales términos pretenden referirse no solo a la célula sujeto particular, sino a la progenie de una célula tal. Debido a que pueden producirse ciertas modificaciones en las generaciones sucesivas debido a cualquier mutación o influencias ambientales, tal progenie no puede, en realidad, ser idéntica a la célula parental, pero todavía está incluido dentro del alcance del término "célula hospedadora" como se usa en el presente documento. Preferentemente, las células hospedadoras incluyen células procariotas y eucariotas seleccionadas de cualquiera de los reinos de la vida. Células eucariotas preferidas incluyen células de protista, fúngicas, de planta y de animales. Lo más preferentemente, las células hospedadoras incluyen, pero no se limitan a, la línea celular procariota *E. coli*; líneas celulares de mamífero CHO, HEK 293 y COS; la línea celular de insecto Sf9; y la célula fúngica *Saccharomyces cerevisiae*.

Pueden usarse técnicas convencionales para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos y cultivo y transformación de tejido (por ejemplo, electroporación, lipofección). Pueden realizarse reacciones enzimáticas y técnicas de purificación según las especificaciones del fabricante o como comúnmente se realiza en la materia o como se describe en el presente documento. Las técnicas y procedimientos anteriores pueden realizarse generalmente según métodos convencionales muy conocidos en la técnica y como se describen en diversas referencias generales y más específicas que son citadas y tratadas en toda la presente memoria descriptiva. Véase, por ejemplo, Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)).

"Organismo transgénico", como se conoce en la técnica y como se usa en el presente documento, se refiere a un organismo que tiene células que contienen un transgén, en el que el transgén introducido en el organismo (o un ancestro del organismo) expresa un polipéptido no naturalmente expresado en el organismo. Un "transgén" es una construcción de ADN, que está establemente y operablemente integrada en el genoma de una célula a partir de la que se desarrolla un organismo transgénico, que dirige la expresión de un producto génico codificado en uno o más tipos de células o tejidos del organismo transgénico.

El término "regular" y "modular" se usan indistintamente, y, como se usa en el presente documento, se refiere a un cambio o una alteración en la actividad de una molécula de interés (por ejemplo, la actividad biológica de PRLRh). La modulación puede ser un aumento o una disminución en la magnitud de una cierta actividad o función de la molécula de interés. Actividades y funciones a modo de ejemplo de una molécula incluyen, pero no se limitan a, características de unión, actividad enzimática, activación de receptores celulares y transducción de señales.

Correspondientemente, el término "modulador", como se usa en el presente documento, es un compuesto capaz de cambiar o alterar una actividad o función de una molécula de interés (por ejemplo, la actividad biológica de PRLRh). Por ejemplo, un modulador puede producir un aumento o disminución en la magnitud de una cierta actividad o función de una molécula en comparación con la magnitud de la actividad o función observada en ausencia del modulador. En ciertos aspectos, un modulador es un inhibidor, que disminuye la magnitud de al menos una actividad o función de una molécula. Inhibidores a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, proteínas, péptidos, anticuerpos, pepticuerpos, hidratos de carbono o moléculas orgánicas pequeñas. Los pepticuerpos se describen, por ejemplo, en el documento WO01/83525.

El término "agonista", como se usa en el presente documento, se refiere a un modulador que, cuando se pone en contacto con una molécula de interés, produce un aumento en la magnitud de una cierta actividad o función de la molécula en comparación con la magnitud de la actividad o función observada en ausencia del agonista. Agonistas

particulares de interés pueden incluir, pero no se limitan a, polipéptidos PRLRh o polipéptidos, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, o cualquier otra molécula que se una a PRLRh.

El término "antagonista" o "inhibidor", como se usa en el presente documento, se refiere a un modulador que, cuando se pone en contacto con una molécula de interés, produce una disminución en la magnitud de una cierta actividad o función de la molécula en comparación con la magnitud de la actividad o función observada en ausencia del antagonista. Antagonistas particulares de interés incluyen aquellos que bloquean o modulan la actividad biológica o inmunológica de PRLRh. Antagonistas e inhibidores de PRLRh pueden incluir, pero no se limitan a, proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, o cualquier otra molécula, que se une a PRLRh.

El término "inhiben la unión a prolactina" se refiere a la capacidad de la proteína de unión para prevenir la unión de prolactina ("PRL") a PRLRh. Tal inhibición de la unión a prolactina produciría reducción o supresión de la actividad biológica mediada por la unión de prolactina a PRLRh.

Como se usa en el presente documento, el término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de una terapia que es suficiente para reducir o mejorar la gravedad y/o duración de un trastorno o uno o más síntomas del mismo, prevenir el avance de un trastorno, producir la regresión de un trastorno, prevenir la reaparición, desarrollo, aparición o progresión de uno o más síntomas asociados a un trastorno, detectar un trastorno, o potenciar o mejorar el (los) efecto(s) profiláctico(s) o terapéutico(s) de otra terapia (por ejemplo, agente profiláctico o terapéutico).

El término "muestra", como se usa en el presente documento, se usa en su sentido más amplio. Una "muestra biológica", como se usa en el presente documento, incluye, pero no se limita a, cualquier cantidad de una sustancia de una cosa viva o cosa previamente viva. Tales cosas vivas incluyen, pero no se limitan a, seres humanos, ratones, ratas, monos, perros, conejos y otros animales. Tales sustancias incluyen, pero no se limitan a, sangre, suero, orina, líquido sinovial, células, órganos, tejidos, médula ósea, ganglios linfáticos y bazo.

Como se usa en el presente documento, el término "LFA102" se refiere a un anticuerpo anti-PRLR humanizado del subtipo de IgG1 kappa descrito en el documento WO 2008022295 A2 (Novartis) y que comprende la cadena pesada expuesta en SEQ ID NO: 156 y la cadena ligera expuesta en SEQ ID NO: 157. LFA102 se une a la región de dimerización putativa de PRLR en una manera competitiva no de ligando e inhibe la señalización inducida por PRL. LFA102 se une al dominio D2 proximal de membrana de PRLR, que se cree que contiene la interfase de dimerización del receptor. PRLR no se une al dominio D1 (véase, por ejemplo, Damiano et al., 2013, Molec. Cancer. Therapeutics, 12:295-305). Como tal, aunque LFA102 es capaz de inhibir la dimerización de PRLR, debido a que LFA102 no presenta contacto directo con el dominio D1 de PRLR que contiene la mayor parte del sitio de unión a ligando, parece que LFA102 permite la unión simultánea de prolactina a PRLR (véase, por ejemplo, Damiano et al., 2013, Molec. Cancer. Therapeutics, 12:295-305 y van et al., 2010, J. Mol. Biol., 404:112-26).

## **I. Anticuerpos que se unen a PRLRh humano**

Un aspecto de la presente divulgación detalla anticuerpos monoclonales murinos aislados, o porciones de unión al antígeno de los mismos, que se unen a PRLR con alta afinidad, una velocidad de disociación lenta y alta capacidad neutralizante. Un segundo aspecto de la divulgación proporciona anticuerpos quiméricos que se unen a PRLR. Un tercer aspecto de la divulgación proporciona anticuerpos humanizados, o porciones de unión al antígeno de los mismos, que se unen a PRLR. Preferentemente, los anticuerpos, o porciones de los mismos, son anticuerpos aislados. Preferentemente, los anticuerpos de la invención son anticuerpos anti-PRLR humanos neutralizantes.

### **A. Método de preparación de anticuerpos anti-PRLR**

Los anticuerpos de la presente invención pueden prepararse por cualquiera de varias técnicas conocidas en la técnica.

#### **1. Anticuerpos monoclonales anti-PRLR que usan tecnología de hibridomas**

Pueden prepararse anticuerpos monoclonales usando una amplia variedad de técnicas conocidas en la técnica que incluyen el uso de tecnologías de hibridomas, recombinantes y de presentación en fagos, o una combinación de las mismas. Por ejemplo, pueden producirse anticuerpos monoclonales usando técnicas de hibridomas que incluyen aquellas conocidas en la técnica y enseñadas, por ejemplo, en Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1988); Hammerling, et al., en: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas, pp. 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981). El término "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, no se limita a anticuerpos producidos mediante tecnología de hibridomas. El término "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo que deriva de un único clon, que incluye cualquier clon eucariota, procariota, o de fago, y no al método por el que se produce.

Los métodos de producción y cribado de anticuerpos específicos usando tecnología de hibridomas son rutinarios y muy conocidos en la técnica. En un aspecto, la presente divulgación proporciona métodos de generación de anticuerpos monoclonales, además de anticuerpos producidos por el método que comprende cultivar una célula de hibridoma que secreta un anticuerpo de la divulgación en el que, preferentemente, el hibridoma se genera fusionando esplenocitos aislados de un ratón inmunizado con un antígeno de la divulgación con células de mieloma

- y entonces cribando los hibridomas resultantes de la fusión para clones de hibridoma que secretan un anticuerpo capaz de unirse a un polipéptido de la divulgación (véase el Ejemplo 1). Brevemente, pueden inmunizarse ratones con un antígeno PRLR. En un aspecto preferido, el antígeno PRLR se administra con un adyuvante para estimular la respuesta inmunitaria. Tales adyuvantes incluyen adyuvante completo o incompleto de Freund, RIBI (muramil dipéptidos) o ISCOM (complejos inmunoestimulantes). Tales adyuvantes pueden proteger el polipéptido de la rápida dispersión secuestrándolo en un depósito local, o pueden contener sustancias que estimulan el hospedador para secretar factores que son quimiotácticos para macrófagos y otros componentes del sistema inmunitario. Preferentemente, si va a administrarse un polipéptido, el programa de inmunización implicará dos o más administraciones del polipéptido, separadas durante varias semanas.
- 5 Después de la inmunización de un animal con un antígeno PRLR, pueden obtenerse anticuerpos y/o células productoras de anticuerpo del animal. Se obtiene un suero que contiene anticuerpos anti-PRLR del animal por sangrado o sacrificio del animal. El suero puede usarse como se obtiene del animal, puede obtenerse una fracción de inmunoglobulina del suero, o los anticuerpos anti-PRLR pueden purificarse del suero. El suero o inmunoglobulinas obtenidas de este modo son policlonales, así que tiene una matriz heterogénea de propiedades.
- 10 Una vez se detecta una respuesta inmunitaria, por ejemplo, se detectan anticuerpos específicos para el antígeno PRLR en el suero de ratón, se recoge el bazo del ratón y se aíslan los esplenocitos. Los esplenocitos se fusionan entonces por técnicas muy conocidas para cualquier célula de mieloma adecuada, por ejemplo células de la línea celular SP20 disponibles de la ATCC. Se seleccionan los hibridomas y se clonan por dilución limitada. Entonces se ensayan los clones de hibridoma por métodos conocidos en la técnica para células que secretan anticuerpos capaces de unirse a PRLR. Puede generarse líquido ascítico, que generalmente contiene altos niveles de anticuerpos, inmunizando ratones con clones de hibridoma positivos.
- 15
- 20

- En otro aspecto, pueden prepararse hibridomas inmortalizados productores de anticuerpos a partir del animal inmunizado. Después de la inmunización, el animal se sacrifica y se fusionan los linfocitos B esplénicos con células de mieloma inmortalizadas como es muy conocido en la técnica. Véase, por ejemplo, Harlow y Lane, arriba. En un aspecto preferido, las células de mieloma no secretan polipéptidos de inmunoglobulina (una línea celular no secretora). Después de la fusión y selección con antibiótico, los hibridomas se criban usando PRLR, o una porción del mismo, o una célula que expresa PRLR. En un aspecto preferido, el cribado inicial se realiza usando un inmunoensayo asociado a enzima (ELISA) o un radioinmunoensayo (RIA), preferentemente un ELISA. Un ejemplo de cribado de ELISA se proporciona en el documento WO 00/37504.
- 25
- 30 Se seleccionan hibridomas productores de anticuerpos anti-PRLR, se clonan y se criban adicionalmente para características deseables, que incluyen robusto crecimiento de hibridomas, alta producción de anticuerpos y características de anticuerpo deseables, como se trata adicionalmente más adelante. Pueden cultivarse hibridomas y expandirse *in vivo* en animales singénicos, en animales que carecen de un sistema inmunitario, por ejemplo, ratones sin pelo, o en cultivo celular *in vitro*. Métodos de selección, clonación y expansión de hibridomas son muy conocidos para aquellos expertos habituales en la materia.
- 35

- En un aspecto preferido, los hibridomas son hibridomas de ratón, como se ha descrito anteriormente. En otro aspecto preferido, los hibridomas se producen en una especie no humana no de ratón tal como ratas, ovejas, cerdos, cabras, ganado vacuno o caballos. En otro aspecto, los hibridomas son hibridomas humanos, en los que un mieloma no secretor humano se fusiona con una célula humana que expresa un anticuerpo anti-PRLR.
- 40 Pueden generarse fragmentos de anticuerpos que reconocen epítopes específicos por técnicas conocidas. Por ejemplo, pueden producirse fragmentos Fab y F(ab')<sub>2</sub> de la invención por escisión proteolítica de moléculas de inmunoglobulina, usando enzimas tales como papaína (para producir fragmentos Fab) o pepsina (para producir fragmentos F(ab')<sub>2</sub>). Los fragmentos F(ab')<sub>2</sub> contienen la región variable, la región constante de la cadena ligera y el dominio CH1 de la cadena pesada.
- 45

## 45 **2. Anticuerpos monoclonales anti-PRLR que usan SLAM**

- En otro aspecto de la divulgación, se generan anticuerpos recombinantes a partir de linfocitos aislados sueltos usando un procedimiento denominado en la materia el método de anticuerpos de linfocitos seleccionados (SLAM), como se describen en la patente de EE.UU. N.º 5.627.052, publicación PCT WO 92/02551 y Babcock, J.S. et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7843-7848. En este método, anticuerpos secretados de células sueltas de interés, por ejemplo, linfocitos derivados de uno cualquiera de los animales inmunizados descritos en la Sección 1, se criban usando un ensayo de placa hemolítica específica de antígeno, en el que el antígeno PRLR, una subunidad de PRLR, o un fragmento del mismo, se acopla a glóbulos rojos de oveja usando un conector, tal como biotina, y se usa para identificar células sueltas que secretan anticuerpos con especificidad por PRLR. Tras la identificación de las células secretoras de anticuerpos de interés, se rescatan ADNc de la región variable de la cadena pesada y ligera de las células por transcriptasa inversa-PCR y estas regiones variables pueden entonces expresarse, en el contexto de regiones constantes de inmunoglobulina apropiadas (por ejemplo, regiones constantes humanas), en células hospedadoras de mamífero, tales como células COS o CHO. Las células hospedadoras transfectadas con las secuencias de inmunoglobulina amplificadas, derivadas de linfocitos seleccionados *in vivo*, pueden entonces someterse a análisis adicional y selección *in vitro*, por ejemplo por inmunopurificación de las células transfectadas
- 50
- 55

para aislar células que expresan anticuerpos contra PRLR. Las secuencias de inmunoglobulina amplificadas pueden manipularse además *in vitro*, tal como por métodos de maduración por afinidad *in vitro* tales como aquellos descritos en la publicación PCT WO 97/29131 y la publicación PCT WO 00/56772.

### 3. Anticuerpos monoclonales anti-PRLR que usan animales transgénicos

5 En otro aspecto de la presente divulgación, se producen anticuerpos inmunizando un animal no humano que comprende algunos, o todos, del locus de la inmunoglobulina humana con un antígeno PRLR. En un aspecto preferido, el animal no humano es un ratón transgénico XENOMOUSE, una cepa de ratón manipulada que comprende fragmentos grandes de los loci de inmunoglobulina humana y es deficiente en la producción de anticuerpos de ratón. Véanse, por ejemplo, Green et al. Nature Genetics 7:13-21 (1994) y las patentes de Estados Unidos 5.916.771, 5.939.598, 5.985.615, 5.998.209, 6.075.181, 6.091.001, 6.114.598 y 6.130.364. Véanse también 10 el documento WO 91/10741, publicado el 25 de julio de 1991, documento WO 94/02602, publicado el 3 de febrero de 1994, documentos WO 96/34096 y WO 96/33735, ambos publicados el 31 de octubre de 1996, documento WO 98/16654, publicado el 23 de abril de 1998, documento WO 98/24893, publicado el 11 de junio de 1998, documento WO 98/50433, publicado el 12 de noviembre de 1998, documento WO 99/45031, publicado el 10 de 15 septiembre de 1999, documento WO 99/53049, publicado el 21 de octubre de 1999, documento WO 00 09560, publicado el 24 de febrero de 2000 y el documento WO 00/037504, publicado el 29 de junio de 2000. El ratón transgénico XENOMOUSE produce un repertorio humano de tipo adulto de anticuerpos completamente humanos, y genera mAb humanos específicos de antígeno. El ratón transgénico XENOMOUSE contiene aproximadamente 80 % de repertorio de anticuerpos humanos mediante introducción de fragmentos YAC de configuración de la línea 20 germinal de tamaño de megabases de los loci de cadena pesada humana y x loci de la cadena ligera. Véanse Mendez et al., Nature Genetics 15:146-156 (1997), Green y Jakobovits J. Exp. Med. 188:483-495 (1998).

### 4. Anticuerpos monoclonales anti-PRLR que usan bibliotecas de anticuerpos recombinantes

También puede usarse métodos *in vitro* de preparación de los anticuerpos de la invención, en los que se criba una biblioteca de anticuerpos para identificar un anticuerpo que tiene la especificidad de unión deseada. Métodos de tal 25 cribado de las bibliotecas de anticuerpos recombinantes son muy conocidos en la técnica e incluyen métodos descritos en, por ejemplo, Ladner et al., patente de EE.UU. N.º 5.223.409; Kang et al., publicación PCT N.º WO 92/18619; Dower et al., publicación PCT N.º WO 91/17271; Winter et al., publicación PCT N.º WO 92/20791; Markland et al., publicación PCT N.º WO 92/15679; Breitling et al., publicación PCT N.º WO 93/01288; McCafferty et al., publicación PCT N.º WO 92/01047; Garrard et al., publicación PCT N.º WO 92/09690; Fuchs et al. (1991) 30 Bio/Technology 9:1370-1372; Hay et al. (1992) Hum Antibod Hybridomas 3:81-85; Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281; McCafferty et al., Nature (1990) 348:552-554; Griffiths et al. (1993) EMBO J 12:725-734; Hawkins et al. (1992) J Mol Biol 226:889-896; Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628; Gram et al. (1992) PNAS 89:3576-3580; Garrard et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboom et al. (1991) Nuc Acid Res 19:4133-4137; y 35 Barbas et al. (1991) PNAS 88:7978-7982, publicación de solicitud de patente de EE.UU. 20030186374, y publicación PCT N.º WO 97/29131.

La biblioteca de anticuerpos recombinantes puede ser de un sujeto inmunizado con PRLR, o una porción de PRLR, tal como el dominio extracelular. Alternativamente, la biblioteca de anticuerpos recombinantes puede ser un sujeto 40 intacto, es decir, uno que no ha sido inmunizado con PRLR, tal como una biblioteca de anticuerpos humanos de un sujeto humano que no ha sido inmunizado con PRLR humano. Los anticuerpos de la invención se seleccionan por cribado de la biblioteca de anticuerpos recombinantes con el péptido que comprende PRLR humano para así seleccionar aquellos anticuerpos que reconocen PRLR. Métodos de realización de tal cribado y selección son muy conocidos en la técnica, tal como se describe en las referencias en el párrafo precedente. Para seleccionar anticuerpos de la invención que tienen afinidades de unión particulares por PRLRh, tales como aquellos que se 45 disocian de PRLR humano con una constante de velocidad  $k_{dis}$  particular, puede usarse el método conocido en la materia de resonancia de plasmones superficiales para seleccionar anticuerpos que tienen constante de velocidad  $k_{dis}$  deseada. Para seleccionar anticuerpos de la invención que tienen una actividad neutralizante particular para PRLRh, tal como aquellos con una  $Cl_{50}$  particular, pueden usarse métodos convencionales conocidos en la técnica para evaluar la inhibición de la actividad de PRLRh.

En un aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo aislado, o una porción de unión al antígeno del mismo, que se une a PRLR humano. Preferentemente, el anticuerpo es un anticuerpo neutralizante. En diversos aspectos, el anticuerpo es un anticuerpo recombinante o un anticuerpo monoclonal.

Por ejemplo, los anticuerpos de la presente invención también pueden generarse usando diversos métodos de presentación en fagos conocidos en la técnica. En los métodos de presentación en fagos, se presentan dominios de anticuerpo funcionales sobre la superficie de partículas de fago que llevan las secuencias de polinucleótidos que las 55 codifican. En particular, tal fago puede utilizarse para presentar dominios de unión al antígeno expresados de un repertorio o biblioteca de anticuerpos combinatorios (por ejemplo, humanos o murinos). Puede seleccionarse el fago que expresa un dominio de unión al antígeno que se une al antígeno de interés o identificarse con antígeno, por ejemplo, usando antígeno marcado o antígeno unido o capturado a una superficie sólida o perla. El fago usado en estos métodos normalmente son fago filamentoso que incluye los dominios de unión fd y M13 expresados de fago 60 con dominios de anticuerpo Fab, Fv o Fv estabilizados por disulfuro recombinantemente fusionados con cualquiera

de la proteína del gen III o gen VIII de fago. Ejemplos de métodos de presentación en fagos que pueden usarse para producir los anticuerpos de la presente invención incluyen los desvelados en Brinkman et al., J. Immunol. Methods 182:41-50 (1995); Ames et al., J. Immunol. Methods 184:177-186 (1995); Kettleborough et al., Eur. J. Immunol. 24:952-958 (1994); Persic et al., Gene 187 9-18 (1997); Burton et al., Advances in Immunology 57:191-280 (1994); solicitud PCT N.º PCT/GB91/01134; solicitudes PCT WO 90/02809; WO 91/10737; WO 92/01047; WO 92/18619; WO 93/11236; WO 95/15982; WO 95/20401; y patentes de EE.UU. N.º 5.698.426; 5.223.409; 5.403.484; 5.580.717; 5.427.908; 5.750.753; 5.821.047; 5.571.698; 5.427.908; 5.516.637; 5.780. 225; 5.658.727; 5.733.743 y 5.969.108.

Como se describe en las referencias anteriores, después de la selección de fagos, pueden aislarse las regiones codificantes del anticuerpo del fago y usarse para generar anticuerpos completos que incluyen anticuerpos humanos o cualquier otro fragmento de unión al antígeno deseado, y expresarse en cualquier hospedador deseado, que incluye células de mamífero, células de insecto, células de planta, levadura y bacterias, por ejemplo, como se describe en detalle más adelante. Por ejemplo, también pueden emplearse técnicas para producir recombinantemente fragmentos Fab, Fab' y F(ab')<sub>2</sub> usando métodos conocidos en la técnica, tales como los desvelados en la publicación PCT WO 92/22324; Mullinax et al., BioTechniques 12(6):864-869 (1992); y Sawai et al., AJRI 34:26-34 (1995); y Better et al., Science 240:1041-1043 (1988). Ejemplos de técnicas que pueden usarse para producir Fv monocatenarios y anticuerpos incluyen aquellos descritos en las patentes de EE.UU. 4.946.778 y 5.258.498; Huston et al., Methods in Enzymology 203:46-88 (1991); Shu et al., PNAS 90:7995-7999 (1993); y Skerra et al., Science 240:1038-1040 (1988).

Alternativo al cribado de bibliotecas de anticuerpos recombinantes por presentación en fagos, pueden aplicarse otras metodologías conocidas en la técnica para cribar grandes bibliotecas combinatorias para la identificación de anticuerpos de especificidad doble de la invención. Un tipo de sistema de expresión alternativo es uno en el que la biblioteca de anticuerpos recombinantes se expresa como fusiones ARN-proteína, como se describe en la publicación PCT N.º WO 98/31700 por Szostak y Roberts, y en Roberts, R.W. y Szostak, J.W. (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:12297-12302. En este sistema, se crea una fusión covalente entre un ARNm y el péptido o proteína que codifica por traducción *in vitro* de ARNm sintéticos que llevan puromicina, un antibiótico aceptor de peptidilo, en su extremo 3'. Así, puede enriquecerse un ARNm específico de una mezcla compleja de ARNm (por ejemplo, una biblioteca combinatoria) basándose en las propiedades del péptido o proteína codificado, por ejemplo, anticuerpo, o porción del mismo, tal como unión del anticuerpo, o porción del mismo, al antígeno de especificidad doble. Secuencias de ácidos nucleicos que codifican anticuerpos, o porciones de los mismos, recuperadas del cribado de tales bibliotecas pueden expresarse por medios recombinantes como se ha descrito anteriormente (por ejemplo, en células hospedadoras de mamífero) y, además, pueden someterse a maduración por afinidad adicional por cualquier ronda adicional de cribado de fusiones ARNm-péptido en las que se han introducido mutaciones en la(s) secuencia(s) originalmente seleccionada(s), o por otros métodos para la maduración por afinidad *in vitro* de anticuerpos recombinantes, como se ha descrito anteriormente.

En otro enfoque, los anticuerpos de la presente invención también pueden generarse usando métodos de presentación en levadura conocidos en la técnica. En los métodos de presentación en levadura, se usan métodos genéticos para unir dominios de anticuerpo a la pared de la célula de levadura y presentarlos sobre la superficie de levadura. En particular, tal levadura puede utilizarse para presentar dominios de unión al antígeno expresados de un repertorio o biblioteca de anticuerpos combinatorios (por ejemplo, humanos o murinos). Ejemplos de métodos de presentación en levadura que pueden usarse para producir los anticuerpos de la presente invención incluyen los desvelados en Wittrup et al. (patente de EE.UU. N.º 6.699.658).

## **B. Producción de anticuerpos contra PRLR recombinantes**

Los anticuerpos de la presente invención pueden producirse por cualquiera de varias técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, expresión de células hospedadoras, en las que el (los) vector(es) de expresión que codifica(n) las cadenas pesadas y ligeras se transfecta(n) en una célula hospedadora por técnicas convencionales. Las diversas formas del término "transfección" pretenden englobar una amplia variedad de técnicas comúnmente usadas para la introducción de ADN exógeno en una célula hospedadora procarionta o eucariota, por ejemplo, electroporación, precipitación por fosfato de calcio, transfección con DEAE-dextrano y similares. Aunque es posible expresar los anticuerpos de la invención en ya sea células hospedadora procariontas o eucariotas, la expresión de anticuerpos en células eucariotas es preferible, y lo más preferible en células hospedadoras de mamífero, debido a que es más probable que tales células eucariotas (y en particular células de mamífero) se ensamblen y secreten un anticuerpo apropiadamente plegado e inmunológicamente activo que las células procariontas.

Células hospedadoras de mamífero preferidas para expresar los anticuerpos recombinantes de la invención incluyen ovario de hámster chino (células CHO) (incluyendo células CHO dhfr-, descritas en Urlaub y Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, usadas con un marcador de selección DHFR, por ejemplo, como se describe en R.J. Kaufman y P.A. Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621), células de mieloma NS0, células COS y células SP2. Cuando vectores de expresión recombinantes que codifican los genes de anticuerpo se introducen en células hospedadoras de mamífero, los anticuerpos se producen cultivando las células hospedadoras durante un periodo de tiempo suficiente para permitir la expresión del anticuerpo en las células hospedadoras o, más preferentemente, secreción del anticuerpo en el medio de cultivo en el que las células hospedadoras se cultivan. Los anticuerpos pueden recuperarse del medio de cultivo usando métodos de purificación de proteínas convencionales.

También pueden usarse células hospedadoras para producir fragmentos funcionales de anticuerpos, tales como fragmentos Fab o moléculas scFv. Se entenderá que variaciones en el procedimiento anterior están dentro del alcance de la presente divulgación. Por ejemplo, puede desearse transfectar una célula hospedadora con ADN que codifica fragmentos funcionales de cualquiera de la cadena ligera y/o la cadena pesada de un anticuerpo de la presente invención. También puede usarse tecnología de ADN recombinante para eliminar algo, o todo, del ADN que codifica cualquiera o ambas de las cadenas ligeras y pesadas que no son necesarias para la unión a los antígenos de interés. Además, pueden producirse anticuerpos bifuncionales en los que una cadena pesada y una ligera son un anticuerpo de la invención y la otra cadena pesada y ligera son específicas para un antígeno distinto de los antígenos de interés reticulando un anticuerpo de la invención con un segundo anticuerpo por métodos de reticulación química estándar.

En un sistema preferido para la expresión recombinante de un anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, de la divulgación, un vector de expresión recombinante que codifica tanto la cadena pesada del anticuerpo como la cadena ligera del anticuerpo se introduce en células CHO dhfr- por transfección mediada por fosfato de calcio. Dentro del vector de expresión recombinante, los genes de la cadena pesada y ligera del anticuerpo se unen cada uno operativamente a elementos reguladores de potenciador de CMV / promotor de AdMLP para conducir altos niveles de transcripción de los genes. El vector de expresión recombinante también lleva un gen DHFR, que permite la selección de células CHO que se han transfectado con el vector usando selección/amplificación por metotrexato. Las células hospedadoras transformantes seleccionadas se cultivan para permitir la expresión de cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo y se recupera anticuerpo intacto del medio de cultivo. Se usan técnicas de biología molecular estándar para preparar el vector de expresión recombinante, transfectar las células hospedadoras, seleccionar transformantes, cultivar las células hospedadoras y recuperar el anticuerpo del medio de cultivo. Todavía además, la invención proporciona un método de síntesis de un anticuerpo recombinante de la invención cultivando una célula hospedadora de la invención en un medio de cultivo adecuado hasta que se sintetiza un anticuerpo recombinante de la invención. El método puede comprender además aislar el anticuerpo recombinante del medio de cultivo.

**1. Anticuerpos anti-PRLR humanizados**

La Tabla 5 es una lista de secuencias de aminoácidos de regiones VH y VL de anticuerpos anti-PRLRh humanizados preferidos de la divulgación.

**TABLA 5: Lista de secuencias de aminoácidos de regiones VH y VL**

SEQ ID No.	Región de proteína		Secuencia
			123456789012345678901234567890
39	VH.1z Ab1		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAS <b>GYFTT</b> <b>TYWMH</b> WVRQAPGGQGLEWM <b>GEIDP</b> SDSYSNY <b>NQKFKD</b> RVITITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARN <b>GGGLGPAWFSY</b> WGQGLTLTVSS
40	VH.1z Ab1 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 39	<b>GYFTTTYWMH</b>
41	VH.1z Ab1 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 39	<b>EIDP</b> SDSYSN <b>YNQKFKD</b>
42	VH.1z Ab1 CDR-H3	Restos 99-109 de SEQ ID NO: 39	<b>NGGLGPAWFSY</b>
			123456789012345678901234567890
43	VH.1 Ab1		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKAS <b>GYFTT</b> <b>TYWMH</b> WVRQAPGGQGLEWM <b>GEIDP</b> SDSYSNY <b>NQKFKD</b> RVITITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARN <b>GGGLGPAWFSY</b> WGQGLTLTVSS
40	VH.1 Ab1 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 43	<b>GYFTTTYWMH</b>
41	VH.1 Ab1 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 43	<b>EIDP</b> SDSYSN <b>YNQKFKD</b>
42	VH.1 Ab1 CDR-H3	Restos 99-109 de SEQ ID NO: 43	<b>NGGLGPAWFSY</b>

ES 2 671 506 T3

			123456789012345678901234567890
44	VH.1a Ab1		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFT TYWMHWVRQAPGQGLEWIG <b>EIDPSDSYSNY</b> NQKFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR <b>NGGLGPAWFSY</b> WGQGLTLVTVSS
40	VH.1a Ab1 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 44	<b>GYTFTTYWMH</b>
41	VH.1a Ab1 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 44	<b>EIDPSDSYSNYNQKFKD</b>
42	VH.1a Ab1 CDR-H3	Restos 99-109 de SEQ ID NO: 44	<b>NGGLGPAWFSY</b>
			123456789012345678901234567890
45	VH.1b Ab1		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFT TYWMHWVRQAPGQGLEWIG <b>EIDPSDSYSNY</b> AQKFGQGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR <b>NGGLGPAWFSY</b> WGQGLTLVTVSS
46	VH.1b Ab1 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 45	<b>GGTFTTYWMH</b>
47	VH.1b Ab1 CDR-H2	Restos 50-64 de SEQ ID NO: 45	<b>EIDPSDSYSNYAQKF</b>
42	VH.1b Ab1 CDR-H3	Restos 99-109 de SEQ ID NO: 45	<b>NGGLGPAWFSY</b>
			123456789012345678901234567890
48	VL.1 Ab1		DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCK <b>KASQYVVG</b> TAVAWYQQKPGKAPKLLIY <b>SASNRYT</b> GVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC <b>QQ</b> YSSYPWTFGGGTKVEIK
49	VL.1 Ab1 CDR-L1	Restos 24-34 de SEQ ID NO: 48	<b>KASQYVGTAVA</b>
50	VL.1 Ab1 CDR-L2	Restos 50-56 de SEQ ID NO: 48	<b>SASNRYT</b>
51	VL.1 Ab1 CDR-L3	Restos 89-97 de SEQ ID NO: 48	<b>QQYSSYPWT</b>
			123456789012345678901234567890
52	VL.1a Ab1		DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCK <b>KASQYVVG</b> TAVAWYQQKPGKSPKLLIY <b>SASNRYT</b> GVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC <b>QQ</b> YSSYPWTFGGGTKVEIK
49	VL.1a Ab1 CDR-L1	Restos 24-34 de SEQ ID NO: 52	<b>KASQYVGTAVA</b>
50	VL.1a Ab1 CDR-L2	Restos 50-56 de SEQ ID NO: 52	<b>SASNRYT</b>
51	VL.1a Ab1 CDR-L3	Restos 89-97 de SEQ ID NO: 52	<b>QQYSSYPWT</b>
			123456789012345678901234567890
			EIVMTQSPATLSVSPGERATL <b>SCKASQYVVG</b> TAVAWYQQKPGQAPRLLIY <b>SASNRYT</b> GVPA RFSGSGSGTEFTLTITISLQSEDFAVYYC <b>QQ</b> YSSYPWTFGGGTKVEIK
49	VL.2 Ab1 CDR-L1	Restos 24-34 de SEQ ID NO: 53	<b>KASQYVGTAVA</b>
50	VL.2 Ab1 CDR-L2	Restos 50-56 de SEQ ID NO: 53	<b>SASNRYT</b>
51	VL.2 Ab1 CDR-L3	Restos 89-97 de SEQ ID NO: 53	<b>QQYSSYPWT</b>
			123456789012345678901234567890
54	VL.2a Ab1		EIVMTQSPATLSVSPGERATL <b>SCKASQYVVG</b> TAVAWYQQKPGQS <b>PRLLIY</b> SASNRYTGVPA RFSGSGSGTEFTLTITISLQSEDFAVYYC <b>QQ</b> YSSYPWTFGGGTKVEIK
49	VL.2a Ab1 CDR-L1	Restos 24-34 de SEQ ID NO: 54	<b>KASQYVGTAVA</b>



ES 2 671 506 T3

50	VL.2a Ab1 CDR-L2	Restos 50-56 de SEQ ID NO: 54	SASNRYT
51	VL.2a Ab1 CDR-L3	Restos 89-97 de SEQ ID NO: 54	QQYSSYPWT
			123456789012345678901234567890

SEQ ID No.	Región de proteína		Secuencia
			123456789012345678901234567890
55	VH.1z Ab2		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT SFWMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDITYTNY NQKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGDYSNWFTYWGQGLVTVSS
56	VH.1z Ab2 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 55	GYTFTSFWMH
57	VH.1z Ab2 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 55	VIDPSDITYTNYNQKFKG
58	VH.1z Ab2 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 55	GDYSNWFTY
			123456789012345678901234567890
59	VH.1 Ab2		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT SFWMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDITYTNY NQKFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGDYSNWFTYWGQGLVTVSS
56	VH.1 Ab2 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 59	GYTFTSFWMH
57	VH.1 Ab2 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 59	VIDPSDITYTNYNQKFKG
58	VH.1 Ab2 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 59	GDYSNWFTY
			123456789012345678901234567890
60	VH.1a Ab2		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT SFWMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPSDITYTNY NQKFKGRATLTVDSSSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGDYSNWFTYWGQGLVTVSS
56	VH.1a Ab2 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 60	GYTFTSFWMH
57	VH.1a Ab2 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 60	VIDPSDITYTNYNQKFKG
58	VH.1a Ab2 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 60	GDYSNWFTY
			123456789012345678901234567890
61	VH.1b Ab2		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFT SFWMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPSDITYTNY AQKFKGRVTITVDESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGDYSNWFTYWGQGLVTVSS
62	VH.1b Ab2 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 61	GGTFTSFWMH
63	VH.1b Ab2 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 61	VIDPSDITYTNYAQKFKG
58	VH.1b Ab2 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 61	GDYSNWFTY
			123456789012345678901234567890
64	VL.1 Ab2		DIVMTQTPPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGSTDFTLKLSRVEAEDVGV YYCSQSTHVPWTFGGGTKVEIK
65	VL.1 Ab2 CDR-L1	Restos 24-39 de SEQ ID NO: 64	RSSQRLVHSNGNTYLH
66	VL.1 Ab2 CDR-L2	Restos 55-61 de SEQ ID NO: 64	KVSNRFS

ES 2 671 506 T3

67	VL.1 Ab2 CDR-L3	Restos 94-102 de SEQ ID NO: 64	<b>SQSTHVPWT</b>
			123456789012345678901234567890
68	<b>VL.1a Ab2</b>		<b>DVVMTQTPLSLSVTFGPASISCRSSQRLV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YFCSQSTHVPWTFGGGTKVEIK</b>
65	VL.1a Ab2 CDR-L1	Restos 24-39 de SEQ ID NO: 64	<b>RSSQRLVHSNGNTYLH</b>
66	VL.1a Ab2 CDR-L2	Restos 55-61 de SEQ ID NO: 64	<b>KVSNRFS</b>
67	VL.1a Ab2 CDR-L3	Restos 94-102 de SEQ ID NO: 64	<b>SQSTHVPWT</b>
			123456789012345678901234567890
69	<b>VL.1b Ab2</b>		<b>DVVMTQTPLSLSVTFGPASISCRSSQRLV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCSQSTHVPWTFGGGTKVEIK</b>
65	VL.1b Ab2 CDR-L1	Restos 24-139 de SEQ ID NO: 69	<b>RSSQRLVHSNGNTYLH</b>
66	VL.1b Ab2 CDR-L2	Restos 55-61 de SEQ ID NO: 69	<b>KVSNRFS</b>
67	VL.1b Ab2 CDR-L3	Restos 94-102 de SEQ ID NO: 69	<b>SQSTHVPWT</b>
			123456789012345678901234567890

SEQ ID No.	Región de proteína		Secuencia
			123456789012345678901234567890
70	<b>VH.1z Ab3</b>		<b>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFT DYNIH<sup>W</sup>VROAPGGGLEW<sup>M</sup>GYIYPNNDGTGY NQKF<sup>K</sup>RSV<sup>T</sup>MT<sup>T</sup>DT<sup>T</sup>ST<sup>T</sup>STAYMEL<sup>R</sup>SL<sup>R</sup>SD<sup>D</sup> TAVYYCARG<sup>D</sup>GNV<sup>G</sup>DMDY<sup>W</sup>QG<sup>T</sup>TV<sup>V</sup>SS</b>
71	VH.1z Ab3 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 70	<b>GYTFTDYNIH</b>
72	VH.1z Ab3 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 70	<b>YIYPNNDGTGYNQKF<sup>K</sup>S</b>
73	VH.1z Ab3 CDR-H3	Restos 99-109 de SEQ ID NO: 70	<b>G<sup>D</sup>G<sup>N</sup>V<sup>G</sup>DMDY</b>
			123456789012345678901234567890
74	<b>VH.1 Ab3</b>		<b>EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFT DYNIH<sup>W</sup>V<sup>R</sup>QAPGGGLEW<sup>M</sup>GYIYPNNDGTGY NQKF<sup>K</sup>RSV<sup>T</sup>MT<sup>T</sup>DT<sup>T</sup>ST<sup>T</sup>STAYMEL<sup>R</sup>SL<sup>R</sup>SD<sup>D</sup> TAVYYCARG<sup>D</sup>GNV<sup>G</sup>DMDY<sup>W</sup>QG<sup>T</sup>TV<sup>V</sup>SS</b>
71	VH.1 Ab3 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 74	<b>GYTFTDYNIH</b>
72	VH.1 Ab3 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 74	<b>YIYPNNDGTGYNQKF<sup>K</sup>S</b>
73	VH.1 Ab3 CDR-H3	Restos 99-109 de SEQ ID NO: 74	<b>G<sup>D</sup>G<sup>N</sup>V<sup>G</sup>DMDY</b>
			123456789012345678901234567890
75	<b>VH.1a Ab3</b>		<b>EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKKASGYTFT DYNIH<sup>W</sup>V<sup>R</sup>QAPGGGLEW<sup>I</sup>GYIYPNNDGTGY NQKF<sup>K</sup>RSV<sup>T</sup>MT<sup>T</sup>DT<sup>T</sup>ST<sup>T</sup>STAYMEL<sup>R</sup>SL<sup>R</sup>SD<sup>D</sup> TAVYYCARG<sup>D</sup>GNV<sup>G</sup>DMDY<sup>W</sup>QG<sup>T</sup>TV<sup>V</sup>SS</b>
71	VH.1a Ab3 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 75	<b>GYTFTDYNIH</b>
72	VH.1a Ab3 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 75	<b>YIYPNNDGTGYNQKF<sup>K</sup>S</b>
73	VH.1a Ab3 CDR-H3	Restos 99-109 de SEQ ID NO: 75	<b>G<sup>D</sup>G<sup>N</sup>V<sup>G</sup>DMDY</b>
			123456789012345678901234567890

ES 2 671 506 T3

76	VH.1b Ab3		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT DYNIHWVRQAPGGLEWIGYIYPNNDGTGY AQKLGGRVTMTVDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCARGDGNVVGDMDYWGQGTTVTVSS
71	VH.1b Ab3 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 76	GYTFTDYNIH
77	VH.1b Ab3 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 76	YIYPNNDGTGYAQKLG
73	VH.1b Ab3 CDR-H3	Restos 99-109 de SEQ ID NO: 76	G DGNVVGDMDY
			123456789012345678901234567890
78	VL.1 Ab3		DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIY SYLAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLAEGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQH HYATPFTFGQGTKLEIK
79	VL.1 Ab3 CDR-L1	Restos 24-34 de SEQ ID NO: 78	RASENIYSYLA
80	VL.1 Ab3 CDR-L2	Restos 50-56 de SEQ ID NO: 78	NAKTLAE
81	VL.1 Ab3 CDR-L3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 78	QH HYATPFT
			123456789012345678901234567890
82	VL.1a Ab3		DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIY SYLAWYQQKPGKAPKLLVYNAKTLAEGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQH HYATPFTFGQGTKLEIK
79	VL.1a Ab3 CDR-L1	Restos 24-34 de SEQ ID NO: 82	RASENIYSYLA
80	VL.1a Ab3 CDR-L2	Restos 50-56 de SEQ ID NO: 82	NAKTLAE
81	VL.1a Ab3 CDR-L3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 82	QH HYATPFT
			123456789012345678901234567890
83	VL.1b Ab3		DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIY SYLAWYQQKPGKAPKLLVYNAKTLAEGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQH HYATPFTFGQGTKLEIK
79	VL.1b Ab3 CDR-L1	Restos 24-34 de SEQ ID NO: 83	RASENIYSYLA
80	VL.1b Ab3 CDR-L2	Restos 50-56 de SEQ ID NO: 83	NAKTLAE
81	VL.1b Ab3 CDR-L3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 83	QH HYATPFT
			123456789012345678901234567890

SEQ ID No.	Región de proteína		Secuencia
			123456789012345678901234567890
84	VH.1z Ab4		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFT SYWIHWVRQAPGGLEWMEIDPSDSTNY NQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARSEFTNWFAYWGQGLTVTVSS
85	VH.1z Ab4 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 84	GYTFTSYWIH
86	VH.1z Ab4 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 84	EIDPSDSTNYNQKFKG
87	VH.1z Ab4 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 84	SFTNWFAY
			123456789012345678901234567890

ES 2 671 506 T3

88	VH.1 Ab4		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTT SYWIHWVRQAPGGGLEWVMEIDPDSYNTY NQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR <b>SFFTNWFAY</b> WGQGLVTVSS
85	VH.1 Ab4 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 88	<b>GYTFTSYWIH</b>
86	VH.1 Ab4 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 88	<b>EIDPDSYNTYNQKFKG</b>
87	VH.1 Ab4 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 88	<b>SFFTNWFAY</b>
			123456789012345678901234567890
89	VH.1a Ab4		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTT SYWIHWVRQAPGGGLEWVMEIDPDSYNTY NQKFKGRATLTVDKSSSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR <b>SFFTNWFAY</b> WGQGLVTVSS
85	VH.1a Ab4 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 89	<b>GYTFTSYWIH</b>
86	VH.1a Ab4 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 89	<b>EIDPDSYNTYNQKFKG</b>
87	VH.1a Ab4 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 89	<b>SFFTNWFAY</b>
			123456789012345678901234567890
121	VH.1a.2 Ab4		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTT SYWIHWVRQAPGGGLEWVMEIDPDSYNTY NQKFKGRATLTVDRRSSSTAYMELSSLRSED TAVYYCGR <b>SFFTNWFAY</b> WGQGLVTVSS
85	VH.1a.2 Ab4 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 121	<b>GYTFTSYWIH</b>
86	VH.1a.2 Ab4 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 121	<b>EIDPDSYNTYNQKFKG</b>
87	VH.1a.2 Ab4 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 121	<b>SFFTNWFAY</b>
			123456789012345678901234567890
122	VH.1a.3 Ab4		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTT SYWIHWVRQAPGGGLEWVMEIDPDSYNTY NQKFKGRATLTVDKSSSTAYMELSSLRSED TAVYYCGR <b>SFFTNWFAY</b> WGQGLVTVSS
85	VH.1a.3 Ab4 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 122	<b>GYTFTSYWIH</b>
86	VH.1a.3 Ab4 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 122	<b>EIDPDSYNTYNQKFKG</b>
87	VH.1a.3 Ab4 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 122	<b>SFFTNWFAY</b>
			123456789012345678901234567890
123	VH.1b Ab4		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFT SYWIHWVRQAPGGGLEWVMEIDPDSYNTY AQKFKGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR <b>SFFTNWFAY</b> WGQGLVTVSS
149	VH.1b Ab4 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 123	<b>GGTFTSYWIH</b>
150	VH.1b Ab4 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 123	<b>EIDPDSYNTYNAQKFKG</b>
87	VH.1b Ab4 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 123	<b>SFFTNWFAY</b>
			123456789012345678901234567890
90	VH.1b.2 Ab4		EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTT SYWIHWVRQAPGGGLEWVMEIDPDSYNTY NQKFKGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR <b>SFFTNWFAY</b> WGQGLVTVSS
85	VH.1b.2 Ab4 CDR-H1	Restos 26-35 de SEQ ID NO: 90	<b>GYTFTSYWIH</b>

86	VH.1b.2 Ab4 CDR-H2	Restos 50-66 de SEQ ID NO: 90	<b>EIDPDSYTNYNQKFKG</b>
87	VH.1b.2 Ab4 CDR-H3	Restos 99-107 de SEQ ID NO: 90	<b>SFFTNWFAY</b>
			123456789012345678901234567890
91	<b>VL.1 Ab4</b>		<b>DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLV HSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCSQSTHVPFTFGGGTKVEIK</b>
92	VL.1 Ab4 CDR-H1	Restos 24-39 de SEQ ID NO: 91	<b>RSSQSLVHSNGNTYLH</b>
93	VL.1 Ab4 CDR-H2	Restos 55-61 de SEQ ID NO: 91	<b>KVSNRFS</b>
94	VL.1 Ab4 CDR-H3	Restos 94-102 de SEQ ID NO: 91	<b>SQSTHVPFT</b>
			123456789012345678901234567890
95	<b>VL.1a Ab4</b>		<b>DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLV HSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YFCSQSTHVPFTFGGGTKVEIK</b>
92	VL.1a Ab4 CDR-H1	Restos 24-39 de SEQ ID NO: 95	<b>RSSQSLVHSNGNTYLH</b>
93	VL.1a Ab4 CDR-H2	Restos 55-61 de SEQ ID NO: 95	<b>KVSNRFS</b>
94	VL.1a Ab4 CDR-H3	Restos 94-102 de SEQ ID NO: 95	<b>SQSTHVPFT</b>
			123456789012345678901234567890
96	<b>VL.1b Ab4</b>		<b>DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLV HSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLLIYKVSNR SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCSQSTHVPFTFGGGTKVEIK</b>
92	VL.1b Ab4 CDR-H1	Restos 24-39 de SEQ ID NO: 96	<b>RSSQSLVHSNGNTYLH</b>
93	VL.1b Ab4 CDR-H2	Restos 55-61 de SEQ ID NO: 96	<b>KVSNRFS</b>
94	VL.1b Ab4 CDR-H3	Restos 94-102 de SEQ ID NO: 96	<b>SQSTHVPFT</b>
			123456789012345678901234567890

5 Como se usa en el presente documento, el término "Ab1" se refiere a un anticuerpo que comprende (i) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 y SEQ ID NO: 45; y (ii) una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 54.

10 Como se usa en el presente documento, el término "Ab2" se refiere a un anticuerpo que comprende (i) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60 y SEQ ID NO: 61; y (ii) una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 69.

15 Como se usa en el presente documento, el término "Ab3" se refiere a un anticuerpo que comprende (i) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 70; SEQ ID NO: 74; SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 76; y (ii) una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82 y SEQ ID NO: 83.

20 Como se usa en el presente documento, el término "Ab4" se refiere a un anticuerpo que comprende (i) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122 y SEQ ID NO: 123; y (ii) una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 95 y SEQ ID NO: 96.

25 En aspectos particulares, la presente divulgación proporciona anticuerpos humanizados Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20, Ab21, Ab22, Ab23, Ab24, Ab25, Ab26, Ab27, Ab28, Ab29, Ab30, Ab31, Ab32, Ab33, Ab34, Ab35, Ab36, Ab37, Ab38, Ab39, Ab40, Ab41, Ab42, Ab43, Ab44, Ab45, Ab46, Ab47, Ab48, Ab49, Ab50, Ab51, Ab52, Ab53, Ab54 y Ab55 que tienen secuencias de cadena pesada y cadena ligera como se exponen en la Tabla 6 a continuación:

TABLA 6: Anticuerpos contra PRLR humanizados y secuencias de los mismos

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab14	<p>EVOLVDSGAEVKKFGSSVVKCKASGYTFY                      TYMHWVRQAEFGQGLEWMEIDFSDSYSNY                      HQKFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED                      TAVIYCARNGGLGPAWFSYWGQGITLVTVSS                      ASTKGPSVFFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSNHSGALTSVHTFFAVLQSS                      GLYLSGVTVFSSSLGTQYICNVNHKFS                      NTKVDRKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG                      FSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS                      HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN                      STYRVSVLTVQLHQDWLNGKEYKCKVSNKA                      LPAPIEKTIISKAKGQPREPOVYITLPPSRDE                      MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP                      ENNYKTTTPFVLDSDGSEFFLYSKLLIVDKSRW                      QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	124	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITTCRASQVVG                      TAVAWYQQKPKGKPKLLIYSASHRYTGVPS                      RFGSGSGTDFTLTITSSLPQDEDFATYYCQQ                      YSSYPWTFGGKVEIKRTVAAPSVFIFPP                      SDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKV                      DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSITLT                      LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN                      RGEK</p>	125	Ab1 HC.1 & Ab1 LC.1
Ab15	<p>EVOLVDSGAEVKKFGSSVVKCKASGYTFY                      TYMHWVRQAEFGQGLEWMEIDFSDSYSNY                      HQKFKDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED                      TAVIYCARNGGLGPAWFSYWGQGITLVTVSS                      ASTKGPSVFFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSNHSGALTSVHTFFAVLQSS                      GLYLSGVTVFSSSLGTQYICNVNHKFS                      NTKVDRKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG                      FSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS                      HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN                      STYRVSVLTVQLHQDWLNGKEYKCKVSNKA                      LPAPIEKTIISKAKGQPREPOVYITLPPSRDE                      MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP                      ENNYKTTTPFVLDSDGSEFFLYSKLLIVDKSRW                      QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	124	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITTCRASQVVG                      TAVAWYQQKPKGKPKLLIYSASHRYTGVPS                      RFGSGSGTDFTLTITSSLPQDEDFATYYCQQ                      YSSYPWTFGGKVEIKRTVAAPSVFIFPP                      SDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKV                      DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSITLT                      LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN                      RGEK</p>	126	Ab1 HC.1 y Ab1 LC.1a
	123456789012345678901234567890		123456789012345678901234567890		

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab 16	EVQLVDSGAEYKKGSSVRSVKASGYITFT TYMHWVRQAPGQGLEWMGEIDPDSYSIH NOKKDRATITADKSTSTAYMELSLRSED TAVYCARNGGLGPAWFSYWGQGLIVTVSS ASTKGSVFPLAPFSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWSWGALTSVHTTFFAVLQSS GLYSLSVTVFSSSLGTQTYICHVNHKFS NPKVDRKVEPKSCDKHTHTCCPCAPPELLGG PSVFLFPPPKKDTLMISTRPEVTCVVVDVS HEDPEYKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYH STYRVVSVLTVLHQDQLNGKEYKCKVSHKA LPAPIEKTIISKAGQPREPOVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	124	EIVMTQSPATLSVSPGERALVSCRSASQVYG TAVAWYQQKFGQAPRLLIYSASHRYTGIPA RFSGSGGTEFTLTITSSLSQSEDFAVYFCQQ YSSYPMTFGGKVEIKRTVAAPSVFIAPP SDEQLKSGTASVVCLLINNFYPREAKVQMKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTILT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECC	127	Ab1 HC.1 y Ab1 LC.2
	<b>123456789012345678901234567890</b>		<b>123456789012345678901234567890</b>		
Ab 17	EVQLVDSGAEYKKGSSVRSVKASGYITFT TYMHWVRQAPGQGLEWMGEIDPDSYSIH NOKKDRATITADKSTSTAYMELSLRSED TAVYCARNGGLGPAWFSYWGQGLIVTVSS ASTKGSVFPLAPFSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWSWGALTSVHTTFFAVLQSS GLYSLSVTVFSSSLGTQTYICHVNHKFS NPKVDRKVEPKSCDKHTHTCCPCAPPELLGG PSVFLFPPPKKDTLMISTRPEVTCVVVDVS HEDPEYKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYH STYRVVSVLTVLHQDQLNGKEYKCKVSHKA LPAPIEKTIISKAGQPREPOVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	124	EIVMTQSPATLSVSPGERALVSCRSASQVYG TAVAWYQQKFGQSPRELLIYSASHRYTGIPA RFSDSGGTEFTLTITSSLSQSEDFAVYFCQQ YSSYPMTFGGKVEIKRTVAAPSVFIAPP SDEQLKSGTASVVCLLINNFYPREAKVQMKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTILT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECC	128	Ab1 HC.1 y Ab1 LC.2a
	<b>123456789012345678901234567890</b>		<b>123456789012345678901234567890</b>		
Ab 18	EVQLVDSGAEYKKGSSVRSVKASGYITFT TYMHWVRQAPGQGLEWIGEIDPDSYSIH NOKKDRATITVDKSTSTAYMELSLRSED TAVYCARNGGLGPAWFSYWGQGLIVTVSS ASTKGSVFPLAPFSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTWSWGALTSVHTTFFAVLQSS GLYSLSVTVFSSSLGTQTYICHVNHKFS NPKVDRKVEPKSCDKHTHTCCPCAPPELLGG PSVFLFPPPKKDTLMISTRPEVTCVVVDVS HEDPEYKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYH STYRVVSVLTVLHQDQLNGKEYKCKVSHKA LPAPIEKTIISKAGQPREPOVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK	129	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQVYG TAVAWYQQKFGKAPKRLIYSASHRYTGVPF RFSGSGGTEFTLTITSSLSQSEDFAVYFCQQ YSSYPMTFGGKVEIKRTVAAPSVFIAPP SDEQLKSGTASVVCLLINNFYPREAKVQMKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTILT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECC	125	Ab1 HC.1a y Ab1 LC.1

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab19	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EYLVQSGAEVKKFGSSVRYSCKAGYIFIT            TYWMHWVRQAFPGQGLEWIGELIDPDSYSNY            NQKFKDRATLTVDKSTSTAYMELSLRSED            TAVYCARNGGLGPAWFSYWGQGLVTVSS            ASTKGFSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVK            DYFPEFVTVSWMISGALTSVHTTFAVLQSS            GLYLSGVTVFSSSLGTQTYICNVNKKFS            NTKVDRKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG            FSVFLFPPPKKDTLMISTRPEVTCVVVDVS            HEDPEYKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNI            STYRVVSVLTVLHQDPLNGKEYCKVSNKA            LPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSREE            MTKNQYSLTCLVKGGYPSDIAVEWESNGQP            ENNYKTTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW            QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>	129	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITTCASQYVG            TAVAWYQQKPKGKSKPKLLIYSASHRYTGVPS            RFSDSGSDTDLTITSSLQPEDFAFYFCQQ            YSSYPWTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPP            SDEQLKSGTASVVCCLLNNFYPREAKVQMKV            DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITSLSSITLT            LSKADYEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKGFN            RGECC</p>	126	Ab1 HC.1a y Ab1 LC.1a
Ab20	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EYLVQSGAEVKKFGSSVRYSCKAGYIFIT            TYWMHWVRQAFPGQGLEWIGELIDPDSYSNY            NQKFKDRATLTVDKSTSTAYMELSLRSED            TAVYCARNGGLGPAWFSYWGQGLVTVSS            ASTKGFSVFPLAPSSKSTGGTAALGCLVK            DYFPEFVTVSWMISGALTSVHTTFAVLQSS            GLYLSGVTVFSSSLGTQTYICNVNKKFS            NTKVDRKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG            FSVFLFPPPKKDTLMISTRPEVTCVVVDVS            HEDPEYKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNI            STYRVVSVLTVLHQDPLNGKEYCKVSNKA            LPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSREE            MTKNQYSLTCLVKGGYPSDIAVEWESNGQP            ENNYKTTTPPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW            QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>	129	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EIVMTQSPALLSVDFGERALISCKASQYVG            TAVAWYQQKPGQAPRLLIYSASHRYTGIPA            RFGSGGTEFTLTISSLSQSEDFAVYICQQ            YSSYPWTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPP            SDEQLKSGTASVVCCLLNNFYPREAKVQMKV            DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITSLSSITLT            LSKADYEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKGFN            RGECC</p>	127	Ab1 HC.1a y Ab1 LC.2
	<p>123456789012345678901234567890</p>		<p>123456789012345678901234567890</p>		



Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab21	EVLYQSGAEVKKFGSSVYKSKASGGTFT TYMMHWVRQAFQGGLEWIGELIDPSDSYSHY NOKFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYICARNGGLGPAWFSYWGQGITLVTVSS ASTKGFSPFLAPFSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVMNSGALTSVHTTFFAVLQSS GLYSLSSVTVFSSSLGDTQYI CHVYHKFS NTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG FVFLFPPPKADTLMI SRTEFVTCVVVDVY HEDPEYKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYH STYRVYSLTVLHQDNLNGKEYCKVSKKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSSVMHEALHNNHTQKSLSLSPGK	129	EIVMTQSPFATLSVSPGERATLSCFAEQYVY TAVAWYQQKPKFQSPKRLIIYSASHRYTGVFA RFSDSGGTEFTLTISSLSQSEDFAVYFCQQ YSSYPWFYGGGKVEIKRTVAAPSVFIIFPP SDEQLKSGTASVVCLLINNFYPREAKVQMKV DUALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECC	128	Ab1 HC.1a y Ab1 LC.2a
Ab22	EVLYQSGAEVKKFGSSVYKSKASGGTFT TYMMHWVRQAFQGGLEWIGELIDPSDSYSHY AQKFGQRTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYICARNGGLGPAWFSYWGQGITLVTVSS ASTKGFSPFLAPFSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVMNSGALTSVHTTFFAVLQSS GLYSLSSVTVFSSSLGDTQYI CHVYHKFS NTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG FVFLFPPPKADTLMI SRTEFVTCVVVDVY HEDPEYKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYH STYRVYSLTVLHQDNLNGKEYCKVSKKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSSVMHEALHNNHTQKSLSLSPGK	130	123456789012345678901234567890	125	Ab1 HC.1b y Ab1 LC.1
Ab23	EVLYQSGAEVKKFGSSVYKSKASGGTFT TYMMHWVRQAFQGGLEWIGELIDPSDSYSHY AQKFGQRTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYICARNGGLGPAWFSYWGQGITLVTVSS ASTKGFSPFLAPFSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVMNSGALTSVHTTFFAVLQSS GLYSLSSVTVFSSSLGDTQYI CHVYHKFS NTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG FVFLFPPPKADTLMI SRTEFVTCVVVDVY HEDPEYKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYH STYRVYSLTVLHQDNLNGKEYCKVSKKA LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSSVMHEALHNNHTQKSLSLSPGK	130	123456789012345678901234567890	126	Ab1 HC.1b y Ab1 LC.1a

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab24	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EYLVQSGAEYKPKGSSVYKCAAGGTFI                      TYMMHVRQAEGQGLEWIGELDFSDSYSHY                      AOKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSLRSED                      TAVYCARNGGLGPAWFSYWGQGLVTVSS                      ASTKGFVFPPLAFPSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEFVTSWNSGALTSVHTFFAVLQSS                      GLYLSLVVTFPSSSLGTQTYICHVHHKFS                      NTKVDRKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG                      PSVFLFPPPKKDTLMI SRTEPVCVVVDVS                      HEDPEYKFNWYVDGVEVHRAKTKPREEQYU                      STYRVVSVLTVLHQDRLNGKEYKCKVSHKA                      LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREE                      MTKNQYSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQP                      ENNYKTTTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRW                      QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	130	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EIVMTQSPALSVSPGERATLSCRAEQVVG                      TAVAWYQQKFPQAPRLLIYSASNRITGIPA                      RFGSGSGTEFTLLITSSLSQSEDFAVYVCOQ                      YSSYPWTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPP                      SDEQLKSGTASVWCCLLNINFPYPREAKVQMKV                      DNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT                      LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKGFN                      RGECC</p>	127	Ab1 HC.1b y Ab1 LC.2
Ab25	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EYLVQSGAEYKPKGSSVYKCAAGGTFI                      TYMMHVRQAEGQGLEWIGELDFSDSYSHY                      AOKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSLRSED                      TAVYCARNGGLGPAWFSYWGQGLVTVSS                      ASTKGFVFPPLAFPSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEFVTSWNSGALTSVHTFFAVLQSS                      GLYLSLVVTFPSSSLGTQTYICHVHHKFS                      NTKVDRKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG                      PSVFLFPPPKKDTLMI SRTEPVCVVVDVS                      HEDPEYKFNWYVDGVEVHRAKTKPREEQYU                      STYRVVSVLTVLHQDRLNGKEYKCKVSHKA                      LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREE                      MTKNQYSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQP                      ENNYKTTTPPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRW                      QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	130	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EIVMTQSPALSVSPGERATLSCRAEQVVG                      TAVAWYQQKFPQOSERLLIYSASNRITGVFA                      RFGDSGSGTEFTLLITSSLSQSEDFAVYVCOQ                      YSSYPWTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPP                      SDEQLKSGTASVWCCLLNINFPYPREAKVQMKV                      DNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT                      LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKGFN                      RGECC</p>	128	Ab1 HC.1b y Ab1 LC.2a
	<p>123456789012345678901234567890</p>		<p>123456789012345678901234567890</p>		

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab26	EVQLVDSGAEVKKPGSSVKVSKASGYITF SFMMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPDSITYNY NQKFKGRVTITADESTSTAYMELSLRSED TAVYICARGDYSNWFYWGQGLTVVSSAS TKGSPVPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVYVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPPELLGGPS VFLFPEPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH EPEVKTWYVDGVEVHNAKTKPREFQYNS T YRVSVLTVLHQLDNLNGKEYCKVSKALP APIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEM T KMQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPE N NYKTTPEVLDSDGSPFLYSKLTVDKSRWQ Q GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	131	DIVMTQTL SLSVTFGQPASISCRSSQRIV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFP SGPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDV G VYCSQSTHVPWTFGGGTKVEIKRTVA AEPV FIFPPSDEQLKSGTASVVCVLLN NRYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSITYSL SSTITLTKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	132	Ab2 HC.1 y Ab2 LC.1
Ab27	EVQLVDSGAEVKKPGSSVKVSKASGYITF SFMMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPDSITYNY NQKFKGRVTITADESTSTAYMELSLRSED TAVYICARGDYSNWFYWGQGLTVVSSAS TKGSPVPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVYVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPPELLGGPS VFLFPEPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH EPEVKTWYVDGVEVHNAKTKPREFQYNS T YRVSVLTVLHQLDNLNGKEYCKVSKALP APIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEM T KMQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPE N NYKTTPEVLDSDGSPFLYSKLTVDKSRWQ Q GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	131	123456789012345678901234567890 DWMVTQTL SLSVTFGQPASISCRSSQRIV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFP SGPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDV G VYCSQSTHVPWTFGGGTKVEIKRTVA AEPV FIFPPSDEQLKSGTASVVCVLLN NRYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSITYSL SSTITLTKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	133	Ab2 HC.1 y Ab2 LC.1a
Ab28	EVQLVDSGAEVKKPGSSVKVSKASGYITF SFMMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPDSITYNY NQKFKGRVTITADESTSTAYMELSLRSED TAVYICARGDYSNWFYWGQGLTVVSSAS TKGSPVPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVYVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPPELLGGPS VFLFPEPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH EPEVKTWYVDGVEVHNAKTKPREFQYNS T YRVSVLTVLHQLDNLNGKEYCKVSKALP APIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEM T KMQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPE N NYKTTPEVLDSDGSPFLYSKLTVDKSRWQ Q GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	131	123456789012345678901234567890 DWMVTQTL SLSVTFGQPASISCRSSQRIV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVS NRFP SGPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDV G VYCSQSTHVPWTFGGGTKVEIKRTVA AEPV FIFPPSDEQLKSGTASVVCVLLN NRYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSITYSL SSTITLTKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	134	Ab2 HC.1 y Ab2 LC.1b

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab29	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EVLVQSGAEYKKGSSVWVSKASGYTFI                      SFMMHWVRQAFQGGLEWIGVIDPSPDTIYH                      NQKFKGRATLTVDESSSTAYMELSLRSED                      TAVYICARGDYSNWFTYWGQTLVTVSSAS                      TKGPSVFPPLAFSSKSTSGGTAALGCLVKDY                      FPEPVTVWHSAGLTSGVHTFPVAVLQSSGL                      YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSMT                      KVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPPELLGGFS                      VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVYVDSHE                      DPEVKFHWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST                      YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP                      APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT                      KMQVSLTCLVKGFFPSDIAVEWESNGQPEN                      NYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ                      GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	135	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DIVMTQPLSLSVTPGQPASISCRSSQRIV                      HSNGNTYLHWYLRQFGQSFQLLIYKVSIRF                      SGVPPDRFSGSGGIDFTLKISRVEAEDVGV                      YYCSQSTHWPTFGGGTKVEIKRTVAAPSV                      FIFPPSDEQLKSGTASVVCVLLRHRYFPREAK                      VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL                      SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS9FV                      TKSFNRGEC</p>	132	Ab2 HC.1a y Ab2 LC.1
Ab30	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EVLVQSGAEYKKGSSVWVSKASGYTFI                      SFMMHWVRQAFQGGLEWIGVIDPSPDTIYH                      NQKFKGRATLTVDESSSTAYMELSLRSED                      TAVYICARGDYSNWFTYWGQTLVTVSSAS                      TKGPSVFPPLAFSSKSTSGGTAALGCLVKDY                      FPEPVTVWHSAGLTSGVHTFPVAVLQSSGL                      YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSMT                      KVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPPELLGGFS                      VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVYVDSHE                      DPEVKFHWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST                      YRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP                      APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT                      KMQVSLTCLVKGFFPSDIAVEWESNGQPEN                      NYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ                      GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	135	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DVWMTQPLSLSVTPGQPASISCRSSQRIV                      HSNGNTYLHWYLRQFGQSFQLLIYKVSIRF                      SGVPPDRFSGSGGIDFTLKISRVEAEDVGV                      YFCSQSTHWPTFGGGTKVEIKRTVAAPSV                      FIFPPSDEQLKSGTASVVCVLLRHRYFPREAK                      VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL                      SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS9FV                      TKSFNRGEC</p>	133	Ab2 HC.1a y Ab2 LC.1a
	<p>123456789012345678901234567890</p>				

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab31	EVQLVDSGAEVKKFGSSVKVSKRAGYIFIT SFMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPDSITYNY NOKFQGRATLVDESSSTAYMELSLRSED TAVYICARGDYSNWFYWGQTLVTVSSAS TKGPSVFPPLAFSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYLNCNVNHKPSNT KVDKVEPKSDKTHTCPCPAPPELLGGFS VFLFPEPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDNLNGKEYCKKVSNAKALP APIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPEVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	135	DVMTQTPLSLSVTFPGQSPASISCRSSQRIV HSNGNTYLHWYLQKRPQSPQLLIYKVSIRNF SGVPDRFSGSGGSDFTLTKISRVEAEDYGV YFCSQSTHVPWTFGGGTVKVEIKRTVAAPFSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	134	Ab2 HC.1a y Ab2 LC.1b
Ab32	EVQLVDSGAEVKKFGSSVKVSKRAGYIFIT SFMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPDSITYNY AOKFQGRVITVDESSSTAYMELSLRSED TAVYICARGDYSNWFYWGQTLVTVSSAS TKGPSVFPPLAFSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYLNCNVNHKPSNT KVDKVEPKSDKTHTCPCPAPPELLGGFS VFLFPEPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDNLNGKEYCKKVSNAKALP APIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPEVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	136	123456789012345678901234567890 123456789012345678901234567890 DIVMTQPLSLSVTFPGQSPASISCRSSQRIV HSNGNTYLHWYLQKRPQSPQLLIYKVSIRNF SGVPDRFSGSGGSDFTLTKISRVEAEDYGV YFCSQSTHVPWTFGGGTVKVEIKRTVAAPFSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	132	Ab2 HC.1b y Ab2 LC.1
Ab33	EVQLVDSGAEVKKFGSSVKVSKRAGYIFIT SFMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPDSITYNY AOKFQGRVITVDESSSTAYMELSLRSED TAVYICARGDYSNWFYWGQTLVTVSSAS TKGPSVFPPLAFSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYLNCNVNHKPSNT KVDKVEPKSDKTHTCPCPAPPELLGGFS VFLFPEPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDNLNGKEYCKKVSNAKALP APIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPEVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	136	123456789012345678901234567890 123456789012345678901234567890 DIVMTQPLSLSVTFPGQSPASISCRSSQRIV HSNGNTYLHWYLQKRPQSPQLLIYKVSIRNF SGVPDRFSGSGGSDFTLTKISRVEAEDYGV YFCSQSTHVPWTFGGGTVKVEIKRTVAAPFSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	133	Ab2 HC.1b y Ab2 LC.1a

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab34	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EVQLVDSGAEVKKPGSSVKYSCKRASGTFI                      SFMMHWVRQAPEGQLLEWIGVDPDFTYTHY                      AOKFQGRVTITVDESTSTAYMELSLRSED                      TAVYCARGDYSHWFTYWGQGLTVTVSSAS                      TKGPSVFPPLAAPSSTSGGTAALGCLVKDY                      FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL                      YSLSSVYTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT                      KVDKVEPKSCDKTHTCCPPCPAPPELLGGPS                      VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVDSHE                      DPEVFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST                      YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSHKALP                      APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT                      KMQVSLTCLVKGFFPSDIAVEWESNGQPEN                      NYKTTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ                      GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	136	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DVMTQTPLSLSVTFPGQPASISCRSSQSLV                      HSNGNTYLHWYLQKRFQGSFQLLIYKVSIRF                      SGPVDFRFSGSSGTDFTLKISRVEAEDYGV                      YYCSQSTHVEFTFGGTVKVEIKRTVAAPSV                      FIFPPSDEQLKSGTASVVCILLINRFPYREAK                      VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL                      SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSFPV                      TKSFNRGEC</p>	134	Ab2 HC.1b y Ab2 LC.1b
Ab35	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EVQLVDSGAEVKKPGSSVKYSCKRASGTFI                      SYWIGHVVRQAPGQGLEWMGRIIDPSDYTHY                      MQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSLRSED                      TAVYCARSFFTNWFAYWGQGLTVTVSSAS                      TKGPSVFPPLAAPSSTSGGTAALGCLVKDY                      FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL                      YSLSSVYTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT                      KVDKVEPKSCDKTHTCCPPCPAPPELLGGPS                      VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVDSHE                      DPEVFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST                      YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSHKALP                      APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT                      KMQVSLTCLVKGFFPSDIAVEWESNGQPEN                      NYKTTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ                      GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	137	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DIVMTQTPLSLSVTFPGQPASISCRSSQSLV                      HSNGNTYLHWYLQKRFQGSFQLLIYKVSIRF                      SGPVDFRFSGSSGTDFTLKISRVEAEDYGV                      YYCSQSTHVEFTFGGTVKVEIKRTVAAPSV                      FIFPPSDEQLKSGTASVVCILLINRFPYREAK                      VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL                      SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSFPV                      TKSFNRGEC</p>	138	Ab4 HC.1 y Ab4 LC.1
	<p>123456789012345678901234567890</p>				

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab36	EVQLVDSGAEYKPKGSSVKVSKASGYTFT SYWVHVRQAPGQGLEWMGELDPSDSYTHY NOKFKGRVITITADKSTSTAYMELSLRSED TAVYICARSFTHWFAWGGQTLVTVSSAS TKGVSFVPLAAPSSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSVVTVPSSSLGTQYICNVNHHKPSMT KVDKVEPKSDKTHTCPCPAPPELLGGPS VFLFPEPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVFTWVYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPEVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	137	DVWMTQPLSLSVTFGQPASISCRSSQSILV HSNGHTYLHWYLRKFGQSPQLLIYKVSHRF SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV YFCSSQTHVFFTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNHFPYPR VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYS SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	139	Ab4 HC.1 y Ab4 LC.1a
	123456789012345678901234567890		123456789012345678901234567890		
Ab37	EVQLVDSGAEYKPKGSSVKVSKASGYTFT SYWVHVRQAPGQGLEWMGELDPSDSYTHY NOKFKGRVITITADKSTSTAYMELSLRSED TAVYICARSFTHWFAWGGQTLVTVSSAS TKGVSFVPLAAPSSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSVVTVPSSSLGTQYICNVNHHKPSMT KVDKVEPKSDKTHTCPCPAPPELLGGPS VFLFPEPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVFTWVYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPEVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	137	DVWMTQPLSLSVTFGQPASISCRSSQSILV HSNGHTYLHWYLRKFGQSPQLLIYKVSHRF SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV YFCSSQTHVFFTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNHFPYPR VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYS SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	140	Ab4 HC.1 y Ab4 LC.1b
	123456789012345678901234567890		123456789012345678901234567890		
Ab38	EVQLVDSGAEYKPKGSSVKVSKASGYTFT SYWVHVRQAPGQGLEWMGELDPSDSYTHY NOKFKGRATLTVDKSSTAYMELSLRSED TAVYICARSFTHWFAWGGQTLVTVSSAS TKGVSFVPLAAPSSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSVVTVPSSSLGTQYICNVNHHKPSMT KVDKVEPKSDKTHTCPCPAPPELLGGPS VFLFPEPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVFTWVYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPEVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSCEVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	141	DVWMTQPLSLSVTFGQPASISCRSSQSILV HSNGHTYLHWYLRKFGQSPQLLIYKVSHRF SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVEAEDVGV YFCSSQTHVFFTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNHFPYPR VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYS SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	138	Ab4 HC.1a y Ab4 LC.1

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab39	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EYLVQSGAEVKKPSSVKRSKRAGYIF SYWIHVVRQAPGQGLEWIGRIDPDSYTHY NOKFKGRATLTVDKSSSTAYMELSLRSED TAVYICARSFNTWFAYWGQTLVTVSSAS TKGPSVFLPAPS SKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVYTVPSSTLGTQTYICNVNHKFSNT KVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPS VFLFPEPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTI SAKGQPRFPQVYTLPPSREEMT KMQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSEFPLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSQSVMHREALHNYTQKSLSLSPGK</p>	141	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DVMTQTPLSLSVTFPGQPASISCRSSQSLV HSNGNTYLHWYLQKRFQSPQLLIYKVSIRRF SGVPRDFSGSGGTDFTLKISRVEAEDYGV YFCQSTHVEPTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIAPPDEQLKSGTASVVCILLNHFYPREAK VOWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS9FV TKSFNRGEC</p>	139	Ab4 HC.1a y Ab4 LC.1a
Ab40	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EYLVQSGAEVKKPSSVKRSKRAGYIF SYWIHVVRQAPGQGLEWIGRIDPDSYTHY NOKFKGRATLTVDKSSSTAYMELSLRSED TAVYICARSFNTWFAYWGQTLVTVSSAS TKGPSVFLPAPS SKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVYTVPSSTLGTQTYICNVNHKFSNT KVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPS VFLFPEPKKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTI SAKGQPRFPQVYTLPPSREEMT KMQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSEFPLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSQSVMHREALHNYTQKSLSLSPGK</p>	141	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DVMTQTPLSLSVTFPGQPASISCRSSQSLV HSNGNTYLHWYLQKRFQSPQLLIYKVSIRRF SGVPRDFSGSGGTDFTLKISRVEAEDYGV YFCQSTHVEPTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FIAPPDEQLKSGTASVVCILLNHFYPREAK VOWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS9FV TKSFNRGEC</p>	140	Ab4 HC.1a y Ab4 LC.1b
	<p>123456789012345678901234567890</p>		<p>123456789012345678901234567890</p>		



Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab41	EVQLVDSGAEVKKPGSSVKYSCKAASGGFT SYWVHVRQAFGGGLEWIGRIDPSDYTHY AOKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSLRSED TAVYICARSTFTNWFAWGQGITLVVSSAS TKGPSVFPPLAFSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVYTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKVEPKSCDKHTHTCPPAPPELLGGPS VFLFPEPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNKTKPRREQYNS YRVSVLTVLHQDMLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREMT KIQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPEPLDSDGFFLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	142	DIVMTQPLSLSVTFGQPASISCRSSQSIV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSINRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YICSSQTHVFFTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNHNFPYPR VQWKYDUALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPV TKSFNRGEC	138	Ab4 HC.1b y Ab4 LC.1
	<b>123456789012345678901234567890</b>		<b>123456789012345678901234567890</b>		
Ab42	EVQLVDSGAEVKKPGSSVKYSCKAASGGFT SYWVHVRQAFGGGLEWIGRIDPSDYTHY AOKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSLRSED TAVYICARSTFTNWFAWGQGITLVVSSAS TKGPSVFPPLAFSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVYTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKVEPKSCDKHTHTCPPAPPELLGGPS VFLFPEPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNKTKPRREQYNS YRVSVLTVLHQDMLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREMT KIQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPEPLDSDGFFLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	142	DVWMTQPLSLSVTFGQPASISCRSSQSIV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSINRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YFCSSQTHVFFTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNHNFPYPR VQWKYDUALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPV TKSFNRGEC	139	Ab4 HC.1b y Ab4 LC.1a
	<b>123456789012345678901234567890</b>		<b>123456789012345678901234567890</b>		
Ab43	EVQLVDSGAEVKKPGSSVKYSCKAASGGFT SYWVHVRQAFGGGLEWIGRIDPSDYTHY AOKFQGRVTITVDKSTSTAYMELSLRSED TAVYICARSTFTNWFAWGQGITLVVSSAS TKGPSVFPPLAFSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVYTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKVEPKSCDKHTHTCPPAPPELLGGPS VFLFPEPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNKTKPRREQYNS YRVSVLTVLHQDMLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREMT KIQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPEPLDSDGFFLYSKLTVDKSRWQQ GHVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	142	DVWMTQPLSLSVTFGQPASISCRSSQSIV HSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSINRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YICSSQTHVFFTFGGGTKVEIKRTVAAPSV FI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNHNFPYPR VQWKYDUALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPV TKSFNRGEC	140	Ab4 HC.1b y Ab4 LC.1b

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab44	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EYQLVQSGAEYKKGASVYCKASGYTF                      DYNIHWRVRAEQGLEWNGYIYFNIDGTGY                      NQKFKSRVTMTDTSTAYMELRSLRSD                      TAVYCARGDGNYVGDMDYWGQGTIVTVSS                      ASTKGFSEVFLAAPSCKSTSGTAALGCLVK                      DYFPEFVTSWNSGALTSVHTFFAVLQSS                      GLYLSLSSVIVPSSSLGTQYIICHVHHKFS                      NTKVDRKVEPKSCDKHTHTCCPCAPPELLGG                      FSVFLFPPKPKDITLMI SRTEPVTCAVVDVS                      HEDPEYKFNWYVDGVEVHRAKTKPREEQYI                      STYRVVSVLTVLHQDRLNGKEYCKVSHKA                      LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREE                      MTKNQYSLTCLLVKGYYPSDIAVEWESNGQP                      ENNYKTTTPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRW                      QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>	143	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASENIIY                      SYLAWYQQKPKAPKALLIYNAKTLLAEGVPS                      RFGSGSGTDFTLTITSSLOPEDEFAIYCOH                      HYATPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP                      SDEQLKSGTASVWCLLNNFYPREAKVQMKV                      DNALQSGNSQESVTEQDSKDSIYLSSTLT                      LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKGFN                      RGECC</p>	144	Ab3 HC.1 y Ab3 LC.1
Ab45	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EYQLVQSGAEYKKGASVYCKASGYTF                      DYNIHWRVRAEQGLEWNGYIYFNIDGTGY                      NQKFKSRVTMTDTSTAYMELRSLRSD                      TAVYCARGDGNYVGDMDYWGQGTIVTVSS                      ASTKGFSEVFLAAPSCKSTSGTAALGCLVK                      DYFPEFVTSWNSGALTSVHTFFAVLQSS                      GLYLSLSSVIVPSSSLGTQYIICHVHHKFS                      NTKVDRKVEPKSCDKHTHTCCPCAPPELLGG                      FSVFLFPPKPKDITLMI SRTEPVTCAVVDVS                      HEDPEYKFNWYVDGVEVHRAKTKPREEQYI                      STYRVVSVLTVLHQDRLNGKEYCKVSHKA                      LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREE                      MTKNQYSLTCLLVKGYYPSDIAVEWESNGQP                      ENNYKTTTPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRW                      QQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK</p>	143	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASENIIY                      SYLAWYQQKPKAPKALLIYNAKTLLAEGVPS                      RFGSGSGTDFTLTITSSLOPEDEFAIYCOH                      HYATPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP                      SDEQLKSGTASVWCLLNNFYPREAKVQMKV                      DNALQSGNSQESVTEQDSKDSIYLSSTLT                      LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKGFN                      RGECC</p>	145	Ab3 HC.1 y Ab3 LC.1a
	<p>123456789012345678901234567890</p>		<p>123456789012345678901234567890</p>		

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab46	EVQLVDSGAEVKKFGASVSKASGYITF DYHIHWRVQAEFGQGLEWMIYIYFNIDGTG NOKFKSRATLTVDNSTAYMELRSLRSD TAVYCARGDGNYVGDMDYWGQGTIVTVSS ASTKGSVFPLAFPSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPTVSWMSGALTSVHTFFAVLQSS GLYSLSVTVFSSSLGTQYIICHVNHKFS NPKVDKKEPKSCDKHTHTCCPCAPPELLGG PSVFLFPPPKKDTLMISTRPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYI STYRVVSVLTVLHQD $\Delta$ LNQKPKYCKVSNKA LPAPIEKTIISKAGQPREPQVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENHYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	143	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASENIY SYLAWYQQKPKPKKLLVYNAKTLAEGVPS RFGSGSGTDFTLTITSSLPEDDFATYYCOH HYATFTFGQGTGLEIKRTVAAPSVFIIFPP SDEQLKSGTASVVCLLINNFYPREAKVQMKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECC	146	Ab3 HC.1 y Ab3 LC.1b
	<b>123456789012345678901234567890</b>		<b>123456789012345678901234567890</b>		
Ab47	EVQLVDSGAEVKKFGASVSKASGYITF DYHIHWRVQAEFGQGLEWMIYIYFNIDGTG NOKFKSRATLTVDNSTAYMELRSLRSD TAVYCARGDGNYVGDMDYWGQGTIVTVSS ASTKGSVFPLAFPSKSTSGTAAALGCLVK DYFPEPTVSWMSGALTSVHTFFAVLQSS GLYSLSVTVFSSSLGTQYIICHVNHKFS NPKVDKKEPKSCDKHTHTCCPCAPPELLGG PSVFLFPPPKKDTLMISTRPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYI STYRVVSVLTVLHQD $\Delta$ LNQKPKYCKVSNKA LPAPIEKTIISKAGQPREPQVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENHYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	147	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASENIY SYLAWYQQKPKPKKLLVYNAKTLAEGVPS RFGSGSGTDFTLTITSSLPEDDFATYYCOH HYATFTFGQGTGLEIKRTVAAPSVFIIFPP SDEQLKSGTASVVCLLINNFYPREAKVQMKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECC	144	Ab3 HC.1a y Ab3 LC.1
	<b>123456789012345678901234567890</b>		<b>123456789012345678901234567890</b>		
Ab48	EVQLVDSGAEVKKFGASVSKASGYITF DYHIHWRVQAEFGQGLEWMIYIYFNIDGTG NOKFKSRATLTVDNSTAYMELRSLRSD TAVYCARGDGNYVGDMDYWGQGTIVTVSS ASTKGSVFPLAFPSKSTSGTAAALGCLVK DYFPEPTVSWMSGALTSVHTFFAVLQSS GLYSLSVTVFSSSLGTQYIICHVNHKFS NPKVDKKEPKSCDKHTHTCCPCAPPELLGG PSVFLFPPPKKDTLMISTRPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYI STYRVVSVLTVLHQD $\Delta$ LNQKPKYCKVSNKA LPAPIEKTIISKAGQPREPQVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENHYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	147	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASENIY SYLAWYQQKPKPKKLLVYNAKTLAEGVPS RFGSGSGTDFTLTITSSLPEDDFATYYCOH HYATFTFGQGTGLEIKRTVAAPSVFIIFPP SDEQLKSGTASVVCLLINNFYPREAKVQMKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGECC	145	Ab3 HC.1a y Ab3 LC.1a

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab49	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EVQLVDSGAEYKKGASVYVCSKASGYITF                      DYHIHVRVRAFGQGLEWIGYIYPNIDGTGY                      AQKLRGRTITVDTSTAYMELRSLRSD                      TAVYICARGDGNVYVGMVYVQGTIVTVSS                      ASTKGSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSWSGALTSGVHTFPAVLQSS                      GYLSLSSVTVFSSSLGTQYICVNHKFS                      NTKVDRKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG                      PSVFLFPPPKKDTLMI SRTEVTCVAVDYS                      HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYI                      STYRVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKA                      LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREE                      MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP                      ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW                      QQGNVFCSCVMHEALHNNHTQKSLSPGK</p>	147	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASENIY                      SYLAWYQQKFGKAKPKLLVYNAKTLAEGVFS                      RFGSGSGTDFTLTITSSLPQDEDEATYYCOH                      HYATPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP                      SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQMKV                      DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSTLT                      LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKGFH                      RGEK</p>	146	Ab3 HC.1a y Ab3 LC.1b
Ab50	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>EVQLVDSGAEYKKGASVYVCSKASGYITF                      DYHIHVRVRAFGQGLEWIGYIYPNIDGTGY                      AQKLRGRTITVDTSTAYMELRSLRSD                      TAVYICARGDGNVYVGMVYVQGTIVTVSS                      ASTKGSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK                      DYFPEPVTVSWSGALTSGVHTFPAVLQSS                      GYLSLSSVTVFSSSLGTQYICVNHKFS                      NTKVDRKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG                      PSVFLFPPPKKDTLMI SRTEVTCVAVDYS                      HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYI                      STYRVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKA                      LPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREE                      MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP                      ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRW                      QQGNVFCSCVMHEALHNNHTQKSLSPGK</p>	148	<p>123456789012345678901234567890</p> <p>DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASENIY                      SYLAWYQQKFGKAKPKLLVYNAKTLAEGVFS                      RFGSGSGTDFTLTITSSLPQDEDEATYYCOH                      HYATPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP                      SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQMKV                      DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSTLT                      LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKGFH                      RGEK</p>	144	Ab3 HC.1b y Ab3 LC.1
	<p>123456789012345678901234567890</p>		<p>123456789012345678901234567890</p>		

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab51	EVQLVDSGAEVKKFGASVKVSKASGYITF DYHIHWVRQAPGQGLEWIGYIYPNIDGTGY AOKLQGRVTITVDKSTSTAYMELRSLSRDD TAVYICARGDGHVYGDMDYWGQGITVTVSS ASTKGFSPFLAFLAPSSKSTSGTAAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVFSSSLGTQYIICVNHKFS NTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLPPPKPKDITLMLSRTEPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDMLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLITVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	148	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASENIY SYLAWYQQKPKGPKPKLLVYNAKTLAEGVPS RFGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQH HYATPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSLTIT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	145	Ab3 HC.1b y Ab3 LC.1a
	123456789012345678901234567890		123456789012345678901234567890		
Ab52	EVQLVDSGAEVKKFGASVKVSKASGYITF DYHIHWVRQAPGQGLEWIGYIYPNIDGTGY AOKLQGRVTITVDKSTSTAYMELRSLSRDD TAVYICARGDGHVYGDMDYWGQGITVTVSS ASTKGFSPFLAFLAPSSKSTSGTAAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVFSSSLGTQYIICVNHKFS NTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLPPPKPKDITLMLSRTEPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDMLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSREE MTKNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLITVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	148	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASENIY SYLAWYQQKPKGPKPKLLVYNAKTLAEGVPS RFGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQH HYATPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSSLTIT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	146	Ab3 HC.1b y Ab3 LC.1b
	123456789012345678901234567890		123456789012345678901234567890		
Ab53	EVQLVDSGAEVKKFGSSVKVSKASGYITF SYWIHWVRQAPGQGLEWIGRIDPSDYIN NQKFKGRVTITVDKSTSTAYMELSLRSED TAVYICARGFTHWFAWGGQGITVTVSSAS TKGPSVFLAPSSKSTSGTAAALGCLVKDY FPEFVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVFSSSLGTQYIICVNHKPSNT KVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLPPPKPKDITLMLSRTEPEVTCVVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS YRVVSVLTVLHQDMLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMT KNQVSLTCLLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLITVDKSRWQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	153	DVVMTQTPLSLSVTFPGQFASISCRSSQSLV HSGNHTLHWYLOKPGQSPQLLIYKVSHRF SGVPDRFSGSGGTDFTLKISRVAEADYGV YFCQSSTHVPFTFGGQTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	139	Ab4 HC.1b.2 y Ab4 LC.1a

Ab	Secuencia de la cadena pesada	SEQ ID NO de HC:	Secuencia de la cadena ligera	SEQ ID NO:	Secuencias variables
Ab54	<p>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKYSCKAAGYTFIT  SYWIHWRQAFPGQGLLEWIIGLIDPDSYITNY  NOKFKGRATLTVDKSSSTAYMELSSLRSED  TAVYICGRSFTTNWFAYWGQGITLVTVSSAS  TKGPSVFPFLAFPSKSTSGGTAALGCLVKDY  FPEPVTVSWISGALTSGVHTFPAVLQSSGL  YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT  KVDKVEPKGCDKTHCTPCPAPPELLGGFS  VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH  EPEVKFHWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST  YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  APIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSRREMT  KHQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN  NYKTTTTPFLDSDGSEFFLYSKLTIVDKSRWQQ  GHVFSGVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	154	<p>DVVMTQTPLSLSVTFPGQPASISCRFSQSILV  HSNGNTYLHWYLQKRPQQSPQLLIYKVSINRF  SGVPDRFSGSGGIDFTLKISRVEAEDVGV  YFCSSQTHVFTFGGGTKVEIKRTVAAPFSV  FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNHFFPREAK  VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL  SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV  TKSFNRGEC</p>	139	Ab4 HC.1a.3 y Ab4 LC.1a
Ab55	<p>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKYSCKAAGYTFIT  SYWIHWRQAFPGQGLLEWIIGLIDPDSYITNY  NOKFKGRATLTVDKSSSTAYMELSSLRSED  TAVYICGRSFTTNWFAYWGQGITLVTVSSAS  TKGPSVFPFLAFPSKSTSGGTAALGCLVKDY  FPEPVTVSWISGALTSGVHTFPAVLQSSGL  YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT  KVDKVEPKGCDKTHCTPCPAPPELLGGFS  VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSH  EPEVKFHWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST  YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  APIEKTI SAKAGQPREPQVYTLPPSRREMT  KHQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPEN  NYKTTTTPFLDSDGSEFFLYSKLTIVDKSRWQQ  GHVFSGVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	155	<p>DVVMTQTPLSLSVTFPGQPASISCRFSQSILV  HSNGNTYLHWYLQKRPQQSPQLLIYKVSINRF  SGVPDRFSGSGGIDFTLKISRVEAEDVGV  YFCSSQTHVFTFGGGTKVEIKRTVAAPFSV  FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNHFFPREAK  VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSL  SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV  TKSFNRGEC</p>	139	Ab4 HC.1a.2 y Ab4 LC.1a







En un aspecto, la presente divulgación se refiere al anticuerpo Ab48 que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145.

5 En un aspecto, la presente divulgación se refiere al anticuerpo Ab49 que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146.

En un aspecto, la presente divulgación se refiere al anticuerpo Ab50 que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

10 En un aspecto, la presente divulgación se refiere al anticuerpo Ab51 que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145.

15 En un aspecto, la presente divulgación se refiere al anticuerpo Ab52 que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146.

En un aspecto, la presente divulgación se refiere al anticuerpo Ab53 que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

20 En un aspecto, la presente divulgación se refiere al anticuerpo Ab54 que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

En un aspecto, la presente divulgación se refiere al anticuerpo Ab55 que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

25 Las anteriores secuencias de CDR de anticuerpos anti-PRLR aislados establecen una novedosa familia de proteínas de unión a PRLR, aisladas según la presente divulgación, y que comprende polipéptidos que incluyen las secuencias de CDR enumeradas en la Tabla 7a o 7b a continuación. Para generar y para seleccionar CDR de la divulgación que tienen PRLR preferido que se une a y/o neutraliza la actividad con respecto a PRLRh, pueden usarse métodos convencionales conocidos en la técnica para generar proteínas de unión de la presente divulgación y ensamblar el  
30 PRLR que se une a y/o que neutraliza las características de aquella proteína de unión, que incluyen, pero no se limita a, aquellas específicamente descritas en el presente documento.

**TABLA 7a: Ligandos de afinidad por CDR de PRLR consenso basados en anticuerpos murinos** (restos alternativos se enumeran a continuación en cada posición de aminoácido; - indica que el resto puede estar ausente).

región CDR	Identificador de secuencia	Secuencia consenso
CDR-H1	SEQ ID NO.:97	<sup>26</sup> X <sub>1</sub> <sup>27</sup> X <sub>2</sub> <sup>28</sup> X <sub>3</sub> <sup>29</sup> X <sub>4</sub> <sup>30</sup> X <sub>5</sub> <sup>31</sup> X <sub>6</sub> <sup>32</sup> X <sub>7</sub> <sup>33</sup> X <sub>8</sub> <sup>34</sup> X <sub>9</sub> <sup>35</sup> X <sub>10</sub> <sup>35a</sup> X <sub>11</sub> G Y T F T S Y W M H - F S I S D F N I F N T D Y A W
CDR-H2	SEQ ID NO.:98	<sup>50</sup> X <sub>1</sub> <sup>51</sup> X <sub>2</sub> <sup>52</sup> X <sub>3</sub> <sup>52a</sup> X <sub>4</sub> <sup>53</sup> X <sub>5</sub> <sup>54</sup> X <sub>6</sub> <sup>55</sup> X <sub>7</sub> <sup>56</sup> X <sub>8</sub> <sup>57</sup> X <sub>9</sub> <sup>58</sup> X <sub>10</sub> <sup>59</sup> X <sub>11</sub> <sup>60</sup> X <sub>12</sub> <sup>61</sup> X <sub>13</sub> <sup>62</sup> X <sub>14</sub> <sup>63</sup> X <sub>15</sub> <sup>64</sup> X <sub>16</sub> <sup>65</sup> X <sub>17</sub> Y I D P S D G Y T N Y N Q K F K G V F Y N Y N S G S G F P D E L S E S - N G D H A Y P T V D G G S T S S S N R

ES 2 671 506 T3

región CDR	Identificador de secuencia	Secuencia consenso
CDR-H3	SEQ ID NO.:99	<sup>95</sup> X <sub>1</sub> <sup>96</sup> X <sub>2</sub> <sup>97</sup> X <sub>3</sub> <sup>98</sup> X <sub>4</sub> <sup>99</sup> X <sub>5</sub> <sup>100</sup> X <sub>6</sub> <sup>100a</sup> X <sub>7</sub> <sup>100b</sup> X <sub>8</sub> <sup>100c</sup> X <sub>9</sub> <sup>100d</sup> X <sub>10</sub> <sup>100e</sup> X <sub>11</sub> <sup>101</sup> X <sub>12</sub> <sup>102</sup> X <sub>13</sub> G D G S Y W F - - - D Y S F F N N V G D M A M T N G Y T G P A W F A Q L W L I G Y A G S G M Y S R G Y - - A
CDR-L1	SEQ ID NO.:100	<sup>94</sup> X <sub>1</sub> <sup>95</sup> X <sub>2</sub> <sup>96</sup> X <sub>3</sub> <sup>97</sup> X <sub>4</sub> <sup>97a</sup> X <sub>5</sub> <sup>97b</sup> X <sub>6</sub> <sup>97c</sup> X <sub>7</sub> <sup>98</sup> X <sub>8</sub> <sup>99</sup> X <sub>9</sub> <sup>100</sup> X <sub>10</sub> <sup>101</sup> X <sub>11</sub> <sup>102</sup> X <sub>12</sub> <sup>103</sup> X <sub>13</sub> <sup>104</sup> X <sub>14</sub> <sup>105</sup> X <sub>15</sub> <sup>106</sup> X <sub>16</sub> R A S Q - - - - N G N T Y L H K S E S L V H S Y I Y S A V A S S R I - V G M T S V E
CDR-L2	SEQ ID NO.:101	<sup>50</sup> X <sub>1</sub> <sup>51</sup> X <sub>2</sub> <sup>52</sup> X <sub>3</sub> <sup>53</sup> X <sub>4</sub> <sup>54</sup> X <sub>5</sub> <sup>55</sup> X <sub>6</sub> <sup>56</sup> X <sub>7</sub> K A S N R F S N V K T L A E S T Y T L S
CDR-L3	SEQ ID NO.:102	<sup>93</sup> X <sub>1</sub> <sup>94</sup> X <sub>2</sub> <sup>95</sup> X <sub>3</sub> <sup>96</sup> X <sub>4</sub> <sup>97</sup> X <sub>5</sub> <sup>98</sup> X <sub>6</sub> <sup>99</sup> X <sub>7</sub> <sup>100</sup> X <sub>8</sub> <sup>101</sup> X <sub>9</sub> <sup>102</sup> X <sub>10</sub> Q Q S S H V P - F T S H H T S T P W F G Y A Y L Y G W V
Nota: Excepto para CDR-H1, CDR y la posición de restos se definen por Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición. Publicación de NIH N.º 91-3242. Para CDR-H1 están incluidos los restos 26 a 30.		

**TABLA 7b: Ligandos de afinidad por CDR de PRLR consenso basados en anticuerpos murinos y humanizados** (restos alternativos se enumeran a continuación en cada posición de aminoácido; - indica que el resto puede estar ausente).

región CDR	Identificador de secuencia	Secuencia consenso
CDR-H1	SEQ ID NO.: 151	<sup>26</sup> X <sub>1</sub> <sup>27</sup> X <sub>2</sub> <sup>28</sup> X <sub>3</sub> <sup>29</sup> X <sub>4</sub> <sup>30</sup> X <sub>5</sub> <sup>31</sup> X <sub>6</sub> <sup>32</sup> X <sub>7</sub> <sup>33</sup> X <sub>8</sub> <sup>34</sup> X <sub>9</sub> <sup>35</sup> X <sub>10</sub> <sup>35a</sup> X <sub>11</sub> G Y T F T S Y W M H - F S I S D F N I F N G T D Y A W
CDR-H2	SEQ ID NO.: 152	<sup>50</sup> X <sub>1</sub> <sup>51</sup> X <sub>2</sub> <sup>52</sup> X <sub>3</sub> <sup>52a</sup> X <sub>4</sub> <sup>53</sup> X <sub>5</sub> <sup>54</sup> X <sub>6</sub> <sup>55</sup> X <sub>7</sub> <sup>56</sup> X <sub>8</sub> <sup>57</sup> X <sub>9</sub> <sup>58</sup> X <sub>10</sub> <sup>59</sup> X <sub>11</sub> <sup>60</sup> X <sub>12</sub> <sup>61</sup> X <sub>13</sub> <sup>62</sup> X <sub>14</sub> <sup>63</sup> X <sub>15</sub> <sup>64</sup> X <sub>16</sub> <sup>65</sup> X <sub>17</sub> Y I D P S D G Y T N Y N Q K F K G V F Y N Y N S G S G F P D E L Q S E S - N G D H A Y A P T V D G G S T S S S N R

región CDR	Identificador de secuencia	Secuencia consenso																																																																																																								
CDR-H3	SEQ ID NO.: 99	<table border="0"> <tr> <td>X<sub>1</sub></td><td>X<sub>2</sub></td><td>X<sub>3</sub></td><td>X<sub>4</sub></td><td>X<sub>5</sub></td><td>X<sub>6</sub></td><td>X<sub>7</sub></td><td>X<sub>8</sub></td><td>X<sub>9</sub></td><td>X<sub>10</sub></td><td>X<sub>11</sub></td><td>X<sub>12</sub></td><td>X<sub>13</sub></td> </tr> <tr> <td>G</td><td>D</td><td>G</td><td>S</td><td>Y</td><td>W</td><td>F</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>D</td><td>Y</td> </tr> <tr> <td>S</td><td>F</td><td>F</td><td>N</td><td>N</td><td>V</td><td>G</td><td>D</td><td>M</td><td>A</td><td>M</td><td>T</td><td></td> </tr> <tr> <td>N</td><td>G</td><td>Y</td><td>T</td><td>G</td><td>P</td><td>A</td><td>W</td><td>F</td><td></td><td></td><td>A</td><td></td> </tr> <tr> <td>Q</td><td>L</td><td>W</td><td>L</td><td>I</td><td>G</td><td>Y</td><td>A</td><td>G</td><td></td><td></td><td>S</td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td>G</td><td>M</td><td>Y</td><td>S</td><td>R</td><td></td><td></td><td></td><td>G</td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td>Y</td><td>-</td><td>-</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td>A</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	X <sub>13</sub>	G	D	G	S	Y	W	F	-	-	-	-	D	Y	S	F	F	N	N	V	G	D	M	A	M	T		N	G	Y	T	G	P	A	W	F			A		Q	L	W	L	I	G	Y	A	G			S					G	M	Y	S	R				G					Y	-	-											A									
X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	X <sub>13</sub>																																																																																														
G	D	G	S	Y	W	F	-	-	-	-	D	Y																																																																																														
S	F	F	N	N	V	G	D	M	A	M	T																																																																																															
N	G	Y	T	G	P	A	W	F			A																																																																																															
Q	L	W	L	I	G	Y	A	G			S																																																																																															
			G	M	Y	S	R				G																																																																																															
			Y	-	-																																																																																																					
			A																																																																																																							
CDR-L1	SEQ ID NO.: 100	<table border="0"> <tr> <td>X<sub>1</sub></td><td>X<sub>2</sub></td><td>X<sub>3</sub></td><td>X<sub>4</sub></td><td>X<sub>5</sub></td><td>X<sub>6</sub></td><td>X<sub>7</sub></td><td>X<sub>8</sub></td><td>X<sub>9</sub></td><td>X<sub>10</sub></td><td>X<sub>11</sub></td><td>X<sub>12</sub></td><td>X<sub>13</sub></td><td>X<sub>14</sub></td><td>X<sub>15</sub></td><td>X<sub>16</sub></td> </tr> <tr> <td>R</td><td>A</td><td>S</td><td>Q</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>N</td><td>G</td><td>N</td><td>T</td><td>Y</td><td>L</td><td>H</td><td></td> </tr> <tr> <td>K</td><td>S</td><td></td><td>E</td><td>S</td><td>L</td><td>V</td><td>H</td><td>S</td><td>Y</td><td>I</td><td>Y</td><td>S</td><td>A</td><td>V</td><td>A</td> </tr> <tr> <td>S</td><td></td><td></td><td>S</td><td>R</td><td>I</td><td></td><td></td><td></td><td>-</td><td>V</td><td>G</td><td></td><td></td><td>M</td><td>T</td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>S</td><td>V</td><td></td><td></td><td></td><td>E</td> </tr> </table>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	X <sub>13</sub>	X <sub>14</sub>	X <sub>15</sub>	X <sub>16</sub>	R	A	S	Q	-	-	-	-	N	G	N	T	Y	L	H		K	S		E	S	L	V	H	S	Y	I	Y	S	A	V	A	S			S	R	I				-	V	G			M	T											S	V				E																								
X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	X <sub>13</sub>	X <sub>14</sub>	X <sub>15</sub>	X <sub>16</sub>																																																																																											
R	A	S	Q	-	-	-	-	N	G	N	T	Y	L	H																																																																																												
K	S		E	S	L	V	H	S	Y	I	Y	S	A	V	A																																																																																											
S			S	R	I				-	V	G			M	T																																																																																											
										S	V				E																																																																																											
CDR-L2	SEQ ID NO.: 101	<table border="0"> <tr> <td>X<sub>1</sub></td><td>X<sub>2</sub></td><td>X<sub>3</sub></td><td>X<sub>4</sub></td><td>X<sub>5</sub></td><td>X<sub>6</sub></td><td>X<sub>7</sub></td> </tr> <tr> <td>K</td><td>A</td><td>S</td><td>N</td><td>R</td><td>F</td><td>S</td> </tr> <tr> <td>N</td><td>V</td><td>K</td><td>T</td><td>L</td><td>A</td><td>E</td> </tr> <tr> <td>S</td><td>T</td><td></td><td></td><td>Y</td><td>T</td><td></td> </tr> <tr> <td>L</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>S</td><td></td> </tr> </table>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	K	A	S	N	R	F	S	N	V	K	T	L	A	E	S	T			Y	T		L					S																																																																						
X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>																																																																																																				
K	A	S	N	R	F	S																																																																																																				
N	V	K	T	L	A	E																																																																																																				
S	T			Y	T																																																																																																					
L					S																																																																																																					
CDR-L3	SEQ ID NO.: 102	<table border="0"> <tr> <td>X<sub>1</sub></td><td>X<sub>2</sub></td><td>X<sub>3</sub></td><td>X<sub>4</sub></td><td>X<sub>5</sub></td><td>X<sub>6</sub></td><td>X<sub>7</sub></td><td>X<sub>8</sub></td><td>X<sub>9</sub></td><td>X<sub>10</sub></td> </tr> <tr> <td>Q</td><td>Q</td><td>S</td><td>S</td><td>H</td><td>V</td><td>P</td><td>-</td><td>F</td><td>T</td> </tr> <tr> <td>S</td><td>H</td><td>H</td><td>T</td><td>S</td><td>T</td><td></td><td>P</td><td>W</td><td></td> </tr> <tr> <td>F</td><td></td><td>G</td><td>Y</td><td>A</td><td>Y</td><td></td><td></td><td>L</td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td>Y</td><td></td><td>G</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td>W</td><td></td><td>V</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	Q	Q	S	S	H	V	P	-	F	T	S	H	H	T	S	T		P	W		F		G	Y	A	Y			L				Y		G								W		V																																																	
X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>																																																																																																	
Q	Q	S	S	H	V	P	-	F	T																																																																																																	
S	H	H	T	S	T		P	W																																																																																																		
F		G	Y	A	Y			L																																																																																																		
		Y		G																																																																																																						
		W		V																																																																																																						

Nota: Excepto para CDR-H1, CDR y la posición de restos se definen por Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición. Publicación de NIH N.º 91-3242. Para CDR-H1 están incluidos los restos 26 a 30.

**2. Anticuerpos quiméricos anti-PRLR**

Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes porciones del anticuerpo derivan de diferentes especies de animal, tales como anticuerpos que tienen una región variable derivada de un anticuerpo monoclonal murino y una región constante de inmunoglobulina humana. Métodos de producción de anticuerpos quiméricos se conocen en la técnica. Véanse, por ejemplo, Morrison, Science 229:1202 (1985); Oi et al., BioTechniques 4:214 (1986); Gillies et al., (1989) J. Immunol. Methods 125:191-202; las patentes de EE.UU. N.º 5.807.715; 4.816.567; y 4.816.397. Además, pueden usarse técnicas desarrolladas para la producción de "anticuerpos quiméricos" (Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. 81:851-855; Neuberger et al., 1984, Nature 312:604-608; Takeda et al., 1985, Nature 314:452-454) por corte y empalme de genes de una molécula de anticuerpo de ratón de especificidad apropiada por antígenos junto con genes de una molécula de anticuerpo humano de actividad biológica apropiada.

En un aspecto específico, el anticuerpo quimérico de la divulgación comprende una región variable de la cadena pesada (V<sub>H</sub>) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 112; SEQ ID NO: 113; SEQ ID NO: 114; SEQ ID NO: 115; SEQ ID NO: 116; SEQ ID NO: 117; SEQ ID NO: 118; SEQ ID NO: 119 o SEQ ID NO: 120 y una región variable de la cadena ligera (V<sub>L</sub>) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103; SEQ ID NO: 104; SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107; SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 109; SEQ ID NO: 110 o SEQ ID NO: 111 expuesta en la Tabla 8 a continuación.

**TABLA 8: Secuencias de cadena variable del anticuerpo anti-PRLR murino**

Región de proteína	Identificador de secuencia	Secuencia variable
Cadena ligera variable de Ab5	SEQ ID NO.:103	DVVMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQRLVHNSGNTYLVHWYLQKPGQS PKLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDLGVYFCSQS THVPWTFGGGTKLEIK

ES 2 671 506 T3

Región de proteína	Identificador de secuencia	Secuencia variable
Cadena ligera variable de Ab6	SEQ ID NO.:104	DIVMTQSQKFMSTTVGDRVSITCKASQYVGTAVAWYQQKPGQSPKLLI YSASNRYTGVDPDRFTDSGSGTDFTLTISNLQSEDLADYFCQQYSSYPW TFGGGTKLEIK
Cadena ligera variable de Ab7	SEQ ID NO.:105	DVVMTQTPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQS PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKINRVEAEDLGVYFCSQS THVPFTFGSGTKLEIK
Cadena ligera variable de Ab8	SEQ ID NO.:106	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQKPKPQLLV YNAKTLAEGVPSRFSGGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYQCQHHYATPF TFGSGTKLEIK
Cadena ligera variable de Ab9	SEQ ID NO.:107	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQKSPQLLV YNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYQCQHHSPTF TFGSGTKLEIK
Cadena ligera variable de Ab10	SEQ ID NO.:108	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLTWYQQKQKSPQLLV YNAKTLAEGVPSRFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYHCQHHSVTP TFGAGTKLEIK
Cadena ligera variable de Ab11	SEQ ID NO.:109	DVLMQTPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQS PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQG SHVPFTFGSGTKLEIK
Cadena ligera variable de Ab12	SEQ ID NO.:110	QIVLTQSPGIMSASPGKVTMTCSASSSVTYMYWYQQKPRSSPKPWIY LTSNLAGVPSRFSGSGSGTYSYSLTISSEAEADGATYYCQQWSSTPPL TFGGGTKLELN
Cadena ligera variable de Ab13	SEQ ID NO.:111	DVVMTQTPFSLPVSLGDAQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQS PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLELYFCSQS THVPWTFGGGTKLEIK
Cadena pesada variable de Ab5	SEQ ID NO.:112	QVQLQQPGAELVLRPGTSVKLSCKASGYTFTSFWMHVVKQRPGQGLEWI GVIDPSDYTNYNQKFKGKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC ARGDYSNWFTYWGQGLVTVSA
Cadena pesada variable de Ab6	SEQ ID NO.:113	QVQLQQPGAELVMPGSSVKLSCKASGYTFTTYMHVVKQRPGQGLEWI GEIDPSDSYNYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC ARNGGLGPAWFSYWGQGLVTVSA
Cadena pesada variable de Ab7	SEQ ID NO.:114	QVQLQQPGAELVMPGTSVKLSCKASGYTFTSYWIHVKQRPGQGLEWI GEIDPSDSYNYNQKFKGKATLTVDRSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC GRSFFTNWFAYWGQGLVTVSA
Cadena pesada variable de Ab8	SEQ ID NO.:115	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNHVKQSHGKSLEWI GYIYPNNDGTGYNQKFKSKATLTVDNSSSTAYMEVRSLSLTSSEDSAVYYC ARGDGNVGDMDYWGQTSVTVSS
Cadena pesada variable de Ab9	SEQ ID NO.:116	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYNMHVVKQSHGKSLEWI GYIYPYNGGAGYNQKFKSKATMNVGISSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC ARGDGNVGDMDYWGQTSVTVSS
Cadena pesada variable de Ab10	SEQ ID NO.:117	EVQLHQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMHVVKQSHGKSLEWI GYFYYPNGGTGYNQEFKSKATLTVDISSTAYMELRRLTSEDSAVYYC ARGGWGIYAMDYWGQTSVTVSS
Cadena pesada variable de Ab11	SEQ ID NO.:118	EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSDYYMFVVRQTPEKSLVWV AYISNGGGSTYYPDTVKGRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYC SRQLFFYYSRGMGYWGQTSVTVSS
Cadena pesada variable de Ab12	SEQ ID NO.:119	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWRQFPGNKLEW MGYIGYSGRTSFNPSLKSRISTRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYC ARGGFAMDYWGQTSVTVSS
Cadena pesada variable de Ab13	SEQ ID NO.:120	QVQLQQPGAELVLRPGTSVKLSCKASGYTFTSFWMHVVKQRPGQGLEWI GVIDPSDSHTNYNQKFKGKATLTVNTSSSTAYMHLSSLTSEDSAVYYC ARGDYSNWFTYWGQGLVTVSA



SEQ ID NO: 10, la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 110 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera constante expuesta en SEQ ID NO: 12.

Como se usa en el presente documento, el término "Ab13" se refiere a un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 120 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 111. Como se usa en el presente documento, el término "chAb13" se refiere a un anticuerpo quimérico que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 120, la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada constante expuesta en SEQ ID NO: 10, la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 111 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera constante expuesta en SEQ ID NO: 12.

### 10 3. Generación de anticuerpos humanizados anti-PRLR

Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpo de especie no humana que se une al antígeno deseado que tiene una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de la especie no humana y regiones estructurales de una molécula de inmunoglobulina humana. Se desvelan secuencias de Ig humanas conocidas, por ejemplo, [www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi); [www.atcc.org/phage/hdb.html](http://www.atcc.org/phage/hdb.html); [www.sciquest.com/](http://www.sciquest.com/); [www.abcam.com/](http://www.abcam.com/); [www.antibodyresource.com/onlinecomp.html](http://www.antibodyresource.com/onlinecomp.html); [www.public.iastate.edu/.about.pedro/research\\_tools.html](http://www.public.iastate.edu/.about.pedro/research_tools.html); [www.mgen.uni-heidelberg.de/SD/IT/IT.html](http://www.mgen.uni-heidelberg.de/SD/IT/IT.html); [www.whfreeman.com/immunology/CH-05/kuby05.htm](http://www.whfreeman.com/immunology/CH-05/kuby05.htm); [www.library.thinkquest.org/12429/Immune/Antibody.html](http://www.library.thinkquest.org/12429/Immune/Antibody.html); [www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab/](http://www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab/); [www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/mikeimages.html](http://www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/mikeimages.html); [www.antibodyresource.com/](http://www.antibodyresource.com/); [mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html](http://mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html); [www.immunologylink.com/](http://www.immunologylink.com/); [pathbox.wustl.edu/.about.hcenter/index.html](http://pathbox.wustl.edu/.about.hcenter/index.html); [www.biotech.ufl.edu/.about.hcl/](http://www.biotech.ufl.edu/.about.hcl/); [www.pebio.com/pa/340913/340913.html](http://www.pebio.com/pa/340913/340913.html); [www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody/](http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody/); [www.m.ehimeu.ac.jp/.about.yasuhito-/Elisa.html](http://www.m.ehimeu.ac.jp/.about.yasuhito-/Elisa.html); [www.biodesign.com/table.asp](http://www.biodesign.com/table.asp); [www.icnet.uk/axp/facs/davies/links.html](http://www.icnet.uk/axp/facs/davies/links.html); [www.isac-net.org/sites\\_geo.html](http://www.isac-net.org/sites_geo.html); [aximtl.imt.marburg.de/.about.rek/AEP-Start.html](http://aximtl.imt.marburg.de/.about.rek/AEP-Start.html); [baserv.uci.kun.nl/.about.jraats/linksl.html](http://baserv.uci.kun.nl/.about.jraats/linksl.html); [www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu/](http://www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu/); [www.mrc-cpe.cam.ac.uk/imt-doc/public/INTRO.html](http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/imt-doc/public/INTRO.html); [www.ibt.unam.mx/vir/V\\_mice.html](http://www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html); [imgt.cnusc.fr:8104/](http://imgt.cnusc.fr:8104/); [www.biochem.ucl.ac.uk/.about.martin/abs/index.html](http://www.biochem.ucl.ac.uk/.about.martin/abs/index.html); [antibody.bath.ac.uk/](http://antibody.bath.ac.uk/); [abgen.cvm.tamu.edu/lab/wwwabgen.html](http://abgen.cvm.tamu.edu/lab/wwwabgen.html); [www.unizh.ch/.about.honegger/AHOseminar/Slide01.html](http://www.unizh.ch/.about.honegger/AHOseminar/Slide01.html); [www.cryst.bbk.ac.uk/.about.ubcg07s/](http://www.cryst.bbk.ac.uk/.about.ubcg07s/); [www.nimr.mrc.ac.uk/CC/caawwg/caawwg.html](http://www.nimr.mrc.ac.uk/CC/caawwg/caawwg.html); [www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/h-umanisation/TAHHP.html](http://www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/h-umanisation/TAHHP.html); [www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat\\_aim.html](http://www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html); [www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html](http://www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html); [www.cryst.bioc.cam.ac.uk/.about-ut.fmolina/Webpages/Pept/spottech.html](http://www.cryst.bioc.cam.ac.uk/.about-ut.fmolina/Webpages/Pept/spottech.html); [www.jerini.de/fr/roducts.htm](http://www.jerini.de/fr/roducts.htm); [www.patents.ibm.com/ibm.html](http://www.patents.ibm.com/ibm.html). Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health (1983). Tales secuencias importadas pueden usarse para reducir la inmunogenicidad o reducir, potenciar o modificar la unión, afinidad, velocidad de asociación, velocidad de disociación, avidez, especificidad, semividua, o cualquier otra característica adecuada, como se conoce en la técnica.

Restos de la región estructural en las regiones estructurales humanas pueden estar sustituidos con el resto correspondiente del anticuerpo donante de CDR para alterar, preferentemente mejorar, la unión al antígeno. Estas sustituciones de la región estructural se identifican por métodos muy conocidos en la técnica, por ejemplo, por modelado de las interacciones de los restos de CDR y de la región estructural para identificar restos de la región estructural importantes para la unión al antígeno y comparación de secuencias para identificar restos poco usuales de la región estructural en las posiciones particulares (véase, por ejemplo, Queen et al., patente de EE.UU. N.º 5.585.089; Riechmann et al., Nature 332:323 (1988).) Comúnmente están disponibles modelos de inmunoglobulina tridimensionales y son conocidos para aquellos expertos en la materia. Están disponibles programas informáticos que ilustran y muestran las probables estructuras conformacionales tridimensionales de secuencias de inmunoglobulina candidatas seleccionadas. La inspección de estas presentaciones permite el análisis de la probable función de los restos en el funcionamiento de la secuencia de inmunoglobulina candidata, es decir, el análisis de restos que influyen en la capacidad de la inmunoglobulina candidata para unirse a su antígeno. De esta forma, pueden seleccionarse restos de FR y combinarse de las secuencias consenso e importadas de manera que se logre la característica del anticuerpo deseado, tal como la elevada afinidad por el (los) antígeno(s) diana(s). En general, los restos de CDR están directamente y casi sustancialmente implicados en influir en la unión al antígeno. Los anticuerpos pueden humanizarse usando una variedad de técnicas conocidas en la técnica, tales como, pero no se limitan a, aquellas descritas en Jones et al., Nature 321:522 (1986); Verhoeyen et al., Science 239:1534 (1988), Sims et al., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151:2623 (1993), Padlan, Molecular Immunology 28(4/5):489-498 (1991); Studnicka et al., Protein Engineering 7(6):805-814 (1994); Roguska. et al., PNAS 91:969-973 (1994); publicación PCT WO 91/09967, PCT:US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246, EP 592.106; EP 519.596, EP 239.400, patentes de EE.UU. N.º 5.565.332, 5.723.323, 5.976.862, 5.824.514, 5.817.483, 5.814.476, 5.763.192, 5.723.323, 5.766.886, 5.714.352, 6.204.023, 6.180.370, 5.693.762, 5.530.101, 5.585.089, 5.225.539; 4.816.567.

Ejemplos de anticuerpos anti-PRLR humanizados se proporcionan en la Sección 1, anteriormente.

#### 4. Anticuerpos competitivos adicionales

El término "anticuerpos competitivos" en el presente documento se refiere a cualquier número de anticuerpos que se dirige a la misma entidad molecular o supermolecular establemente pero no covalentemente unida, preferentemente la misma molécula, es decir, PRLR, en la que al menos uno es capaz de reducir específicamente la unión medible de otro, preferentemente impidiendo estéricamente el acceso del otro a su epítotope diana o induciendo y/o estabilizando una conformación en la entidad diana que reduce la afinidad de la diana por el otro anticuerpo, más preferentemente bloqueando directamente el acceso al otro epítotope diana por unión a un epítotope que se une a un epítotope en vecindad suficientemente próxima del primero, solapando con el primero o idéntico al primero, lo más preferentemente solapando o idéntico, en particular idéntico. Se dice que dos epítotopes en el presente documento están "solapándose" si comparten parte de sus estructuras químicas, preferentemente sus secuencias de aminoácidos, y son "idénticos" si sus estructuras químicas, preferentemente sus secuencias de aminoácidos, son idénticas.

En aspectos particulares, el anticuerpo competitivo, o porción de unión al antígeno del mismo, es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, que compite con Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, chAb5, Ab6, chAb6, Ab7, chAb7, Ab8, chAb8, Ab9, chAb9, Ab10, chAb10, Ab11, chAb11, Ab12, chAb12, Ab13, chAb13, Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20, Ab21, Ab22, Ab23, Ab24, Ab25, Ab26, Ab27, Ab28, Ab29, Ab30, Ab31, Ab32, Ab33, Ab34, Ab35, Ab36, Ab37, Ab38, Ab39, Ab40, Ab41, Ab42, Ab43, Ab44, Ab45, Ab46, Ab47, Ab48, Ab49, Ab50, Ab51, Ab52, Ab53, Ab54 or Ab55. En diversos aspectos, la unión puede ensayarse según el protocolo expuesto en el Ejemplo 4.

En un aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab1, es decir, que comprende (i) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 y SEQ ID NO: 45; y (ii) una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 54.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab2, es decir, que comprende (i) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60 y SEQ ID NO: 61; y (ii) una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 69.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab3, es decir, que comprende (i) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 70; SEQ ID NO: 74; SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 76; y (ii) una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82 y SEQ ID NO: 83.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab4, es decir, que comprende (i) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122 y SEQ ID NO: 123; y (ii) una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 95 y SEQ ID NO: 96.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab5, es decir, que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 112 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 103.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab6, es decir, la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 113 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 104.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab7, es decir, que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 114 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 105.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab8, es decir, que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 115 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 106.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab9, es decir, que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 116 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 107.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab10, es decir, que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 117 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 108.







En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab45, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145.

5 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab46, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab47, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

10 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab48, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145.

15 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab49, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab50, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

20 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab51, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab52, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146.

25 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab53, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

30 En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab54, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

En otro aspecto, la divulgación se refiere a un anticuerpo que compite con Ab55, es decir, que comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

35 En un aspecto particular, la presente divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, que compite con un anticuerpo que comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera seleccionados del grupo que consiste en:

40 (1) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 y SEQ ID NO: 45; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 y SEQ ID NO: 54;

(2) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60 y SEQ ID NO: 61; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 69;

45 (3) una cadena pesada variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; SEQ ID NO: 90; SEQ ID NO: 121; SEQ ID NO: 122; y SEQ ID NO: 123; y una cadena ligera variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 95 y SEQ ID NO: 96;

50 (4) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 112 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 103;

(5) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 113 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 104;

(6) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 114 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 105; y

(7) la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 120 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 111.

5 En otro particular aspecto, la presente divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, que compite con un anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada variable expuesta en SEQ ID NO: 119 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera variable expuesta en SEQ ID NO: 110.

### 5. Epítopes de PRLR

10 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o todos de los restos de aminoácidos E8, F10, C12, R25, E43, G44, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, Y99, I100, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO:2. En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende al menos cinco de los restos de aminoácidos. En otro aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende todos de los restos de aminoácidos E8, F10, C12, R25, E43, G44, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, Y99, I100, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO:2.

15 En un aspecto particular, la proteína de unión que se une a dicho epítotope es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab6, chAb6, Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20, Ab21, Ab22, Ab23, Ab24, y Ab25.

20 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o todos de los restos de aminoácidos E8, I9, F10, K11, C12, R25, E43, G44, W72, T74, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, T98, Y99, I100, W139, L143, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO:2. En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende al menos cinco de los restos de aminoácidos. En otro aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende todos de los restos de aminoácidos E8, I9, F10, K11, C12, R25, E43, G44, W72, T74, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, T98, Y99, I100, W139, L143, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO:2.

25 En un aspecto particular, la proteína de unión que se une a dicho epítotope es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab4, Ab7, chAb7, Ab35, Ab36, Ab37, Ab38, Ab39, Ab40, Ab41, Ab42, Ab43, Ab53, Ab54 y Ab55. En otro aspecto, la proteína de unión que se une a dicho epítotope es un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab2, Ab5, chAb5, Ab26, Ab27, Ab28, Ab29, Ab30, Ab31, Ab32, Ab33 y Ab34.

30 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 o todos de los restos de aminoácidos R25, T141, L143, E145, R147, E155, W156, E157, I158, H159, F160, A161, G162, Q163, Q164, F167, S171, R183, K185, D187, H188, W191, y W194 de SEQ ID NO:2. En un aspecto, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende al menos 15 de los restos de aminoácidos. En algunos aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende todos de los restos de aminoácidos R25, T141, L143, E145, R147, E155, W156, E157, I158, H159, F160, A161, G162, Q163, Q164, F167, S171, R183, K185, D187, H188, W191, y W194 de SEQ ID NO:2.

35 En un aspecto particular, la proteína de unión que se une a dicho epítotope es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab3, Ab8, Ab44, Ab45, Ab46, Ab47, Ab48, Ab49, Ab50, Ab51 y Ab52.

40 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende al menos uno, dos, tres, cuatro o todos de los restos de aminoácidos R25, K185, D187, H188 o W191 de SEQ ID NO: 2. En algunos aspectos, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR, se une a un epítotope, en el que el epítotope comprende todos de los restos de aminoácidos R25, K185, D187, H188 o W191 de SEQ ID NO: 2.

45 En un aspecto particular, la proteína de unión que se une a dicho epítotope es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, chAb5, Ab6, chAb6, Ab7, chAb7, Ab8, chAb8, Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20, Ab21, Ab22, Ab23, Ab24, Ab25, Ab26, Ab27,

Ab28, Ab29, Ab30, Ab31, Ab32, Ab33, Ab34, Ab35, Ab36, Ab37, Ab38, Ab39, Ab40, Ab41, Ab42, Ab43, Ab44, Ab45, Ab46, Ab47, Ab48, Ab49, Ab50, Ab51, Ab52, Ab53, Ab54 y Ab55.

5 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope en PRLR que comprende los aminoácidos 91-96 de SEQ ID NO: 2.

10 En un aspecto particular, la proteína de unión que se une a dicho epítotope es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab4, Ab6, Ab7, chAb6, chAb7, Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20, Ab21, Ab22, Ab23, Ab24, Ab25, Ab35, Ab36, Ab37, Ab38, Ab39, Ab40, Ab41, Ab42, Ab43, Ab53, Ab54 y Ab55. En otro aspecto, la proteína de unión que se une a dicho epítotope es un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab2, Ab5, chAb5, Ab26, Ab27, Ab28, Ab29, Ab30, Ab31, Ab32, Ab33 y Ab34.

15 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR que se une a un epítotope que tiene restos dentro de al menos los aminoácidos 8-100, 185-191, 8-143, o 183-194 de SEQ ID NO: 2. En un aspecto particular, la proteína de unión que se une a dicho epítotope es un anticuerpo, o porción de unión al antígeno del mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, chAb5, Ab6, chAb6, Ab7, chAb7, Ab8, chAb8, Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20, Ab21, Ab22, Ab23, Ab24, Ab25, Ab26, Ab27, Ab28, Ab29, Ab30, Ab31, Ab32, Ab33, Ab34, Ab35, Ab36, Ab37, Ab38, Ab39, Ab40, Ab41, Ab42, Ab43, Ab44, Ab45, Ab46, Ab47, Ab48, Ab49, Ab50, Ab51, Ab52, Ab53, Ab54 y Ab55.

20 En otro aspecto, la divulgación se refiere a una proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, capaz de unirse a PRLR y que tiene la misma especificidad epitópica que un anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, seleccionado del grupo que consiste en Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, chAb5, Ab6, chAb6, Ab7, chAb7, Ab8, chAb8, Ab9, chAb9, Ab10, chAb10, Ab11, chAb11, Ab12, chAb12, Ab13, chAb13, Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20, Ab21, Ab22, Ab23, Ab24, Ab25, Ab26, Ab27, Ab28, Ab29, Ab30, Ab31, Ab32, Ab33, Ab34, Ab35, Ab36, Ab37, Ab38, Ab39, Ab40, Ab41, Ab42, Ab43, Ab44, Ab45, Ab46, Ab47, Ab48, Ab49, Ab50, Ab51, Ab52, Ab53, Ab54 y Ab55.

30 En diversos aspectos de los aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es capaz de modular una función biológica de PRLR. En otros aspectos de los aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, es capaz de neutralizar PRLR. En otros aspectos de los aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, se une a un epítotope de PRLR que no inhibe la dimerización de PRLR. En aspectos adicionales de los aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, no se une al dominio D2 de PRLR. En aspectos adicionales de los aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, se une a la región de unión al ligando del dominio D1 de PRLR. En aspectos adicionales de los aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, no compete con el anticuerpo LFA102 por la unión de PRLR. En aspectos adicionales de los aspectos anteriores, la proteína de unión, por ejemplo, anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, bloquea la unión de la prolactina a PRLR.

### C. Producción de anticuerpos y líneas celulares productoras de anticuerpos

40 Preferentemente, los anticuerpos anti-PRLR de la presente invención presentan una alta capacidad para reducir o para neutralizar la actividad de PRLR, por ejemplo, como se evalúa por uno cualquiera de varios ensayos *in vitro* e *in vivo* conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede medirse la inhibición de la fosforilación de PRLR, pSTAT5 o ERK1/2 en una línea celular que expresa PRLR, por ejemplo, la línea celular de carcinoma de mama humano T47D. Alternativamente, puede medirse la inhibición de la proliferación de líneas celulares que expresan PRLR, por ejemplo, células linfoides pro-B Baf3 transfectadas con PRLR humano, o células de linfoma de rata Nb2-11. En aspectos preferidos, el anticuerpo aislado, o porción de unión al antígeno del mismo, se une a PRLR humano, en el que el anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, se disocia de PRLR humano con una constante de la velocidad  $k_{dis}$  de aproximadamente  $0,1 \text{ s}^{-1}$  o menos, como se ha determinado por resonancia de plasmones superficiales, o que inhibe la actividad de PRLR humano con una  $CI_{50}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  o menos. Alternativamente, el anticuerpo, o una porción de unión al antígeno del mismo, puede disociarse de PRLR humano con una constante de la velocidad  $k_{dis}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  o menos, como se ha determinado por resonancia de plasmones superficiales, o puede inhibir la actividad de PRLR humano con una  $CI_{50}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-7} \text{ M}$  o menos. Alternativamente, el anticuerpo, o una porción de unión al antígeno del mismo, puede disociarse de PRLR humano con una constante de la velocidad  $k_{dis}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  o menos, como se ha determinado por resonancia de plasmones superficiales, o puede inhibir PRLR humano con una  $CI_{50}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-8} \text{ M}$  o menos. Alternativamente, el anticuerpo, o una porción de unión al antígeno del mismo, puede disociarse de PRLR humano con una constante de la velocidad  $k_{dis}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  o menos, como se ha determinado por resonancia de plasmones superficiales, o puede inhibir la actividad de PRLR con una  $CI_{50}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-9} \text{ M}$  o menos. Alternativamente, el anticuerpo, o una porción de unión al antígeno del mismo, puede disociarse de PRLR humano con una constante de la velocidad  $k_{dis}$  de

aproximadamente  $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  o menos, como se ha determinado por resonancia de plasmones superficiales, o puede inhibir PRLR con una  $\text{CI}_{50}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-10} \text{ M}$  o menos. Alternativamente, el anticuerpo, o una porción de unión al antígeno del mismo, puede disociarse de PRLR humano con una constante de la velocidad  $k_{\text{dis}}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  o menos, como se ha determinado por resonancia de plasmones superficiales, o puede inhibir la actividad de PRLR con una  $\text{CI}_{50}$  de aproximadamente  $1 \times 10^{-11} \text{ M}$  o menos.

La prolactina se une a PRLR e induce la homodimerización. PRLR no tiene actividad de cinasa intrínseca, pero está asociado a proteínas cinasas tales como FYN y JAK2 (Kline, J.B., et al. (1999) J. Biol. Chem. 274:35461-35468). La unión de prolactina activa el transductor de señales y el activador de la transcripción-5 (STAT5) mediante JAK2 y la cinasa-1 y -2 relacionada con la señal extracelular (ERK1 y ERK2) (Huang, Y., et al., (2006) Oncogene 25:7565-7576). JAK2 fosforiló STAT5A y STAT5B de homo- y heterodímeros y modula la expresión génica que afecta el crecimiento y la diferenciación celular (Hennighausen, L., y Robinson, G.W. (2001) Develop. Cell 1:467-475). La activación de PRLR por prolactina sola estimula la proliferación celular, y en combinación con dexametasona, estimula la expresión génica específica mamaria en líneas celulares, por ejemplo,  $\gamma$ -caseína (Sasaki, M., et al. (1996) Endocrine J. 43:45-52). Además, se ha encontrado que PRLR se expresa en exceso en tejidos de cáncer de mama y de cáncer de próstata humanos (Li et al., Cancer Res., 64:4774-4782, 2004; Gill et al., J Clin Pathol., 54:956-960, 2001; Touraine et al., J Clin Endocrinol Metab., 83:667-674, 1998). Los ensayos de fosforilación y proliferación demostraron que los anticuerpos descritos en el presente documento inhibieron la fosforilación y proliferación mediadas por prolactina. Por ejemplo, como se expone en el Ejemplo 2 y en las Tablas 13 y 14, se mostró que los anticuerpos contra PRLR inhibieron la fosforilación de PRLR. Además, como se expone en el Ejemplo 2 y en las Tablas 13 y 14, se mostró que los anticuerpos contra PRLR inhibieron la proliferación de líneas celulares que expresan PRLR, por ejemplo, células linfoides pro-B Baf3 transfectadas con PRLR humano y células de linfoma de rata Nb2-11. Además, como se expone en el Ejemplo 3, se mostró que los anticuerpos contra PRLR, en particular, Ab5, redujeron el crecimiento tumoral en estudios *in vivo*. Se mostró que un anticuerpo particular desvelado en el presente documento, es decir, Ab12, presentaba actividad agonista de PRLR.

Los anticuerpos se humanizaron como se describe en el Ejemplo 1. Se introdujeron retromutaciones de la región estructural en las secuencias de anticuerpos injertadas en CDR por síntesis *de novo* del dominio variable o por cebadores de oligonucleótidos mutagénicos y reacción en cadena de la polimerasa, o por ambos que permiten diferentes combinaciones de retromutaciones y otras mutaciones para cada uno de los injertos en CDR. Se clonaron las regiones variables humanizadas de los anticuerpos monoclonales murinos contra PRLR en vectores de expresión de IgG para caracterización funcional.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de la cadena pesada, tal como una región constante de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM o IgD. Preferentemente, la región constante de la cadena pesada es una región constante de la cadena pesada de IgG1 o una región constante de la cadena pesada de IgG4. Además, el anticuerpo puede comprender una región constante de la cadena ligera, ya sea una región constante de la cadena ligera kappa o una región constante de la cadena ligera lambda. Preferentemente, el anticuerpo comprende una región constante de la cadena ligera kappa. Alternativamente, la porción de anticuerpo puede ser, por ejemplo, un fragmento Fab o un fragmento Fv monocatenario.

Se conocen en la técnica sustituciones de restos de aminoácidos en la porción Fc para alterar la función efectora del anticuerpo (Winter, et al., patentes de EE.UU. N.º 5.648.260; 5624821). La porción Fc de un anticuerpo media en varias funciones efectoras importantes, por ejemplo, inducción de citocinas, ADCC, fagocitosis, citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y semivida/ velocidad de eliminación del anticuerpo y complejos antígeno-anticuerpo. En algunos casos, estas funciones efectoras son deseables para anticuerpo terapéutico, pero en otros casos podría ser innecesario o incluso perjudicial, dependiendo de los objetivos terapéuticos. Ciertos isotipos de IgG humanas, particularmente IgG1 e IgG3, median en ADCC y CDC mediante la unión a Fc $\gamma$ R y C1q del complemento, respectivamente. Los receptores de Fc neonatal (FcRn) son los componentes críticos que determinan la semivida en circulación de los anticuerpos. En otro aspecto adicional, al menos un resto de aminoácido es sustituido en la región constante del anticuerpo, por ejemplo la región Fc del anticuerpo, de forma que se alteran las funciones efectoras del anticuerpo.

Un aspecto proporciona una proteína de unión marcada en el que un anticuerpo o porción de anticuerpo de la divulgación se deriva o une a una o más molécula(s) funcional(es) (por ejemplo, otro péptido o proteína). Por ejemplo, una proteína de unión marcada de la divulgación puede derivar uniéndose funcionalmente un anticuerpo o porción de anticuerpo de la divulgación (por acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente o de otro modo) a una o varias de otras entidades moleculares, tales como otro anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico o un diacuerpo), un agente detectable, un agente farmacéutico, una proteína o péptido que puede mediar en la asociación del anticuerpo o porción de anticuerpo con otra molécula (tal como una región central de estreptavidina o una marca de polihistidina), y/o un agente citotóxico o terapéutico seleccionado del grupo que consiste en un inhibidor mitótico, un antibiótico antitumoral, un agente inmunomodulador, un vector para terapia génica, un agente alquilante, un agente antiangiogénico, un antimetabolito, un agente que contiene boro, un agente quimioprotector, una hormona, un agente antihormonal, un corticosteroide, un agente terapéutico fotoactivo, un oligonucleótido, un agente de radionúclido, un inhibidor de la topoisomerasa, un inhibidor de tirosina cinasas, un radiosensibilizador, y una combinación de los mismos.

Agentes detectables útiles con los que un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención pueden derivatizarse incluyen compuestos fluorescentes. Agentes detectables fluorescentes a modo de ejemplo incluyen fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, cloruro de 5-dimetilamina-1-naftalenosulfonilo, ficoeritrina y similares. Un anticuerpo también puede derivatizarse con enzimas detectables, tales como fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante, glucosa oxidasa y similares. Cuando un anticuerpo se derivatiza con una enzima detectable, se detecta añadiendo reactivos adicionales que usa la enzima para producir un producto de reacción detectable. Por ejemplo, cuando está presente el agente detectable peroxidasa de rábano picante, la adición de peróxido de hidrógeno y diaminobencidina conduce a un producto de reacción coloreado, que es detectable. Un anticuerpo también puede derivatizarse con biotina, y detectarse mediante medición indirecta de la unión a avidina o estreptavidina.

Otro aspecto de la divulgación proporciona una proteína de unión cristalizada. Preferentemente, la divulgación se refiere a cristales de anticuerpos anti-PRLR completos y fragmentos de los mismos como se desvela en el presente documento, y formulaciones y composiciones que comprenden tales cristales. En un aspecto, la proteína de unión cristalizada tiene una semivida *in vivo* mayor que el homólogo soluble de la proteína de unión. En otro aspecto, la proteína de unión retiene la actividad biológica después de la cristalización.

La proteína de unión cristalizada de la divulgación puede producirse según métodos conocidos en la técnica y como se desvela en el documento WO 02072636.

Otro aspecto de la divulgación proporciona una proteína de unión glucosilada en el que el anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo comprende uno o más restos de hidrato de carbono. La producción *in vivo* naciente de proteínas puede someterse a procesamiento adicional, conocido como modificación postraduccional. En particular, pueden añadirse enzimáticamente restos de azúcar (glucosilo), un proceso conocido como glucosilación. Las proteínas resultantes que llevan cadenas laterales de oligosacárido covalentemente unidas se conocen como proteínas glucosiladas o glucoproteínas. Los anticuerpos son glucoproteínas con uno o más restos de hidrato de carbono en el dominio Fc, además del dominio variable. Los restos de hidrato de carbono en el dominio Fc tienen un importante efecto sobre la función efectora del dominio Fc, con efecto mínimo sobre la unión al antígeno o semivida del anticuerpo (R. Jefferis, *Biotechnol. Prog.* 21 (2005), pp. 11-16). A diferencia, la glucosilación del dominio variable puede tener un efecto sobre la actividad de unión al antígeno del anticuerpo. La glucosilación en el dominio variable puede tener un efecto negativo sobre la afinidad de unión del anticuerpo, probablemente debido al impedimento estérico (Co, M.S., et al., *Mol. Immunol.* (1993) 30:1361-1367), o producir elevada afinidad por el antígeno (Wallick, S.C., et al., *Exp. Med.* (1988) 168:1099-1109; Wright, A., et al., *EMBO J.* (1991) 10:2717-2723).

Un aspecto de la presente divulgación se refiere a generar mutantes del sitio de glucosilación en los que se ha mutado el sitio de glucosilación unido en O o en N de la proteína de unión. Un experto en la materia puede generar tales mutantes usando tecnologías convencionales muy conocidas. Mutantes del sitio de glucosilación que retienen la actividad biológica, pero tienen actividad de unión elevada o reducida, son otro objeto de la presente divulgación.

En otro aspecto adicional, se modifica la glucosilación del anticuerpo o porción de unión al antígeno de la divulgación. Por ejemplo, puede prepararse un anticuerpo aglucosilado (es decir, el anticuerpo carece de glucosilación). La glucosilación puede alterarse para, por ejemplo, aumentar la afinidad del anticuerpo por el antígeno. Tales modificaciones de hidratos de carbono pueden llevarse a cabo por, por ejemplo, alterando uno o más sitios de glucosilación dentro de la secuencia de anticuerpos. Por ejemplo, pueden hacerse una o más sustituciones de aminoácidos que producen la eliminación de uno o más sitios de glucosilación de la región variable para así eliminar la glucosilación en ese sitio. Tal aglucosilación puede aumentar la afinidad del anticuerpo por el antígeno. Un enfoque tal se describe en más detalle en la publicación PCT WO2003016466A2, y las patentes de EE.UU. N.º 5.714.350 y 6.350.861.

Adicionalmente o alternativamente, puede prepararse un anticuerpo modificado de la divulgación que tiene un tipo de glucosilación alterado, tal como un anticuerpo hipofucosilado que tiene cantidades reducidas de restos de fucosilo o un anticuerpo que tiene elevadas estructuras de GlcNac bisecantes. Se ha demostrado que tales patrones de glucosilación alterados aumentan la capacidad de ADCC de los anticuerpos. Tales modificaciones de hidratos de carbono pueden llevarse a cabo, por ejemplo, expresando el anticuerpo en una célula hospedadora con maquinaria de glucosilación alterada. Se han descrito en la materia células con maquinaria de glucosilación alterada y pueden usarse como células hospedadoras en las que expresar anticuerpos recombinantes de la divulgación para así producir un anticuerpo con glucosilación alterada. Véanse, por ejemplo, Shields, R. L. et al. (2002) *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740; Umana et al. (1999) *Nat. Biotech.* 17:176-1, además de la patente europea N.º: EP 1.176.195; publicaciones PCT WO 03/035835; WO 99/54342 80.

La glucosilación de proteínas depende de la secuencia de aminoácidos de la proteína de interés, además de la célula hospedadora en la que se expresa la proteína. Diferentes organismos pueden producir diferentes enzimas de glucosilación (por ejemplo, glucosiltransferasas y glucosidasas), y tener diferentes sustratos (azúcares de nucleótido) disponibles. Debido a tales factores, el patrón de glucosilación de proteínas, y la composición de restos de glucosilo, pueden diferenciarse dependiendo del sistema hospedador en el que se expresa la proteína particular. Restos de glucosilo pueden incluir, pero no se limitan a, glucosa, galactosa, manosa, fucosa, n-acetilglucosamina y ácido

siálico. Preferentemente, la proteína de unión glucosilada comprende restos de glucosilo de forma que el patrón de glucosilación sea humano.

Es conocido para aquellos expertos en la materia que glucosilación de proteínas diferentes puede producir características de proteínas diferentes. Por ejemplo, puede reducirse la eficacia de una proteína terapéutica producida en un microorganismo hospedador, tal como levadura, y glucosilarse utilizando la vía endógena de levadura en comparación con la de la misma proteína expresada en una célula de mamífero, tal como una línea celular CHO. Tales glucoproteínas también pueden ser inmunogénicas en seres humanos y mostrar semivida *in vivo* reducida después de la administración. Receptores específicos en seres humanos y otros animales pueden reconocer restos de glucosilo específicos y promover la rápida eliminación de la proteína de la circulación sanguínea. Otros efectos adversos pueden incluir cambios en el plegamiento de proteínas, solubilidad, susceptibilidad a proteasas, tráfico, transporte, compartimentalización, secreción, reconocimiento por otras proteínas o factores, antigenicidad, o alergenicidad. Por consiguiente, un médico puede preferir una proteína terapéutica con una composición específica y patrón de glucosilación, por ejemplo composición de glucosilación y patrón idénticos, o al menos similares, a los producidos en células humanas o en las células específicas de especie del sujeto animal previsto.

Puede lograrse expresar proteínas glucosiladas diferentes de las de una célula hospedadora modificando genéticamente la célula hospedadora para expresar enzimas de glucosilación heterólogas. Usando técnicas conocidas en la técnica, un médico puede generar anticuerpos o porciones de unión al antígeno de los mismos que presentan glucosilación de proteínas humanas. Por ejemplo, se han modificado genéticamente cepas de levadura para expresar enzimas de glucosilación que no existen de forma natural de forma que las proteínas glucosiladas (glucoproteínas) producidas en estas cepas de levadura presentan glucosilación de proteínas idéntica a la de las células de animales, especialmente células humanas (publicaciones de patente de EE.UU. N.º 20040018590 y 20020137134 y publicación PCT WO2005100584 A2).

Además de las proteínas de unión, la presente divulgación también se refiere a un anticuerpo antiidiotípico (anti-Id) específico para tales proteínas de unión de la divulgación. Un anticuerpo anti-Id es un anticuerpo que reconoce determinantes únicos generalmente asociados a la región de unión al antígeno de otro anticuerpo. El anti-Id puede prepararse inmunizando un animal con la proteína de unión o una región que contiene CDR del mismo. El animal inmunizado reconocerá, y responderá a los determinantes idiotípicos del anticuerpo inmunizante y producirá un anticuerpo anti-Id. El anticuerpo anti-Id también puede usarse como un "inmunogén" para inducir una respuesta inmunitaria en otro animal más, produciendo un llamado anticuerpo anti-anti-Id.

Además, se apreciará por un experto en la materia que puede expresarse una proteína de interés usando una biblioteca de células hospedadoras genéticamente manipuladas para expresar diversas enzimas de glucosilación, de forma que células hospedadoras miembro de la biblioteca producirán la proteína de interés con patrones de glucosilación variantes. Un médico puede entonces seleccionar y aislar la proteína de interés con patrones de glucosilación novedosos particulares. Preferentemente, la proteína que tiene un patrón de glucosilación novedoso particularmente seleccionado presenta propiedades biológicas mejoradas o alteradas.

## II. Conjugados anticuerpo anti-PRLR-fármaco (ADC)

Los anticuerpos anti-PRLR descritos en el presente documento pueden conjugarse con un agente para formar un conjugado anticuerpo anti-PRLR-fármaco (ADC). Los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC) pueden aumentar la eficacia terapéutica de los anticuerpos en el tratamiento de enfermedad, por ejemplo, cáncer, debido a la capacidad del ADC para administrar selectivamente uno o más agente(s) a tejidos diana, tales como un antígeno asociado a tumor, por ejemplo, tumores que expresan PRLR. Así, la invención proporciona ADC anti-PRLR para uso terapéutico, por ejemplo, tratamiento del cáncer.

El ADC anti-PRLR de la presente invención comprende un anticuerpo anti-PRLR de la invención, es decir, un anticuerpo que se une específicamente a PRLR, unido a uno o más restos de fármaco. La especificidad del ADC de la invención se define por la especificidad del anticuerpo, es decir, anti-PRLR. En una realización, un anticuerpo anti-PRLR de la invención se une a una o más citotoxina(s) que se administran internamente a una célula cancerosa transformada que expresa PRLR. Ejemplos de fármacos que pueden usarse en el ADC anti-PRLR de la invención se proporcionan a continuación, ya que son conectores que pueden usarse para conjugar el anticuerpo y el uno o más fármaco(s). Los términos "fármaco" y "agente" se usan indistintamente en el presente documento. Los términos "unido" y "conjugado" también se usan indistintamente en el presente documento.

### A. Fármacos para conjugación

Los anticuerpos anti-PRLR de la invención pueden usarse en un ADC para dirigir uno o más fármaco(s) a una célula de interés, por ejemplo, una célula cancerosa transformada que expresa PRLR. El ADC anti-PRLR de la invención proporciona una terapia dirigida que puede, por ejemplo, reducir los efectos secundarios frecuentemente observados con terapias contra el cáncer, ya que el uno o más fármaco(s) se administran a una célula específica. Ejemplos de fármacos que pueden usarse en ADC de la invención, es decir, fármacos que pueden conjugarse con los anticuerpos anti-PRLR de la invención, se proporcionan a continuación, e incluyen inhibidores mitóticos, antibióticos

antitumorales, agentes inmunomoduladores, vectores de terapia génica, agentes alquilantes, agentes antiangiogénicos, antimetabolitos, agentes que contienen boro, agentes quimioprotectores, agentes de hormona, glucocorticoides, agentes terapéuticos fotoactivos, oligonucleótidos, isótopos radiactivos, radiosensibilizadores, inhibidores de la topoisomerasa, inhibidores de tirosina cinasas, y combinaciones de los mismos.

## 5 1. Inhibidores mitóticos

Los anticuerpos anti-PRLR de la invención pueden conjugarse con uno o más inhibidor(es) mitótico(s) para el tratamiento de cáncer. El término "inhibidor mitótico", como se usa en el presente documento, se refiere a un agente citotóxico y/o terapéutico que bloquea la mitosis o división celular, un proceso biológico particularmente importante para las células cancerosas. Un inhibidor mitótico altera los microtúbulos, de forma que se previene la división celular, frecuentemente afectando la polimerización de microtúbulos o despolimerización de microtúbulos. Así, en una realización, un anticuerpo anti-PRLR de la invención se conjuga con uno o más inhibidor(es) mitótico(s) que alteran la formación de microtúbulos, inhibiendo la polimerización de tubulina. En una realización, el inhibidor mitótico usado en los ADC de la invención es Ixempra (ixabepilona). Ejemplos de inhibidores mitóticos que pueden usarse en los ADC anti-PRLR de la invención se proporcionan a continuación.

### 15 a. Dolastatinas

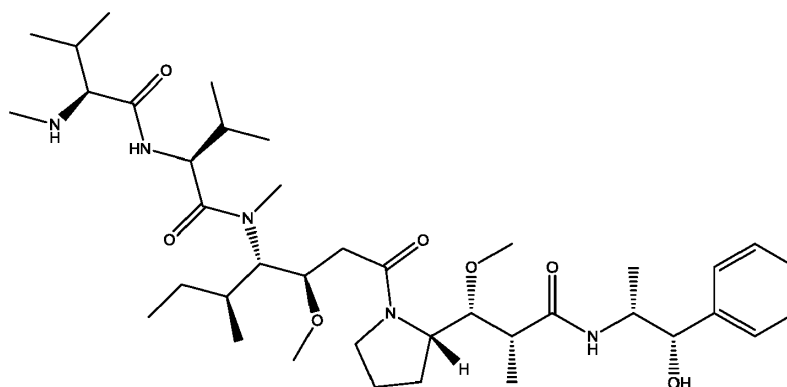
El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una dolastatina. Las dolastatinas son compuestos peptídicos cortos aislados de la liebre marina del océano Índico *Domarcala auricularia* (véase Pettit et al., J. Am. Chem. Soc., 1976, 98, 4677). Ejemplos de dolastatinas incluyen dolastatina 10 y dolastatina 15. La dolastatina 15, un depsipéptido de siete subunidades, derivada de *Domarcala auricularia*, y es un potente agente antimitótico estructuralmente relacionado con el agente anti-tubulina dolastatina 10, un péptido de cinco subunidades obtenido del mismo organismo. Así, en una realización, el ADC anti-PRLR de la invención comprende un anticuerpo anti-PRLR, como se describe en el presente documento, y al menos una dolastatina. Las auristatinas, descritas a continuación, son derivados sintéticos de la dolastatina 10.

### 25 b. Auristatinas

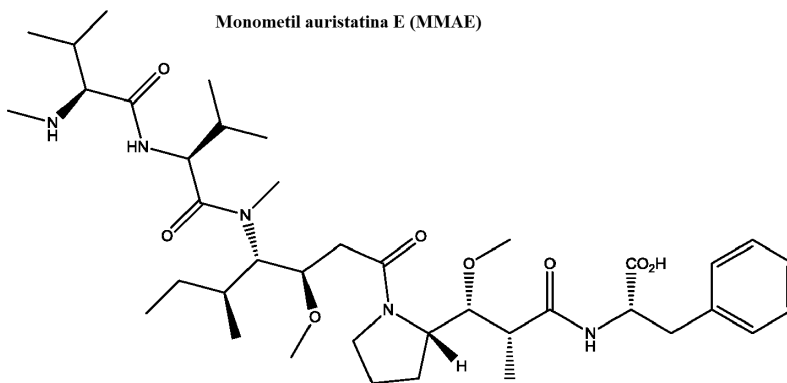
El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una auristatina. Las auristatinas representan un grupo de análogos de dolastatina que se ha mostrado generalmente que poseen actividad anticancerígena interfiriendo con la dinámica de los microtúbulos e hidrólisis de GTP, inhibiendo así la división celular. Por ejemplo, la auristatina E (patente de EE.UU. N.º 5.635.483) es un análogo sintético del producto natural marino dolastatina 10, un compuesto que inhibe la polimerización de tubulina uniéndose al mismo sitio en la tubulina que el fármaco antineoplásico vincristina (G. R. Pettit, Prog. Chem. Org. Nat. Prod, 70: 1-79 (1997)). La dolastatina 10, auristatina PE y auristatina E son péptidos lineales que tienen cuatro aminoácidos, tres los cuales son únicos para la clase de compuestos de dolastatina. Realizaciones a modo de ejemplo de la subclase de auristatina de inhibidores mitóticos incluyen, pero no se limitan a, monometil auristatina D (MMAD o derivado de auristatina D), monometil auristatina E (MMAE o derivado de auristatina E), monometil auristatina F (MMAF o derivado de auristatina F), auristatina F fenilendiamina (AFP), auristatina EB (AEB), auristatina EFP (AEFP) y éster de ácido 5-benzoilvalérico-AE (AEVB). La síntesis y estructura de los derivados de auristatina se describen en las publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. N.º 2003-0083263, 2005-0238649 y 2005-0009751; publicación de patente internacional N.º WO 04/010957, publicación de patente internacional N.º WO 02/088172, y las patentes de EE.UU. N.º 6.323.315; 6.239.104; 6.034.065; 5.780.588; 5.665.860; 5.663.149; 5.635.483; 5.599.902; 5.554.725; 5.530.097; 5.521.284; 5.504.191; 5.410.024; 5.138.036; 5.076.973; 4.986.988; 4.978.744; 4.879.278; 4.816.444; y 4.486.414. En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una MMAF (monometil auristatina F). La monometil auristatina F (MMAF) inhibe la división celular, bloqueando la polimerización de tubulina. Tiene un resto de fenilalanina del extremo C cargado que atenúa su actividad citotóxica en comparación con su homólogo sin carga MMAE. Debido a su supertoxicidad, no puede usarse como un fármaco por sí mismo, pero puede unirse a un anticuerpo monoclonal (mAb) que lo dirige a las células cancerosas. En una realización, el conector al anticuerpo anti-PRLR es estable en líquido extracelular, pero es escindido por catepsina una vez el conjugado ha entrado en una célula tumoral, activando así el mecanismo antimitótico.

En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una MMAE (monometil auristatina E). La monometil auristatina E (MMAE, vedotin) inhibe la división celular bloqueando la polimerización de tubulina. Debido a su supertoxicidad, tampoco puede usarse como un fármaco por sí mismo. En desarrollos de terapia del cáncer reciente, se une a un anticuerpo monoclonal (mAb) que reconoce una expresión de marcador específico en células cancerosas y dirige la MMAE a las células cancerosas. En una realización, el conector que une MMAE al anticuerpo anti-PRLR es estable en líquido extracelular (es decir, el medio o entorno que es externo a las células), pero es escindido por catepsina una vez el ADC se ha unido al antígeno de célula cancerosa específico y entrado en la célula cancerosa, liberando así la MMAE tóxica y activando el potente mecanismo antimitótico. Las estructuras de MMAF y MMAE se proporcionan a continuación.





Monometil auristatina E (MMAE)



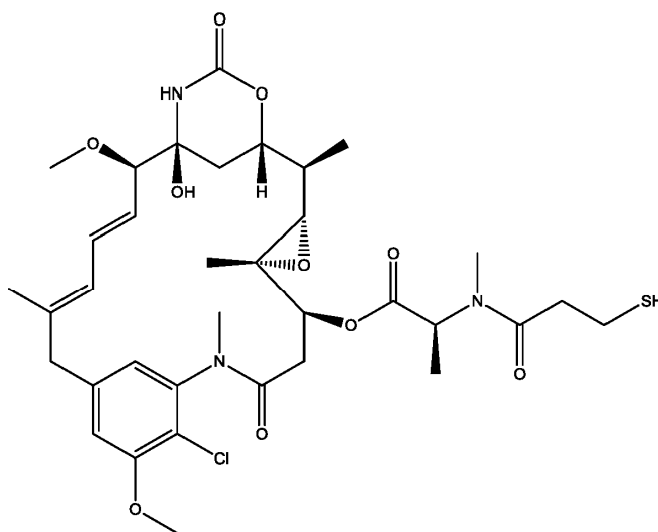
Monometil auristatina F (MMAF)

### c. Maitansinoides

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un maitansinoide. Los maitansinoides son potentes agentes antitumorales que fueron originalmente aislados de miembros de las familias de plantas superiores Celastraceae, Rhamnaceae y Euphorbiaceae, además de algunas especies de musgos (Kupchan et al, J. Am. Chem. Soc. 94:1354-1356 [1972]; Wani et al, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 390: [1973]; Powell et al, J. Nat. Prod. 46:660-666 [1983]; Sakai et al, J. Nat. Prod. 51:845-850 [1988]; y Suwanborirux et al., Experientia 46:117-120 [1990]). La evidencia sugiere que los maitansinoides inhiben la mitosis inhibiendo la polimerización de la proteína de microtúbulos tubulina, que previene así la formación de microtúbulos (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N.º 6.441.163 y Remillard et al., Science, 189, 1002-1005 (1975)). Se ha mostrado que los maitansinoides inhiben el crecimiento de células tumorales *in vitro* usando modelos de cultivo celular, e *in vivo* usando sistemas de animales de laboratorio. Además, la citotoxicidad de los maitansinoides es 1.000 veces superior a la de los agentes quimioterapéuticos convencionales, tales como, por ejemplo, metotrexato, daunorubicina y vincristina (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N.º 5.208.020).

Los maitansinoides son conocidos en la técnica por incluir maitansina, maitansinol, ésteres C-3 de maitansinol, y otros análogos y derivados de maitansinol (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N.º 5.208.020 y 6.441.163, cada una de las cuales se incorpora por referencia en el presente documento). Los ésteres C-3 de maitansinol pueden ser existir de forma natural o ser sintéticamente derivados. Además, tanto los ésteres C-3 de maitansinol que existen de forma natural como los sintéticos pueden clasificarse como un éster C-3 con ácidos carboxílicos simples, o un éster C-3 con derivados de N-metil-L-alanina, siendo el último más citotóxico que el primero. También se conocen en la técnica análogos de maitansinoide sintéticos y se describen en, por ejemplo, Kupchan et al., J. Med. Chem., 21, 31-37 (1978).

Maitansinoides adecuados para su uso en ADC de la invención pueden aislarse de fuentes naturales, producirse sintéticamente, o producirse semisintéticamente usando métodos conocidos en la técnica. Además, el maitansinoide puede modificarse de cualquier manera adecuada, mientras que se preserve la citotoxicidad en la molécula de conjugado definitiva. A este respecto, los maitansinoides carecen de grupos funcionales adecuados a los que los anticuerpos pueden unirse. Se utiliza deseablemente un resto de enlace para unir el maitansinoide al anticuerpo para formar el conjugado, y se describe en más detalle en la Sección IIB. La estructura de un maitansinoide a modo de ejemplo, mertansina (DM1), se proporciona a continuación.



Mertansina (DM1)

Ejemplos representativos de maitansinoides incluyen, pero no se limitan a, DM1 ( $N^{2'}$ -deacetil- $N^{2'}$ -(3-mercapto-1-oxopropil)-maitansina; también denominada mertansina, fármaco maitansinoide 1; ImmunoGen, Inc.; véase también Chari et al. (1992) Cancer Res 52:127), DM2, DM3 ( $N^{2'}$ -deacetil- $N^{2'}$ -(4-mercapto-1-oxopentil)-maitansina), DM4 (4-metil-4-mercapto-1-oxopentil)-maitansina) y maitansinol (un análogo de maitansinoide sintético). Otros ejemplos de maitansinoides se describen en la patente de EE.UU. N.º 8.142.784. Las ansamitocinas son un grupo de antibióticos de maitansinoide que han sido aisladas de diversas fuentes bacterianas. Estos compuestos tienen potentes actividades antitumorales. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, ansamitocina P1, ansamitocina P2, ansamitocina P3 y ansamitocina P4.

En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una DM1. En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una DM2. En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una DM3. En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una DM4.

#### d. Alcaloides de planta

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un alcaloide de planta, por ejemplo, un taxano o alcaloide de la vinca. Los alcaloides de planta son tratamientos de quimioterapia derivados preparados a partir de ciertos tipos de plantas. Los alcaloides de la vinca se preparan a partir de la planta de hierba carmín (*Catharanthus rosea*), mientras que los taxanos se preparan a partir de la corteza del árbol tejo del Pacífico (taxus). Tanto los alcaloides de la vinca como los taxanos también se conocen como agentes antimicrotúbulos, y se describen a continuación en más detalle.

#### Taxanos

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un taxano. El término "taxano", como se usa en el presente documento, se refiere a la clase de agentes antineoplásicos que tienen un mecanismo de acción de los microtúbulos y que tienen una estructura que incluye la estructura de anillo de taxano y una cadena lateral estereoespecífica que se requiere para actividad citostática. También están incluidos dentro del término "taxano" una variedad de derivados conocidos, que incluyen tanto derivados hidrófilos como y derivados hidrófobos. Los derivados de taxano incluyen, pero no se limitan a, los derivados de galactosa y manosa descritos en la solicitud de patente internacional N.º WO 99/18113; derivados de piperazino y otros derivados descritos en el documento WO 99/14209; derivados de taxano descritos en los documentos WO 99/09021, WO 98/22451, y la patente de EE.UU. N.º 5.869.680; derivados de 6-tio descritos en el documento WO 98/28288; derivados de sulfenamida descritos en la patente de EE.UU. N.º 5.821.263; y derivado de taxol descrito en la patente de EE.UU. N.º 5.415.869, cada una de las cuales se incorpora por referencia en el presente documento. Los compuestos de taxano también han sido previamente descritos en las patentes de EE.UU. N.º 5.641.803, 5.665.671, 5.380.751, 5.728.687, 5.415.869, 5.407.683, 5.399.363, 5.424.073, 5.157.049, 5.773.464, 5.821.263, 5.840.929, 4.814.470, 5.438.072, 5.403.858, 4.960.790, 5.433.364, 4.942.184, 5.362.831, 5.705.503 y 5.278.324. Ejemplos adicionales de taxanos incluyen, pero no se limitan a, docetaxel (Taxotere; Sanofi Aventis), paclitaxel (Abraxane o Taxol; Abraxis Oncology), y paclitaxel en nanopartículas (ABI-007 / Abraxene; Abraxis Bioscience).

En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos un doxetaxel. En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos un paclitaxel.

### Alcaloides de la vinca

En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos un alcaloide de la vinca. Los alcaloides de la vinca son una clase de fármacos específicos del ciclo celular que funcionan inhibiendo la capacidad de las células cancerosas para dividirse actuando sobre la tubulina y previniendo la formación de microtúbulos. Ejemplos de alcaloides de la vinca que pueden usarse en los ADC de la invención incluyen, pero no se limitan a, sulfato de vindesina, vincristina, vinblastina y vinorelbina.

### 2. Antibióticos antitumorales

Los anticuerpos anti-PRLR de la invención pueden conjugarse con uno o más antibiótico(s) antitumoral(es) para el tratamiento de cáncer. Como se usa en el presente documento, el término "antibiótico antitumoral" significa un fármaco antineoplásico que bloquea el crecimiento celular interfiriendo con el ADN y se prepara a partir de un microorganismo. Frecuentemente, los antibióticos antitumorales o bien rompen las hebras de ADN o bien ralentizan o bien detienen la síntesis de ADN. Ejemplos de antibióticos antitumorales que pueden incluirse en los ADC anti-PRLR de la invención incluyen, pero no se limitan a, actinomicinas (por ejemplo, pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepinas), antraciclinas, caliqueamicinas y duocarmicinas, descritas a continuación en más detalle.

#### 15 a. Actinomicinas

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una actinomicina. Las actinomicinas son una subclase de antibióticos antitumorales aislados de bacterias del género *Streptomyces*. Ejemplos representativos de actinomicinas incluyen, pero no se limitan a, actinomicina D (Cosmegen [también conocida como actinomicina, dactinomicina, actinomicina IV, actinomicina C1], Lundbeck, Inc.), antramycin, chicamicina A, DC-18, mazetramicina, neotramicina A, neotramicina B, porotramicina, protracarcina B, SG2285, sibanomicina, sibiromicina y tomamicina. En una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepina (PBD). Ejemplos de PBD incluyen, pero no se limitan a, antramycin, chicamicina A, DC-81, mazetramicina, neotramicina A, neotramicina B, porotramicina, protracarcina B, SG2285, sibanomicina, sibiromicina y tomamicina. Así, en una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una actinomicina, por ejemplo, actinomicina D o al menos un PBD, por ejemplo, un dímero de pirrolobenzodiazepina (PBD).

#### b. Antraciclinas

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una antraciclina. Las antraciclinas son una subclase de antibióticos antitumorales aislados de bacteria del género *Streptomyces*. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a daunorubicina (Cerubidine, Bedford Laboratories), doxorubicina (Adriamycin, Bedford Laboratories; también denominada clorhidrato de doxorubicina, hidroxidaunorubicina y Rubex), epirubicina (Ellence, Pfizer) e idarubicina (Idamycin; Pfizer Inc.). Así, en una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una antraciclina, por ejemplo, doxorubicina.

#### c. Caliqueamicinas

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una caliqueamicina. Las caliqueamicinas son una familia de antibióticos de enediína derivados del organismo de la tierra *Micromonospora echinospora*. Las caliqueamicinas se unen al surco menor del ADN e inducen roturas de ADN bicatenario, produciendo muerte celular con un aumento de 100 veces con respecto a otros agentes quimioterapéuticos (Damle et al. (2003) Curr Opin Pharmacol 3:386). La preparación de caliqueamicinas que pueden usarse como conjugados de fármaco en la invención es conocida en la técnica, véanse las patentes de EE.UU. N.º 5.712.374, 5.714.586, 5.739.116, 5.767.285, 5.770.701, 5.770.710, 5.773.001 y 5.877.296. Análogos estructurales de caliqueamicina que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a,  $\gamma_1^1 \alpha_2^1 \alpha_3^1$ , N-acetil- $\gamma_1^1$ , PSAG y  $\theta_1^1$  (Hinman et al., Cancer Research 53:3336-3342 (1993), Lode et al., Cancer Research 58:2925-2928 (1998) y las patentes de EE.UU. N.º 5.712.374, 5.714.586, 5.739.116, 5.767.285, 5.770.701, 5.770.710, 5.773.001 y 5.877.296 anteriormente mencionadas). Así, en una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una caliqueamicina.

#### d. Duocarmicinas

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una duocarmicina. Las duocarmicinas son una subclase de antibióticos antitumorales aislados de bacterias del género *Streptomyces* (véase Nagamura y Saito (1998) Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 34, No. 12). Las duocarmicinas se unen al surco menor del ADN y alquilan la nucleobase adenina en la posición N3 (Boger (1993) Pure y Appl Chem 65(6):1123; y Boger y Johnson (1995) PNAS USA 92:3642). Análogos sintéticos de duocarmicinas incluyen, pero no se limitan a, adozelesina, bizelesina y carzelesina. Así, en una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una duocarmicina.

### e. Otros antibióticos antitumorales

Además de los anteriores, antibióticos antitumorales adicionales que pueden usarse en los ADC anti-PRLR de la invención incluyen bleomicina (Blenoxane, Bristol-Myers Squibb), mitomicina y plicamicina (también conocida como mitramicina).

### 5 3. Agentes inmunomoduladores

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un agente inmunomodulador. Como se usa en el presente documento, el término "agente inmunomodulador" se refiere a un agente que puede estimular o modificar una respuesta inmunitaria. En una realización, un agente inmunomodulador es un inmunoestimulante que potencia la respuesta inmunitaria de un sujeto. En otra realización, un agente inmunomodulador es un inmunosupresor que previene o disminuye la respuesta inmunitaria de un sujeto. Un agente inmunomodulador puede modular células mieloides (monocitos, macrófagos, células dendríticas, meagacariocitos y granulocitos) o células linfoides (linfocitos T, linfocitos B y linfocitos citolíticos espontáneos (NK)) y cualquier célula diferenciada adicional de los mismos. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, bacillus calmette-guerin (BCG) y levamisol (Ergamisol). Otros ejemplos de agente inmunomoduladores que pueden usarse en los ADC de la invención incluyen, pero no se limitan a, vacunas para el cáncer, citocinas y terapia génica inmunomoduladora.

#### a. Vacunas para el cáncer

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con una vacuna para el cáncer. Como se usa en el presente documento, el término "vacuna para el cáncer" se refiere a una composición (por ejemplo, un antígeno de tumor y una citocina) que provoca una respuesta inmunitaria específica de tumor. La respuesta es provocada a partir del propio sistema inmunitario del sujeto administrando la vacuna para el cáncer, o, en el caso de la presente invención, administrando un ADC que comprende un anticuerpo anti-PRLR y una vacuna para el cáncer. En realizaciones preferidas, la respuesta inmunitaria produce la erradicación de células tumorales en el cuerpo (por ejemplo, células tumorales primarias o metastásicas). El uso de vacunas para el cáncer generalmente implica la administración de un antígeno particular o grupo de antígenos que están, por ejemplo, presentes sobre la superficie de una célula cancerosa particular, o presentes sobre la superficie de un agente infeccioso particular mostrado para facilitar la formación del cáncer. En algunas realizaciones, el uso de vacunas para el cáncer es para fines profilácticos, mientras que en otras realizaciones, el uso es para fines terapéuticos. Ejemplos no limitantes de vacunas para el cáncer que pueden usarse en los ADC anti-PRLR de la invención incluyen vacuna de tipos 16 y 18 del virus del papiloma humano (VPH) bivalente recombinante (Cervarix, GlaxoSmithKline), vacuna de tipos 6, 11, 16 y 18 del virus del papiloma humano (VPH) cuadrivalente recombinante (Gardasil, Merck & Company) y sipuleucel-T (Provenge, Dendreon). Así, en una realización, el anticuerpo anti-PRLR de la invención está conjugado con al menos una vacuna para el cáncer que es o bien un inmunoestimulante o es un inmunosupresor.

#### b. Citocinas

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una citocina. El término "citocina" generalmente se refiere a proteínas liberadas por una población de células que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares. Las citocinas estimulan directamente las células efectoras inmunitarias y las células del estroma en el sitio tumoral y potencian el reconocimiento de células tumorales por células efectoras citotóxicas (Lee y Margolin (2011) *Cancers* 3:3856). Numerosos estudios en modelos de tumor animal han demostrado que las citocinas tienen una amplia actividad antitumoral y esto se ha traducido en varios enfoques basados en citocinas para terapia del cáncer (Lee y Margoli, arriba). En los últimos años se ha observado que varias citocinas, que incluyen GM-CSF, IL-7, IL-12, IL-15, IL-18 e IL-21, entran en ensayos clínicos para pacientes con cáncer avanzado (Lee y Margoli, arriba).

Ejemplos de citocinas que pueden usarse en los ADC de la invención incluyen, pero no se limitan a, hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorelaxina; hormonas de glucoproteína tales como hormona estimulante del folículo (FSH), hormona estimulante tiroidea (TSH) y hormona luteinizante (LH); factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos; prolactina; lactógeno placentario; factor de necrosis tumoral; sustancia inhibidora mulleriana; péptido asociado a gonadotropina de ratón; inhibina; activina; factor de crecimiento endotelial vascular; integrina; trombopoyetina (TPO); factores de crecimiento nervioso tales como NGF; factor de crecimiento de plaquetas; factores de crecimiento transformante (TGF); factor de crecimiento similar a la insulina-I y -II; eritropoyetina (EPO); factores octeoinductivos; interferones tales como interferón  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , factores estimulantes de colonias (CSF); granulocito-macrófago-CSF (GM-CSF); y granulocito-CSF (G-CSF); interleucinas (IL) tales como IL-1, IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12; factor de necrosis tumoral; y otros factores de polipéptido que incluyen LIF y ligando kit (KL). Como se usa en el presente documento, el término citocina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivo celular recombinante y equivalentes biológicamente activos de las citocinas de secuencia nativa. Así, en una realización, la invención proporciona un ADC que comprende un anticuerpo anti-PRLR descrito en el presente documento y una citocina.

### c. Factores estimulantes de colonias (CSF)

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un factor estimulante de colonias (CSF). Los factores estimulantes de colonias (CSF) son factores de crecimiento que ayudan a la médula ósea en la producción de glóbulos rojos. Debido a que algunos tratamientos para el cáncer (por ejemplo, quimioterapia) pueden afectar los glóbulos blancos (que ayudan a luchar contra la infección), pueden introducirse factores estimulantes de colonias para ayudar a respaldar los niveles de glóbulos blancos y reforzar el sistema inmunitario. También pueden usarse factores estimulantes de colonias tras un trasplante de médula ósea para ayudar a la nueva médula ósea a empezar a producir glóbulos blancos. Ejemplos representativos de CSF que pueden usarse en los ADC anti-PRLR de la invención incluyen, pero no se limitan a, eritropoyetina (epoetina), filgrastim (Neopogen (también conocido como factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF); Amgen, Inc.), sargramostim (leucina (factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos y GM-CSF); Genzyme Corporation), promegapoyetina y Oprelvekin (IL-11 recombinante; Pfizer, Inc.). Así, en una realización, la invención proporciona un ADC que comprende un anticuerpo anti-PRLR descrito en el presente documento y un CSF.

### 4. Terapia génica

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un ácido nucleico (directamente o indirectamente mediante un vehículo) para terapia génica. La terapia génica generalmente se refiere a la introducción de material genético en una célula por lo que el material genético se diseña para tratar una enfermedad. Como se refiere a agentes inmunomoduladores, la terapia génica se usa para estimular la capacidad natural de un sujeto para inhibir la proliferación de células de cáncer o destruir células de cáncer. En una realización, el ADC anti-PRLR de la invención comprende un ácido nucleico que codifica un gen terapéutico funcional que se usa para sustituir un gen mutado o de otro modo disfuncional (por ejemplo, truncado) asociado al cáncer. En otras realizaciones, el ADC anti-PRLR de la invención comprende un ácido nucleico que codifica o proporciona de otro modo la producción de una proteína terapéutica para tratar cáncer. El ácido nucleico que codifica el gen terapéutico puede ser directamente conjugado con el anticuerpo anti-PRLR, o alternativamente, puede conjugarse con el anticuerpo anti-PRLR mediante un vehículo. Ejemplos de vehículos que pueden usarse para administrar un ácido nucleico para terapia génica incluyen, pero no se limitan a, vectores virales o liposomas.

### 5. Agentes alquilantes

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con uno o más agente(s) alquilante(s). Los agentes alquilantes son una clase de compuestos antineoplásicos que unen un grupo alquilo a ADN. Ejemplos de agentes alquilantes que pueden usarse en los ADC de la invención incluyen, pero no se limitan a, sulfonatos de alquilo, etilnimimas, derivados de metilamina, epóxidos, mostazas nitrogenadas, nitrosoureas, triazinas e hidracinas.

#### a. Sulfonatos de alquilo

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un sulfonato de alquilo. Los sulfonatos de alquilo son una subclase de agentes alquilantes con una fórmula general:  $R-SO_2-OR^1$ , en la que R y  $R^1$  normalmente son grupos alquilo o arilo. Un ejemplo representativo de un sulfonato de alquilo incluye, pero no se limita a, busulfán (Myleran, GlaxoSmithKline; Busulfex IV, PDL BioPharma, Inc.).

#### b. Mostazas nitrogenadas

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una mostaza nitrógenoada. Ejemplos representativos de esta subclase de compuestos antineoplásicos incluyen, pero no se limitan a, clorambucilo (Leukeran, GlaxoSmith-Kline), ciclofosfamida (Cytoxan, Bristol-Myers Squibb; Neosar, Pfizer, Inc.), estramustina (fosfato sódico de estramustina o Estracyt, Pfizer, Inc.), ifosfamida (Ifex, Bristol-Myers Squibb), mecloretamina (Mustargen, Lundbeck Inc.) y melfalán (Alkeran o L-Pam o mostaza de fenilalanina; GlaxoSmithKline).

#### c. Nitrosoureas

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una nitrosourea. Las nitrosoureas son una subclase de agentes alquilantes que son solubles en lípidos. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, carmustina (BCNU [también conocida como BiCNU, *N,N*-Bis(2-cloroetil)-*N*-nitrosourea, o 1,3-bis (2-cloroetil)-*l*-nitrosourea], Bristol-Myers Squibb), fotemustina (también conocida como Muphoran), lomustina (CCNU o 1-(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosourea, Bristol-Myers Squibb), nimustina (también conocida como ACNU) y estreptozocina (Zanosar, Teva Pharmaceuticals).

#### d. Triazinas e hidracinas

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una triazina o hidracina. Las triazinas e hidracinas son una subclase de agentes alquilantes que contienen nitrógeno. En algunas realizaciones, estos compuestos se descomponen espontáneamente o pueden ser metabolizados para producir productos intermedios de alquildiazonio que facilitan la transferencia de un grupo alquilo a ácidos nucleicos, péptidos y/o polipéptidos, produciendo así efectos mutagénicos, carcinogénicos o citotóxicos. Ejemplos representativos incluyen, pero no se

limitan a, dacarbazina (DTIC-Dome, Bayer Healthcare Pharmaceuticals Inc.), procarbazina (Mutalane, Sigma-Tau Pharmaceuticals, Inc.) y temozolomida (Temodar, Schering Plough).

#### e. Otros agentes alquilantes

5 El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una etilenimina, derivado de metilamina, o epóxido. Las etileniminas son una subclase de agentes alquilantes que normalmente contienen al menos un anillo de aziridina. Los epóxidos representan una subclase de agentes alquilantes que se caracterizan como éteres cíclicos con solo tres átomos de anillo. Ejemplos representativos de etileniminas incluyen, pero no se limitan a, tiopeta (Thioplex, Amgen), diazicuona (también conocida como aziridinilbenzoquinona (AZQ)) y mitomicina C. La mitomicina C es un producto natural que contiene un anillo de aziridina y parece inducir citotoxicidad mediante reticulación de ADN (Dorr RT, et al. Cancer Res. 1985;45:3510; Kennedy KA, et al. Cancer Res. 1985;45:3541). Ejemplos representativos de derivados de metilamina y sus análogos incluyen, pero no se limitan a, altretamina (Hexalen, MGI Pharma, Inc.), que también se conoce como hexametilamina y hexastat. Ejemplos representativos de epóxidos de esta clase de compuesto antineoplásico incluyen, pero no se limitan a, dianhidrogalactitol. El dianhidrogalactitol (1,2:5,6-dianhidrodulcitol) está químicamente relacionado con las aziridinas y generalmente facilitan la transferencia de un grupo alquilo mediante un mecanismo similar como se ha descrito anteriormente. El dibromodulcitol se hidroliza a dianhidrogalactitol y así es un pro-fármaco para un epóxido (Sellei C, et al. Cancer Chemother Rep. 1969;53:377).

#### 6. Agentes antiangiogénicos

20 El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un agente antiangiogénico. Los agentes antiangiogénicos inhiben el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos. Los agentes antiangiogénicos ejercen sus efectos en una variedad de formas. En algunas realizaciones, estos agentes interfieren con la capacidad de un factor de crecimiento para alcanzar su diana. Por ejemplo, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es una de las proteínas primarias implicadas en iniciar la angiogénesis uniendo receptores particulares sobre una superficie celular. Así, ciertos agentes antiangiogénicos que previenen la interacción de VEGF con su receptor relacionado, previenen que VEGF inicie la angiogénesis. En otras realizaciones, estos agentes interfieren con las cascadas de señalización intracelular. Por ejemplo, una vez ha sido activado un receptor particular sobre una superficie celular, se inicia una cascada de otras señales químicas para promover el crecimiento de vasos sanguíneos. Así, ciertas enzimas, por ejemplo, algunas tirosina cinasas, que son conocidas por facilitar las cascadas de señalización intracelular que contribuyen a, por ejemplo, la proliferación celular, son dianas para el tratamiento del cáncer. En otras realizaciones, estos agentes interfieren con las cascadas de señalización intracelular. Aún, en otras realizaciones, estos agentes inutilizan dianas específicas que activan y promueven el crecimiento celular o interfiriendo directamente con el crecimiento de células de vasos sanguíneos. Se han descubierto propiedades inhibitorias de la angiogénesis en más de 300 sustancias con numerosos efectos inhibidores directos e indirectos.

35 Ejemplos representativos de agentes antiangiogénicos que pueden usarse en los ADC de la invención incluyen, pero no se limitan a, angiostatina, ABX EFG, C1-1033, PKI-166, vacuna de EGF, EKB-569, GW2016, ICR-62, EMD 55900, CP358, PD153035, AG1478, IMC-C225 (Erbix, ZD1839 (Iressa), OSI-774, Erlotinib (tarceva), angiostatina, arrestina, endostatina, BAY 12-9566 y con fluorouracilo o doxorubicina, canstatina, carboxiamidotriazol y con paclitaxel, EMD121974, S-24, vitaxina, ácido dimetilxantenonaacético, IM862, interleucina-12, interleucina-2, NM-3, HuMV833, PTK787, RhuMab, angiozima (ribozima), IMC-1C11, Neovastat, marimstat, prinomastat, BMS-275291, 40 COL-3, MM1270, SU101, SU6668, SU11248, SU5416, con paclitaxel, con gemcitabina y cisplatino, y con irinotecán y cisplatino y con radiación, tecogalán, temozolomida y PEG interferón  $\alpha 2b$ , tetratiomolibdato, TNP-470, talidomida, CC-5013 y con taxotere, tumstatina, 2-metoxiestradiol, trampa de VEGF, inhibidores de mTOR (deforolimus, everolimus (Afinitor, Novartis Pharmaceutical Corporation) y temsirolimus (Torisel, Pfizer, Inc.)), inhibidores de tirosina cinasas (por ejemplo, erlotinib (Tarceva, Genentech, Inc.), imatinib (Gleevec, Novartis Pharmaceutical Corporation), gefitinib (Iressa, AstraZeneca Pharmaceuticals), dasatinib (Sprycel, Bristol-Myers Squibb), sunitinib (Sutent, Pfizer, Inc.), nilotinib (Tasigna, Novartis Pharmaceutical Corporation), lapatinib (Tykerb, GlaxoSmithKline Pharmaceuticals), sorafenib (Nexavar, Bayer y Onyx), fosfoinositida 3-cinasas (PI3K).

#### 7. Antimetabolitos

50 El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un antimetabolito. Los antimetabolitos son tipos de tratamientos de quimioterapia que son muy similares a las sustancias normales dentro de la célula. Cuando las células incorporan un antimetabolito en el metabolismo celular, el resultado es negativo para la célula, por ejemplo, la célula es incapaz de dividirse. Los antimetabolitos se clasifican según las sustancias con las que interfieren. Ejemplos de antimetabolitos que pueden usarse en los ADC de la invención incluyen, pero no se limitan a, un antagonista de ácido fólico (por ejemplo, metotrexato), un antagonista de pirimidina (por ejemplo, 5-fluorouracilo, foxuridina, citarabina, capecitabina y gemcitabina), un antagonista de purina (por ejemplo, 6-mercaptapurina y 6-tioguanina) y un inhibidor de adenosina desaminasa (por ejemplo, cladribina, fludarabina, nelarabina y pentostatina), como se describen en más detalle a continuación.

**a. Antifolatos**

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un antifolato. Los antifolatos son una subclase de antimetabolitos que son estructuralmente similares al folato. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, metotrexato, ácido 4-amino-fólico (también conocido como aminopterina y ácido 4-aminopterico), lometrexol (LMTX), pemetrexed (Alimpta, Eli Lilly and Company) y trimetrexato (Neutrexin, Ben Venue Laboratories, Inc.)

**b. Antagonistas de purina**

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un antagonista de purina. Los análogos de purina son una subclase de antimetabolitos que son estructuralmente similares al grupo de compuestos conocidos como purinas. Ejemplos representativos de antagonistas de purina incluyen, pero no se limitan a, azatioprina (Azasan, Salix; Imuran, GlaxoSmithKline), cladribine (Leustatin [también conocido como 2-CdA], Janssen Biotech, Inc.), mercaptopurina (Purinethol [también conocido como 6-mercptoethanol], GlaxoSmithKline), fludarabina (Fludara, Genzyme Corporation), pentostatina (Nipent, también conocida como 2'-desoxicoformicina (DCF)), 6-tioguanina (Lanvis [también conocido como tioguanina], GlaxoSmithKline).

**c. Antagonistas de pirimidina**

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un antagonista de pirimidina. Los antagonistas de pirimidina son una subclase de antimetabolitos que son estructuralmente similares al grupo de compuestos conocidos como purinas. Ejemplos representativos de antagonistas de pirimidina incluyen, pero no se limitan a, azacitidina (Vidaza, Celgene Corporation), capecitabina (Xeloda, Roche Laboratories), citarabina (también conocida como citosina arabinósido y arabinosilcitosina, Bedford Laboratories), decitabina (Dacogen, Eisai Pharmaceuticals), 5-fluorouracilo (Adrucil, Teva Pharmaceuticals; Efudex, Valeant Pharmaceuticals, Inc), 5'-fosfato de 5-fluoro-2'-desoxiuridina (FdUMP), trifosfato de 5-fluorouridina y gemcitabina (Gemzar, Eli Lilly and Company).

**8. Agentes que contienen boro**

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un agente que contiene boro. Los agentes que contienen boro comprenden una clase de cáncer compuestos terapéuticos que interfieren con la proliferación celular. Ejemplos representativos de agentes que contienen boro incluyen, pero no se limitan a, boroficina y bortezomib (Velcade, Millenium Pharmaceuticals)).

**9. Agentes quimioprotectores**

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un agente quimioprotector. Los fármacos quimioprotectores son una clase de compuestos que ayudan a proteger el cuerpo contra efectos tóxicos específicos de la quimioterapia. Los agentes quimioprotectores pueden administrarse con diversas quimioterapias con el fin de proteger las células sanas de los efectos tóxicos de los fármacos de quimioterapia, mientras que permiten simultáneamente que las células cancerosas sean tratadas con el quimioterapéutico administrado. Agentes quimioprotectores representativos incluyen, pero no se limitan a, amifostina (Ethylol, Medimmune, Inc.), que se usa para reducir la toxicidad renal asociada a dosis acumuladas de cisplatino, dexrazoxana (Totect, Apricus Pharma; Zinecard), para el tratamiento de extravasación producida por la administración de antraciclina (Totect), y para el tratamiento de complicaciones relacionadas con cardíacas producidas por la administración del antibiótico antitumoral doxorubicina (Zinecard), y mesna (Mesnex, Bristol-Myers Squibb), que se usa para prevenir la cistitis hemorrágica durante el tratamiento de quimioterapia con ifocfamida.

**10. Agentes de hormona**

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un agente de hormona. Un agente de hormona (incluyendo hormonas sintéticas) es un compuesto que interfiere con la producción o actividad de hormonas endógenamente producidas del sistema endocrino. En algunas realizaciones, estos compuestos interfieren con el crecimiento celular o producen un efecto citotóxico. Ejemplos no limitantes incluyen andrógenos, estrógenos, acetato de medroxiprogesterona (Provera, Pfizer, Inc.), y progestinas.

**11. Agentes antihormonales**

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un agente antihormonal. Un agente "antihormona" es un agente que suprime la producción de y/o previene la función de ciertas hormonas endógenas. En una realización, el agente antihormona interfiere con la actividad de una hormona seleccionada del grupo que comprende andrógenos, estrógenos, progesterona y hormona liberadora de gonadotropina, interfiriendo así con el crecimiento de diversas células cancerosas. Ejemplos representativos de agentes antihormona incluyen, pero no se limitan a, aminoglutetimida, anastrozol (Arimidex, AstraZeneca Pharmaceuticals), bicalutamida (Casodex, AstraZeneca Pharmaceuticals), acetato de ciproterona (Cyprostat, Bayer PLC), degarelix (Firmagon, Ferring Pharmaceuticals), exemestano (Aromasin, Pfizer Inc.), flutamida (Drogenil, Schering-Plough Ltd), fulvestrant (Faslodex, AstraZeneca Pharmaceuticals), goserelina (Zolodex, AstraZeneca Pharmaceuticals), letrozol (Femara,

Novartis Pharmaceuticals Corporation), leuprolida (Prostap), lupron, acetato de medroxiprogesterona (Provera, Pfizer Inc.), acetato de megestrol (Megace, Bristol-Myers Squibb Company), tamoxifeno (Nolvadex, AstraZeneca Pharmaceuticals) y triptorelina (Decapetyl, Ferring).

## 12. Corticosteroides

- 5 El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un corticosteroide. Los corticosteroides pueden usarse en los ADC de la invención para reducir la inflamación. Un ejemplo de un corticosteroide incluye, pero no se limita a, un glucocorticoide, por ejemplo, prednisona (Deltasone, Pharmacia & Upjohn Company, una división de Pfizer, Inc.).

## 13. Agentes terapéuticos fotoactivos

- 10 El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un agente terapéutico fotoactivo. Los agentes terapéuticos fotoactivos incluyen compuestos que pueden ser utilizados para destruir células tratadas tras la exposición a radiación electromagnética de una longitud de onda particular. Compuestos terapéuticamente preferidos, el compuesto se administra en una forma no tóxica que es capaz de producir un efecto fotoquímico que es tóxico para las células o tejido tras activación suficiente. En otras realizaciones preferidas, estos compuestos son retenidos por tejido canceroso y son fácilmente eliminados de tejidos normales. Ejemplos no limitantes incluyen diversos cromógenos y colorantes.
- 15

## 14. Oligonucleótidos

- 20 El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un oligonucleótido. Los oligonucleótidos están hechos de cadenas de ácidos nucleicos cortas que funcionan interfiriendo con el procesamiento de información genética. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos para su uso en ADC son moléculas de ADN o de ARN monocatenario y/o bicatenario sin modificar, mientras que en otras realizaciones, estos oligonucleótidos terapéuticos son moléculas de ADN o de ARN monocatenario y/o bicatenario químicamente modificadas. En una realización, los oligonucleótidos usados en los ADC son relativamente cortos (19-25 nucleótidos) y se hibridan con una secuencia de ácidos nucleicos única en el conjunto total de dianas de ácido nucleico presentes en las células. Algunas de las tecnologías de oligonucleótidos importantes incluyen los oligonucleótidos antisentido (incluyendo interferencia por ARN (iARN)), aptámeros, oligonucleótidos CpG y ribozimas.
- 25

### a. Oligonucleótidos antisentido

- 30 El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un oligonucleótido antisentido. Los oligonucleótidos antisentido se diseñan para unirse a ARN mediante hibridación de Watson-Crick. En algunas realizaciones, el oligonucleótido antisentido es complementario a un nucleótido que codifica una región, dominio, porción o segmento de PRLR. En algunas realizaciones, el oligonucleótido antisentido comprende de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 nucleótidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 nucleótidos, de aproximadamente 12 a aproximadamente 35, y de aproximadamente 18 a aproximadamente 25 nucleótidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido es al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 %, o al menos el 100 % homólogo a una región, porción, dominio, o segmento del gen de PRLR. En algunas realizaciones hay homología de secuencias sustancial en al menos 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50 o 100 nucleótidos consecutivos del gen de PRLR. En realizaciones preferidas, el tamaño de estos oligonucleótidos antisentido oscila de 12 a 25 nucleótidos de longitud, teniendo la mayoría de oligonucleótidos antisentido 18 a 21 nucleótidos de longitud. Hay múltiples mecanismos que pueden ser explotados para inhibir la función del ARN una vez el oligonucleótido se une al ARN diana (Crooke ST. (1999). *Biochim. Biophys. Acta*, 1489, 30-42). El mecanismo antisentido mejor caracterizado produce escisión del ARN elegido como diana por nucleasas celulares endógenas, tales como RNasa H o la nucleasa asociada al mecanismo de interferencia por ARN. Sin embargo, los oligonucleótidos que inhiben la expresión del gen diana por mecanismos no catalíticos, tales como la modulación del corte y empalme o parada de la traducción, también pueden ser moduladores potentes y selectivos de la función del gen.
- 35
- 40
- 45

- Otro mecanismo antisentido dependiente de RNasa que ha recibido recientemente mucha atención es iARN (Fire et al. (1998). *Nature*, 391, 806-811; Zamore PD. (2002). *Science*, 296, 1265-1269). La interferencia por ARN (iARN) es un proceso postranscripcional donde un ARN bicatenario inhibe la expresión génica en un modo específico de secuencia. En algunas realizaciones, el efecto de iARN se logra mediante la introducción de ARN bicatenario (ARNbc) relativamente más largo, mientras que en realizaciones preferidas, este efecto de iARN se logra por la introducción de ARN bicatenarios más cortos, por ejemplo ARN interferente pequeño (ARNip) y/o microARN (miARN). En otra realización más, la iARN también puede lograrse mediante la introducción de plásmido que genera ARNbc complementario al gen diana. En cada una de las realizaciones anteriores, el ARN bicatenario se diseña para interferir con la expresión génica de una secuencia diana particular dentro de las células. Generalmente, el mecanismo implica la conversión de ARNbc en ARN cortos que dirigen ribonucleasas a dianas de ARNm homólogo (resumido, Ruvkun, *Science* 2294:797 (2001)), que entonces degrada el ARNm endógeno correspondiente,
- 50
- 55



produciendo así la modulación de la expresión génica. En particular, se ha informado que el ARNbc tiene propiedades antiproliferativas, que hace posible también concebir aplicaciones terapéuticas (Aubel et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 88:906 (1991)). Por ejemplo, se ha mostrado que el ARNbc sintético inhibe el crecimiento tumoral en ratones (Levy et al. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 62:357-361 (1969)), es activo en el tratamiento de ratones leucémicos (Zeleznick et al., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130:126-128 (1969)), e inhibe la tumorigénesis químicamente inducida en piel de ratón (Gelboin et al., Science 167:205-207 (1970)). Así, en una realización preferida, la invención proporciona el uso de oligonucleótidos antisentido en ADC para el tratamiento de cáncer de mama. En otras realizaciones, la invención proporciona composiciones y métodos para iniciar el tratamiento de oligonucleótidos antisentido, en el que el ARNbc interfiere con la expresión de células diana de PRLR al nivel de ARNm. ARNbc, como se usa anteriormente, se refiere a ARN que existe de forma natural, ARN parcialmente purificado, ARN recombinantemente producido, ARN sintético, además de ARN alterado que se diferencia del ARN que existe de forma natural por la inclusión de nucleótidos no estándar, material no de nucleótido, análogos de nucleótidos (por ejemplo, ácido nucleico bloqueado (LNA)), desoxirribonucleótidos, y cualquier combinación de los mismos. El ARN de la presente invención solo necesita ser suficientemente similar al ARN natural que tiene la capacidad de mediar en la modulación basada en oligonucleótidos antisentido descrita en el presente documento.

### b. Aptámeros

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un aptámero. Un aptámero es una molécula de ácido nucleico que se ha seleccionado de conjuntos al azar basados en su capacidad para unirse a otras moléculas. Al igual que los anticuerpos, los aptámeros pueden unirse a moléculas diana con afinidad y especificidad extraordinarias. En muchas realizaciones, los aptámeros adoptan formas tridimensionales complejas dependientes de secuencia, que les permite interactuar con una proteína diana, produciendo un complejo fuertemente unido análogo a una interacción anticuerpo-antígeno, interfiriendo así con la función de dicha proteína. La capacidad particular de los aptámeros para unirse fuertemente y específicamente a su proteína diana enfatiza su potencial como terapias moleculares dirigidas.

### c. Oligonucleótidos CpG

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un oligonucleótido CpG. Se sabe que los ADN bacterianos y virales son fuertes activadores de tanto la inmunidad innata como específica en seres humanos. Estas características inmunológicas se han asociado a motivos de dinucleótido CpG no metilados encontrados en ADN bacteriano. Debido al hecho de que estos motivos son raros en seres humanos, el sistema inmunitario humano ha desarrollado la capacidad de reconocer estos motivos como una indicación temprana de infección y posteriormente inician respuestas inmunitarias. Por tanto, los oligonucleótidos que contienen este motivo CpG pueden ser explotados para iniciar una respuesta inmunitaria antitumoral.

### d. Ribozimas

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos una ribozima. Las ribozimas son moléculas de ARN catalíticas que oscilan de aproximadamente 40 a 155 nucleótidos de longitud. La capacidad de las ribozimas para reconocer y cortar moléculas de ARN específicas hace que sean posibles candidatos para agentes terapéuticos. Un ejemplo representativo incluye angiozima.

### 15. Agentes de radionúclido (isótopos radiactivos)

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un agente de radionúclido. Los agentes de radionúclido comprenden agentes que se caracterizan por un núcleo inestable que es capaz de experimentar desintegración radiactiva. La base para el satisfactorio tratamiento con radionúclidos depende de la suficiente concentración y prolongada retención del radionúclido por la célula cancerosa. Otros factores a considerar incluyen la semivida del radionúclido, la energía de las partículas emitidas, y el máximo intervalo que puede desplazarse la partícula emitida. En realizaciones preferidas, el agente terapéutico es un radionúclido seleccionado del grupo que consiste en  $^{111}\text{In}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{213}\text{Bi}$ ,  $^{211}\text{At}$ ,  $^{62}\text{Cu}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{111}\text{Ag}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{166}\text{Dy}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{189}\text{Re}$ ,  $^{212}\text{Pb}$ ,  $^{223}\text{Ra}$ ,  $^{225}\text{Ac}$ ,  $^{59}\text{Fe}$ ,  $^{75}\text{Se}$ ,  $^{77}\text{As}$ ,  $^{89}\text{Sr}$ ,  $^{99}\text{Mo}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{143}\text{Pr}$ ,  $^{149}\text{PM}$ ,  $^{169}\text{Er}$ ,  $^{194}\text{Ir}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{199}\text{Au}$  y  $^{211}\text{Pb}$ . También se prefieren radionúclidos que se desintegran sustancialmente con partículas emisoras de Auger. Por ejemplo, Co-58, Ga-67, Br-80m, Tc-99m, Rh-103m, Pt-109, In-111, Sub-119, I-125, Ho-161, Os-189m e Ir-192. Las energías de desintegración de núclidos emisores de partículas beta útiles son preferentemente Dy-152, At-211, Bi-212, Ra-223, Rn-219, Po-215, Bi-211, Ac-225, Fr-221, At-217, Bi-213 y Fm-255. energías de desintegración de radionúclidos emisores de partículas alfa útiles son preferentemente 2.000-10.000 keV, más preferentemente 3.000-8.000 keV, y lo más preferentemente 4.000-7.000 keV. Posibles radioisótopos adicionales útiles incluyen  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{75}\text{Br}$ ,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{224}\text{Ac}$ ,  $^{126}\text{I}$ ,  $^{133}\text{I}$ ,  $^{77}\text{Br}$ ,  $^{113\text{m}}\text{In}$ ,  $^{95}\text{Ru}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{103}\text{Ru}$ ,  $^{105}\text{Ru}$ ,  $^{107}\text{Hg}$ ,  $^{203}\text{Hg}$ ,  $^{121\text{m}}\text{Te}$ ,  $^{122\text{m}}\text{Te}$ ,  $^{125\text{m}}\text{Te}$ ,  $^{165}\text{Tm}$ ,  $^{167}\text{Tm}$ ,  $^{168}\text{Tm}$ ,  $^{197}\text{Pt}$ ,  $^{109}\text{Pd}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{142}\text{Pr}$ ,  $^{143}\text{Pr}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{199}\text{Au}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{58}\text{Co}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{59}\text{Fe}$ ,  $^{75}\text{Se}$ ,  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{225}\text{Ac}$ ,  $^{76}\text{Br}$ ,  $^{169}\text{Yb}$ , y similares.

### 16. Radiosensibilizadores

El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un radiosensibilizador. El término "radiosensibilizador", como se usa en el presente documento, se define como una molécula, preferentemente una

- molécula de bajo peso molecular, administrada a animales en cantidades terapéuticamente eficaces para aumentar la sensibilidad de las células que van a ser radiosensibilizadas a radiación electromagnética y/o para promover el tratamiento de enfermedades que son tratables con radiación electromagnética. Los radiosensibilizadores son agentes que hacen que las células cancerosas sean más sensibles a la radioterapia, mientras que normalmente tiene mucho menos de un efecto sobre las células normales. Así, el radiosensibilizador puede usarse en combinación con un anticuerpo radiomarcado o ADC. La adición del radiosensibilizador puede producir eficacia potenciada cuando se compara con el tratamiento con el anticuerpo radiomarcado o fragmento de anticuerpo solo. Los radiosensibilizadores se describen en D. M. Goldberg (ed.), *Cancer Therapy with Radiolabeled Antibodies*, CRC Press (1995). Ejemplos de radiosensibilizadores incluyen gemcitabina, 5-fluorouracilo, taxano y cisplatino.
- Los radiosensibilizadores pueden ser activados por la radiación electromagnética de rayos X. Ejemplos representativos de radiosensibilizadores activados por rayos X incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, E09, RB 6145, nicotinamida, 5-bromodesoxiuridina (BUdR), 5-yododesoxiuridina (IUdR), bromodesoxicidina, fluorodesoxiuridina (FUdR), hidroxurea, cisplatino, y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.
- Alternativamente, los radiosensibilizadores pueden activarse usando terapia fotodinámica (PDT). Ejemplos representativos de radiosensibilizadores fotodinámicos incluyen, pero no se limitan a, derivados de hematoporfirina, Photofrin(r), derivados de benzoporfirina, NPe6, etioporfirina de estaño (SnET2), feorbordina a, bacterioclorofila a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de cinc, y análogos y derivados terapéuticamente eficaces de los mismos.

### 17. Inhibidores de la topoisomerasa

- El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un inhibidor de la topoisomerasa. Los inhibidores de la topoisomerasa son agentes de quimioterapia diseñados para interferir con la acción de enzimas de topoisomerasa (topoisomerasa I y II), que son enzimas que controlan los cambios en la estructura de ADN catalizando, luego rompiendo y volviendo a unir el esqueleto fosfodiéster de las hebras de ADN durante el ciclo celular normal. Ejemplos representativos de inhibidores de la ADN topoisomerasa I incluyen, pero no se limitan a, camptotecinas y sus derivados irinotecán (CPT-11, Camptosar, Pfizer, Inc.) y topotecán (Hycamtin, GlaxoSmithKline Pharmaceuticals). Ejemplos representativos de inhibidores de la ADN topoisomerasa II incluyen, pero no se limitan a, amsacrina, daunorubicina, doxorubicina, epipodofilotoxinas, elipticinas, epirubicina, etopósido, razoxano y tenipósido.

### 18. Inhibidores de tirosina cinasas

- El anticuerpo anti-PRLR de la invención puede conjugarse con al menos un inhibidor de tirosina cinasas. Las tirosina cinasas son enzimas dentro de la célula que funcionan uniéndose a grupos fosfato al aminoácido tirosina. Bloqueando la capacidad de las proteínas tirosina cinasas para funcionar, puede inhibirse el crecimiento tumoral. Ejemplos de tirosina cinasas que pueden usarse en los ADC de la invención incluyen, pero no se limitan a, axitinib, bosutinib, cediranib, dasatinib, erlotinib, gefitinib, imatinib, lapatinib, lestaurtinib, nilotinib, semaxanib, sunitinib y vandetanib.

### 19. Otros agentes

- Ejemplos de otros agentes que pueden usarse en los ADC de la invención incluyen, pero no se limitan a, abrina (por ejemplo, cadena A de abrina), toxina alfa, proteínas de *Aleurites fordii*, amatoxina, crotina, curcina, proteínas de diantina, toxina diftérica (por ejemplo, cadena A de la difteria y fragmentos activos no de unión de toxina diftérica), desoxirribonucleasa (DNasa), gelonina, mitogelina, cadena A de modicina, inhibidor de *Momordica charantia*, neomicina, onconasa, fenomicina, proteínas de *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), proteína antiviral de hierba carmín, endotoxina de *Pseudomonas*, exotoxina de *Pseudomonas* (por ejemplo, cadena A de exotoxina (de *Pseudomonas aeruginosa*)), restrictocina, cadena A de ricina, ribonucleasa (Rnasa), inhibidor de *Saponaria officinalis*, saporina, alfa-sarcina, enterotoxina-A estafilocócica, toxina tetánica, cisplatino, carboplatino y oxaliplatino (Eloxatin, Sanofi Aventis), inhibidores del proteasoma (por ejemplo, PS-341 [bortezomib o Velcade]), inhibidores de HDAC (vorinostat (Zolinza, Merck & Company, Inc.)), belinostat, entinostat, mocetinostat y panobinostat), inhibidores de COX-2, ureas sustituidas, inhibidores de proteínas de choque térmico (por ejemplo, geldanamycin y sus numerosos análogos), supresores adrenocorticales, y los tricotecenos (véase, por ejemplo, el documento WO 93/21232). Otros agentes también incluyen asparaginasa (Espar, Lundbeck Inc.), hidroxurea, levamisol, mitotano (Lysodren, Bristol-Myers Squibb) y tretinoína (Renova, Valeant Pharmaceuticals Inc.).
- Debe observarse que los grupos anteriormente mencionados de restos de fármacos que pueden usarse en los ADC anti-PRLR de la invención no son excluyentes, ya que ciertos ejemplos de fármacos pueden encontrarse en más de una categoría, por ejemplo, las ansamitocinas son tanto inhibidores mitóticos como antibióticos antitumorales.

Todos los estereoisómeros de los restos de fármaco anteriores se contemplan para los compuestos de la invención, es decir, cualquier combinación de configuraciones R y S en los carbonos quirales de D.

- Los agentes anteriores (es decir, agentes desnudos no conjugados con un anticuerpo) también pueden usarse en terapias de combinación con los anticuerpos anti-PRLR descritos en el presente documento. En una realización, los anticuerpos anti-PRLR de la invención se usan con cualquiera de los agentes anteriores en una terapia de

combinación para tratar cáncer, donde el agente se administra antes de, al mismo tiempo que, o tras la administración del anticuerpo anti-PRLR al sujeto.

## B. Conectores

5 La presente invención proporciona ADC anti-PRLR para la administración dirigida de fármacos. El ADC anti-PRLR de la invención comprende un anticuerpo anti-PRLR de la invención y un fármaco, por lo que el anticuerpo y el fármaco pueden unirse mediante un conector. Así, en un aspecto, el conjugado anticuerpo-fármaco (ADC) comprende un conector, un fármaco citotóxico y un anticuerpo anti-PRLR. El término "conector", como se usa en el presente documento, se refiere a un resto químico que comprende un enlace covalente o una cadena de átomos que une covalentemente un anticuerpo a un resto de fármaco. Se prepara un ADC usando un conector que tiene 10 funcionalidad reactiva para unirse al anticuerpo y el fármaco. Por ejemplo, un tiol de cisteína, o una amina, por ejemplo, cadena lateral del extremo N o de aminoácido tal como lisina, del anticuerpo pueden formar un enlace con un grupo funcional del conector.

Los conectores son preferentemente estable extracelularmente. Antes del transporte o administración en una célula, el ADC es preferentemente estable y sigue intacto, es decir, el anticuerpo sigue unido al resto de fármaco. Los 15 conectores son estables fuera de la célula diana y pueden ser escindidos a cierta velocidad eficaz dentro de la célula. Un conector eficaz: (i) mantendrá las propiedades de unión específica del anticuerpo; (ii) permitirá la administración, por ejemplo, administración intracelular, del conjugado o resto de fármaco; y (iii) mantendrá un efecto citotóxico destructor de células, un efecto citostático, o de otro modo un efecto terapéutico de un resto de fármaco. La estabilidad del ADC puede medirse por técnicas analíticas convencionales tales como espectroscopía de masas, 20 HPLC y la técnica de separación/análisis EM/CL.

Generalmente, los ADC comprenden un anticuerpo unido covalentemente a al menos una unidad de fármaco. La(s) 25 unidad(es) de fármaco pueden estar directamente covalentemente unidas o mediante un conector. La unión covalente del anticuerpo y el resto de fármaco requiere que el conector tenga dos grupos funcionales reactivos, es decir, bivalencia en un sentido reactivo. Se conocen reactivos de conector bivalentes que son útiles para unirse a dos o más restos funcionales o biológicamente activos, tales como péptidos, ácidos nucleicos, fármacos, toxinas, anticuerpos, haptenos y grupos indicadores, y se han descrito métodos de sus conjugados resultantes (Hermanson, G. T. (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press: New York, p234-242).

En algunos aspectos, el ADC tiene la siguiente fórmula (fórmula I):



30 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma; en la que:

L es el anticuerpo, por ejemplo, anticuerpo anti-PRLR de la presente invención, y

(LU-D) es un conector-resto de fármaco, en el que:

LU- es una unidad de conector (también denominado un conector), y

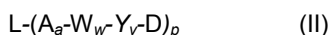
35 -D es un resto de fármaco que tiene, por ejemplo, actividad citostática, citotóxica, o de otro modo terapéutica contra una célula diana, por ejemplo, una célula que expresa PRLR; y

p es un número entero de 1 a 20.

En algunos aspectos, p oscila de 1 a 10, 1 a 9, 1 a 8, 1 a 7, 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, o 1 a 2. En algunos aspectos, p oscila de 2 a 10, 2 a 9, 2 a 8, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4 o 2 a 3. En otros aspectos, p es 1, 2, 3, 4, 5 o 6. En algunos aspectos, p es 2, 4, 6 u 8.

40 En algunos aspectos, los restos -D son los mismos. En otro aspecto más, los restos -D son diferentes.

En algunos aspectos, el ADC tiene la siguiente fórmula (II):



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma; en la que:

L es el anticuerpo, por ejemplo, anticuerpo anti-PRLR, y

45 -A<sub>a</sub>-W<sub>w</sub>-Y<sub>Y</sub>- es una unidad de conector (LU), en la que:

-A- es una unidad extensora opcional,

a es 0 o 1,

cada -W- es independientemente una unidad de aminoácido (o en algunos aspectos, una unidad de glucurónido, véase también la publicación de EE.UU. N.º 2012/0107332 A1),

w es un número entero que oscila de 0 a 12,

-Y- es una unidad de espaciador auto-inmolutivo,

5 y es 0, 1 o 2;

-D es una unidad de fármaco que tiene, por ejemplo, actividad citostática, citotóxica, o de otro modo terapéutica contra la célula diana, por ejemplo, célula que expresa PRLR; y

p es un número entero de 1 a 20.

10 En algunos aspectos, a es 0 o 1, w es 0 o 1, e y es 0, 1 o 2. En algunos aspectos, a es 0 o 1, w es 0 o 1, e y es 0 o 1. En algunos aspectos, p oscila de 1 a 10, 1 a 9, 1 a 8, 1 a 7, 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, o 1 a 2. En algunos aspectos, p oscila de 2 a 8, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4 o 2 a 3. En otros aspectos, p es 1, 2, 3, 4, 5 o 6. En algunos aspectos, p es 2 o 4. En algunos aspectos, cuando w no es cero, y es 1 o 2. En algunos aspectos, cuando w es 1 a 12, y es 1 o 2. En algunos aspectos, w es 2 a 12 e y es 1 o 2. En algunos aspectos, a es 1 y w e y son 0.

15 Para composiciones que comprenden una pluralidad de anticuerpos, la carga de fármaco se representa por p, el número promedio de moléculas de fármaco por anticuerpo. La carga de fármaco puede oscilar de 1 a 20 fármacos (D) por anticuerpo. El número promedio de fármacos por anticuerpo en la preparación de reacciones de conjugación puede caracterizarse mediante medios convencionales tales como espectroscopía de masas, ensayo de ELISA y HPLC. También puede determinarse la distribución cuantitativa de ADC en términos de p. En algunos casos, puede lograrse la separación, purificación y caracterización de ADC homogéneos donde p es un cierto valor de ADC con  
20 otras cargas de fármaco por medios tales como HPLC de fase inversa o electroforesis. En aspectos a modo de ejemplo, p es de 2 a 8.

La generación de ADC puede llevarse a cabo por cualquier técnica conocida para el experto. Los ADC de la invención comprenden anticuerpos anti-PRLR descritos en el presente documento, un fármaco, y opcionalmente un conector que une el fármaco y el anticuerpo. En un aspecto, el anticuerpo es un anticuerpo anti-PRLR que  
25 comprende al menos una región variable expuesta en SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44; SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 52; SEQ ID NO: 53; SEQ ID NO: 54; SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60; SEQ ID NO: 61; SEQ ID NO: 64; SEQ ID NO: 68; SEQ ID NO: 69; SEQ ID NO: 70; SEQ ID NO: 74; SEQ ID NO: 75; SEQ ID NO: 76; SEQ ID NO: 78; SEQ ID NO: 82; SEQ ID NO: 83; SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; SEQ ID NO: 90; SEQ ID NO: 91; SEQ ID NO: 95; SEQ ID NO: 96; SEQ ID NO: 103; SEQ ID NO: 104; SEQ ID NO: 105; SEQ ID NO: 106; SEQ ID NO: 107; SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 109; SEQ ID NO: 110; SEQ ID NO: 111; SEQ ID NO: 112; SEQ ID NO: 113; SEQ ID NO: 114; SEQ ID NO: 115; SEQ ID NO: 116; SEQ ID NO: 117; SEQ ID NO: 118; SEQ ID NO: 119; SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 121; SEQ ID NO: 122 y SEQ ID NO: 123. Están disponibles varias reacciones diferentes para la unión covalente de  
35 fármacos y conectores a anticuerpos. Esto pueden llevarse a cabo haciendo reaccionar los restos de aminoácidos del anticuerpo, que incluyen los grupos amina de lisina, los grupos ácido carboxílico libres de ácido glutámico y aspártico, los grupos sulfhidrilo de cisteína y los diversos restos de los aminoácidos aromáticos. Uno de los métodos no específicos más comúnmente usados de unión covalente es la reacción de carbodimida para unir un grupo carboxi (o amino) de un compuesto con grupos amino (o carboxi) del anticuerpo. Adicionalmente, se han usado agentes bifuncionales tales como dialdehídos o imidoésteres para unir el grupo amino de un compuesto a grupos amino de un anticuerpo. También está disponible para la unión de fármacos a anticuerpos la reacción de bases de Schiff. Este método implica la oxidación con peryodato de un fármaco que contiene grupos glicol o hidroxilo, formando así un aldehído que luego se hace reaccionar con el agente de unión. La unión se produce mediante la formación de una base de Schiff con grupos amino del anticuerpo. También pueden usarse isotiocianatos como agentes de  
40 acoplamiento para unir covalentemente los fármacos a anticuerpos. Otras técnicas son conocidas para el experto y están dentro del alcance de la presente invención.

En ciertos aspectos, un producto intermedio, que es el precursor del conector, se hace reaccionar con el fármaco en condiciones apropiadas. En ciertos aspectos, se usan grupos reactivos en el fármaco o el producto intermedio. El producto de la reacción entre el fármaco y el producto intermedio, o el fármaco derivatizado, se hace reaccionar posteriormente con el anticuerpo anti-PRLR en condiciones apropiadas. La síntesis y estructura de conectores, unidades extensoras, unidades de aminoácido, unidades de espaciador auto-inmolutivo a modo de ejemplo se describen en las publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. N.º 20030083263, 20050238649 y 20050009751. Ejemplos de conectores se proporcionan a continuación.

En un aspecto preferido, el conector no es sustancialmente sensible al entorno extracelular. Como se usa en el presente documento, "no sustancialmente sensible al entorno extracelular", en el contexto de un conector, significa  
55 que no más de aproximadamente el 20 %, normalmente no más de aproximadamente el 15 %, más normalmente no más de aproximadamente el 10 %, e incluso más normalmente no más de aproximadamente el 5 %, no más de aproximadamente el 3 %, o no más de aproximadamente el 1 % de los conectores, en una muestra de compuesto de conjugado anticuerpo-fármaco, se escinden cuando el ADC está presente en un entorno extracelular (por

ejemplo, en plasma). Si un conector no es sustancialmente sensible al entorno extracelular puede determinarse, por ejemplo, incubando con plasma el compuesto de conjugado anticuerpo-fármaco durante un periodo de tiempo predeterminado (por ejemplo, 2, 4, 8, 16 o 24 horas) y luego cuantificando la cantidad de fármaco libre presente en el plasma.

- 5 En algunos aspectos, el conector es escindible en condiciones intracelulares, de forma que la escisión del conector libera la unidad de fármaco del anticuerpo en el entorno intracelular. En algunos aspectos, el conector escindible es sensible al pH, es decir, sensible a la hidrólisis a ciertos valores de pH. Normalmente, el conector sensible al pH es hidrolizable en condiciones ácidas. Por ejemplo, puede usarse un conector lábil en ácidos que es hidrolizable en el lisosoma (por ejemplo, una hidrazona, semicarbazona, tiosemicarbazona, amida cis-aconítica, ortoéster, acetal, cetal, o similares) (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N.º 5.122.368; 5.824.805; 5.622.929; Dubowchik y Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123; Neville et al., 1989, *Biol. Chem.* 264:14653-14661). Tales conectores son relativamente estables en condiciones de pH neutro, tales como aquellas en la sangre, pero son inestables a pH inferior a 5,5 o 5,0, el pH aproximado del lisosoma. En ciertos aspectos, el conector hidrolizable es un conector de tioéster (tal como, por ejemplo, un tioéster unido al agente terapéutico mediante un enlace de acilhidrazona (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N.º 5.622.929).

En otros aspectos, el conector es escindible en condiciones reductoras (por ejemplo, un conector de disulfuro). Se conocen en la técnica una variedad de conectores de disulfuro, que incluyen, por ejemplo, aquellos que pueden formarse usando SATA (N-succinimidil-5-acetiltioacetato), SPDP (N-succinimidil-3-(2-piridilditio)propionato), SPDB (N-succinimidil-3-(2-piridilditio)butirato) y SMPT (N-succinimidiloxicarbonil-alfa-metil-alfa-(2-piridil-ditio)tolueno), SPDB y SMPT (véanse, por ejemplo, Thorpe et al., 1987, *Cancer Res.* 47:5924-5931; Wawrzynczak et al., en *Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimaging and Therapy of Cancer* (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987. Véase también la patente de EE.UU. N.º 4.880.935).

En algunos aspectos, el conector es escindible por un agente de escisión, por ejemplo, una enzima, que está presente en el entorno intracelular (por ejemplo, dentro de un lisosoma o caveolas de endosoma). El conector puede ser, por ejemplo, un conector de peptidilo que se escinde por una peptidasa intracelular o enzima proteasa, que incluye, pero no se limita a, una proteasa lisosómica o endosómica. En algunos aspectos, el conector de peptidilo tiene al menos dos aminoácidos de longitud o al menos tres aminoácidos de longitud. Los agentes de escisión pueden incluir catepsinas B y D y plasmina, que se sabe que hidrolizan los derivados de fármaco de dipéptido produciendo la liberación de fármaco activo dentro de células diana (véase, por ejemplo, Dubowchik y Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123). Los más típicos son los conectores de peptidilo que son escindibles por enzimas que están presentes en células que expresan PRLR. Ejemplos de tales conectores se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. N.º 6.214.345. En un aspecto específico, el conector de peptidilo escindible por una proteasa intracelular es un conector Val-Cit o un conector Phe-Lys (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N.º 6.214.345, que describe la síntesis de doxorubicina con el conector val-cit). Una ventaja de usar la liberación proteolítica intracelular del agente terapéutico es que el agente normalmente se atenúa cuando se conjuga y las estabildades del suero de los conjugados son normalmente altas.

En otros aspectos, el conector de ADC de la divulgación es un conector de malonato (Johnson et al., 1995, *Anticancer Res.* 15:1387-93), un conector de maleimidobenzóilo (Lau et al., 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1299-1304), o un análogo de 3'-N-amida (Lau et al., 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10): 1305-12).

40 En aún otros aspectos, la unidad de conector no es escindible y el fármaco es liberado, por ejemplo, por degradación del anticuerpo. Véase la publicación de EE.UU. N.º 20050238649. Puede diseñarse un ADC que comprende un conector no escindible de forma que el ADC permanezca sustancialmente fuera de la célula e interaccione con ciertos receptores en una superficie de célula diana de forma que la unión del ADC inicie (o prevenga) una vía de señalización celular particular.

45 En algunos aspectos, la unidad de conector es un conector sustancialmente hidrófilo (por ejemplo, PEG4Mal y sulfo-SPDB). Puede usarse un conector hidrófilo para prevenir que el fármaco sea bombeado fuera de las células cancerosas resistentes mediante MDR (multirresistencia) o transportadores funcionalmente similares.

En otros aspectos, tras la escisión, el conector funciona inhibiendo directamente o indirectamente el crecimiento celular y/o proliferación celular. Por ejemplo, en algunos aspectos, el conector, tras la escisión, puede funcionar de agente intercalante, inhibiendo así la biosíntesis macromolecular (por ejemplo, replicación de ADN, transcripción de ARN y/o síntesis de proteínas).

En otros aspectos, el conector se diseña para facilitar la destrucción por vecindad (la destrucción de células vecinas) mediante la difusión de la unidad de conector-fármaco y/o el fármaco solo a las células vecinas. En otros aspectos, el conector promueve la internalización celular.

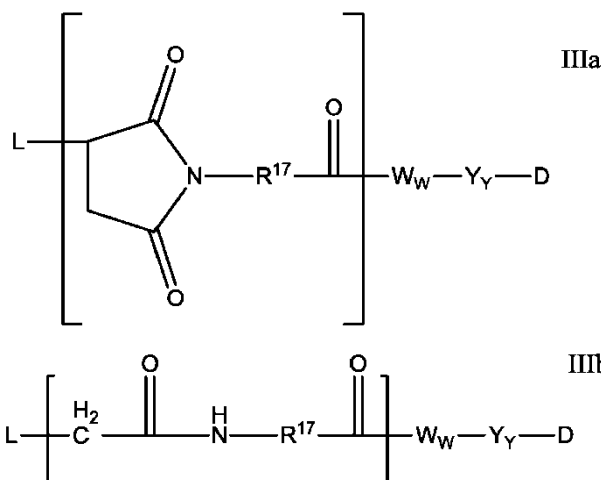
55 La presencia de un disulfuro estéricamente impedido puede aumentar la estabilidad de un enlace disulfuro particular, potenciando la potencia del ADC. Así, en un aspecto, el conector incluye un enlace disulfuro estéricamente impedido. Un disulfuro estéricamente impedido se refiere a un enlace disulfuro presente dentro de un entorno molecular particular, en el que el entorno se caracteriza por una disposición espacial u orientación particular de

átomos, normalmente dentro de la misma molécula o compuesto, que previene o al menos inhibe parcialmente la reducción del enlace disulfuro. Así, la presencia de restos químicos voluminosos (o que impiden estéricamente) y/o cadenas laterales de aminoácidos voluminosos proximales al enlace disulfuro previene o al menos inhibe parcialmente el enlace disulfuro de posibles interacciones que producirían la reducción del enlace disulfuro.

- 5 En particular, los tipos de conectores anteriormente mencionados no son mutuamente excluyentes. Por ejemplo, en un aspecto, el conector usado en el ADC de la divulgación es un conector no escindible que promueve la internalización celular.

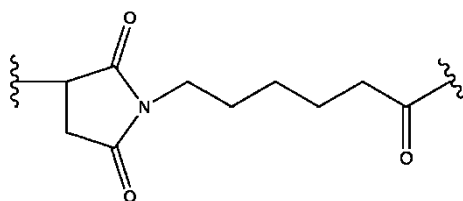
Como se describe en la fórmula II anterior, en algunos aspectos, el ADC anti-PRLR de la divulgación incluye una unidad extensora (A), cuando está presente, es capaz de unir un anticuerpo a una unidad de aminoácido (-W-), si está presente, a una unidad espaciadora (-Y-), si está presente; o a un fármaco (-D) (véase la fórmula II). Grupos funcionales útiles que pueden estar presentes en los anticuerpos anti-PRLR descritos en el presente documento, ya sea naturalmente o mediante manipulación química, incluyen, pero no se limitan a, sulfhidrilo, amino, hidroxilo, el grupo hidroxilo anomérico de un hidrato de carbono, y carboxilo. Grupos funcionales adecuados son sulfhidrilo y amino. En un ejemplo, los grupos sulfhidrilo pueden generarse mediante reducción de los enlaces disulfuro intramoleculares de un anticuerpo anti-PRLR. En otro aspecto, los grupos sulfhidrilo pueden generarse haciendo reaccionar un grupo amino de un resto de lisina de un anticuerpo anti-PRLR con 2-iminotiolano (reactivo de Traut) u otros reactivos que generan sulfhidrilo. En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-PRLR es un anticuerpo recombinante y se manipula para llevar uno o más restos de lisina. En ciertos otros aspectos, el anticuerpo anti-PRLR recombinante se manipula para llevar grupos sulfhidrilo adicionales, por ejemplo, cisteínas adicionales.

En un aspecto, la unidad extensora forma un enlace con un átomo de azufre del anticuerpo. El átomo de azufre puede derivar de un grupo sulfhidrilo de un anticuerpo. Unidades extensoras representativas de este aspecto se representan dentro de los corchetes de las fórmulas IIIa y IIIb como se muestra a continuación

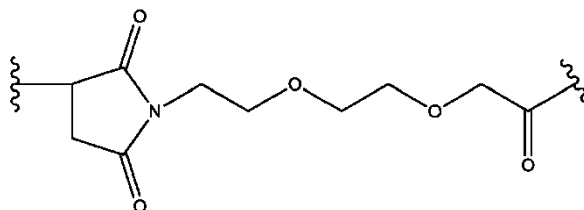


25 en las que L-, -W-, -Y-, -D, w e y son como se han definido anteriormente, y R<sup>17</sup> está seleccionado de -alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -alquenilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -alquinilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, carbociclo-, -O-(alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-, O-(alquenilen C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-, -O-(alquinilen C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-, -arilen-, -alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-arileno-, -alquenilen C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-arileno-, -alquinilen C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-arileno-, arilen-alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -arilen-alquenileno C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-, -arilen-alquinilen C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-, -alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-(carbociclo)-, -alquenilen C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-(carbociclo)-, alquinilen C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-(carbociclo)-, -(carbociclo)-alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -(carbociclo)-alquenilen C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-, -(carbociclo)-alquinileno C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-, -heterociclo-, -alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-(heterociclo)-, -alquenilen C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-(heterociclo)-, -alquinilen C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-(heterociclo)-, -(heterociclo)-alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -(heterociclo)-alquenilen C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>-, -(heterociclo)-alquinileno C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub> o -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-CH<sub>2</sub>-, y r es un número entero que oscila de 1-10, en las que dichos radicales alquilo, alquenilo, alquinilo, alquileno, alquenileno, alquinileno, arilo, carbociclo, heterociclo y arileno, bien solos o como parte de otro grupo, están opcionalmente sustituidos. En algunos aspectos, dichos radicales alquilo, alquenilo, alquinilo, alquileno, alquenileno, alquinileno, arilo, carbociclo, heterociclo y arileno, bien solos o como parte de otro grupo, están sin sustituir. En algunos aspectos, R<sup>17</sup> está seleccionado de -alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -carbociclo-, -O-(alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-, -arileno-, -alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-arileno-, -arilen-alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-(carbociclo)-, -(carbociclo)-alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -heterociclo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-, -alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-(heterociclo)-, -(heterociclo)-alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-, -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>- y -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-CH<sub>2</sub>-; y r es un número entero que oscila de 1-10, en las que dichos grupos alquileno están sin sustituir y el resto de los grupos están opcionalmente sustituidos.

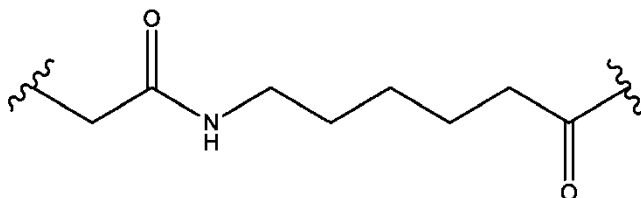
Una unidad extensora ilustrativa es aquella de fórmula IIIa en la que R<sup>17</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>- como se representa a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093).



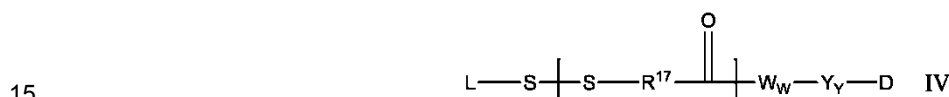
Otra unidad extensora ilustrativa es aquella de fórmula IIIa en la que R<sup>17</sup> es -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>r</sub>-CH<sub>2</sub>-; y r es 2, como se representa a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093).



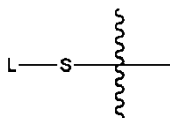
- 5 Otra unidad extensora ilustrativa es aquella de fórmula IIIa en la que R<sup>17</sup> es arilen- o arilen-alquilen C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>-. En algunos aspectos, el grupo arilo es un grupo fenilo sin sustituir. Todavía, otra unidad extensora ilustrativa es aquella de fórmula IIIb en la que R<sup>17</sup> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>-, como se representa a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093).



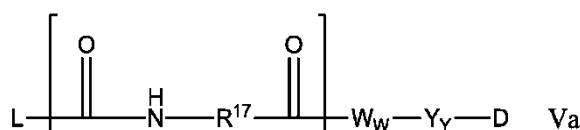
- 10 En ciertos aspectos, la unidad extensora está unida al anticuerpo anti-PRLR mediante un enlace disulfuro entre un átomo de azufre de la unidad de anticuerpo anti-PRLR y un átomo de azufre de la unidad extensora. Una unidad extensora representativa de este aspecto se representa dentro de los corchetes de la fórmula IV (véase a continuación, y véase también el documento U.S. 8.309.093), en la que R<sup>17</sup>, L-, -W-, -Y-, -D, w, y y son como se han definido anteriormente.

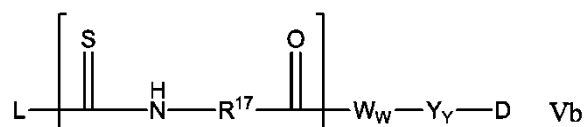


Debe observarse que el resto S en la fórmula mostrada a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093) se refiere a un átomo de azufre del anticuerpo, a menos que se indique lo contrario por el contexto.

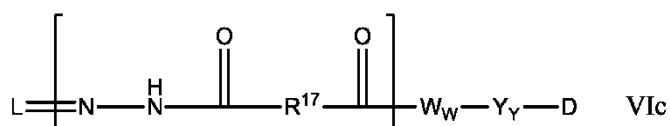
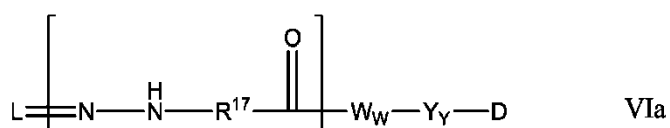


- 20 En aún otros aspectos, el extensor contiene un sitio reactivo que puede formar un enlace con un grupo amino primario o secundario de un anticuerpo. Ejemplos de estos sitios reactivos incluyen, pero no se limitan a, ésteres activados tales como ésteres de succinimida, ésteres de 4-nitrofenilo, ésteres de pentafluorofenilo, ésteres de tetrafluorofenilo, anhídridos, cloruros de ácido, cloruros de sulfonilo, isocianatos e isotiocianatos. Unidades extensoras representativas de este aspecto se representan dentro de los corchetes de las fórmulas Va y Vb (véase a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093)), en las que R<sup>17</sup>, L-, -W-, -Y-, -D, w, y y son como se han definido anteriormente.
- 25

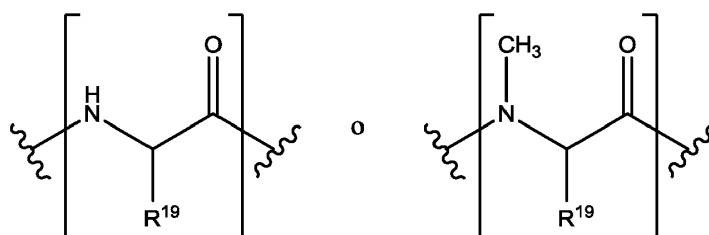




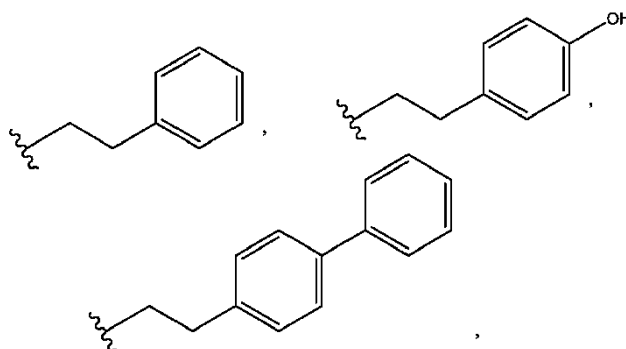
En algunos aspectos, el extensor contiene un sitio reactivo que es reactivo con un grupo de hidrato de carbono modificado (-CHO) que puede estar presente en un anticuerpo. Por ejemplo, un hidrato de carbono puede ser suavemente oxidado usando un reactivo tal como peryoato de sodio y la unidad resultante (-CHO) del hidrato de carbono oxidado puede condensarse con un extensor que contiene una funcionalidad tal como una hidrazida, una oxima, una amina primaria o secundaria, una hidracina, una tiosemicarbazona, un carboxilato de hidracina y una arilhidrazida tal como aquellas descritas por Kaneko et al., 1991, Bioconjugate Chem. 2:133-41. Unidades extensoras representativas de este aspecto se representan dentro de los corchetes de las fórmulas VIa, VIb y VIc (véase a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093), en las que -R<sup>17</sup>-, L-, -W-, -Y-, -D, w e y son como se definen anteriormente.



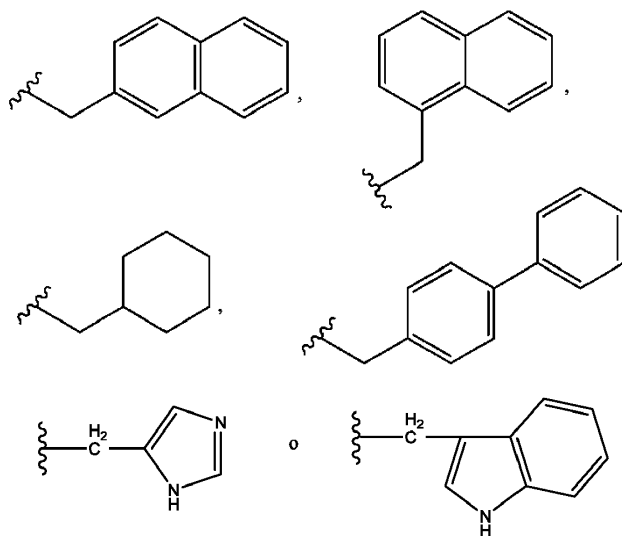
La unidad de aminoácido (-W-), cuando está presente, une la unidad extensora a la unidad espaciadora si la unidad espaciadora está presente, une la unidad extensora al resto de fármaco si la unidad espaciadora está ausente, y une el anticuerpo unidad a la unidad de fármaco si la unidad extensora y la unidad espaciadora están ausentes. W<sub>w</sub> puede ser, por ejemplo, una unidad de monapéptido, dipéptido, tripéptido, tetrapéptido, pentapéptido, hexapéptido, heptapéptido, octapéptido, nonapéptido, decapéptido, undecapéptido o dodecapéptido. Cada unidad -W- tiene independientemente la fórmula indicada a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093) en los corchetes, y w es un número entero que oscila de 0 a 12,



en las que R<sup>19</sup> es hidrógeno, metilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, bencilo, p-hidroxibencilo, -CH<sub>2</sub>OH, -CH(OH)CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>COOH, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOCH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCHO, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCOCH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCHO, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCONH<sub>2</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCONH<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, 2-piridilmetil-, 3-piridilmetil-, 4-piridilmetil-, fenilo, ciclohexilo, y otros grupos R representativos no limitantes, como se representa a continuación.

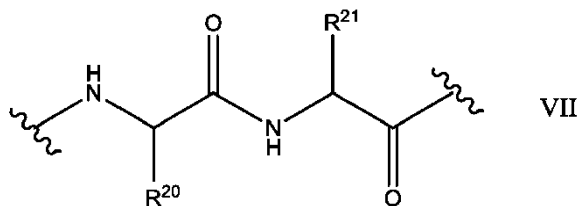




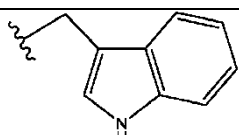


5 En algunos aspectos, la unidad de aminoácido puede ser enzimáticamente escindida por una o más enzimas, que incluyen un cáncer o proteasa asociada a tumor, para liberar el fármaco (-D), que en un aspecto se protona *in vivo* upon tras la liberación para proporcionar un fármaco.

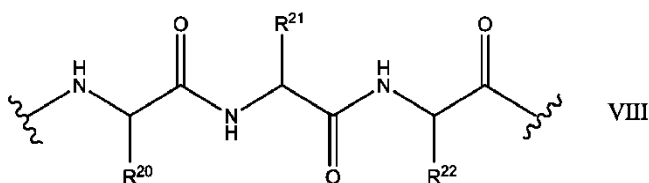
En ciertos aspectos, la unidad de aminoácido puede comprender aminoácidos naturales. En otros aspectos, la unidad de aminoácido puede comprender aminoácidos no naturales. Unidades  $W_w$  ilustrativas se representan por la fórmula (VII) (como se representa a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093),



10 en la que  $R^{20}$  y  $R^{21}$  son como se representan a continuación;

$R^{20}$	$R^{21}$
Bencilo	$(CH_2)_4NH_2$ ;
Metilo	$(CH_2)_4NH_2$ ;
Isopropilo	$(CH_2)_4NH_2$ ;
Isopropilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$ ;
Bencilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$ ;
Isobutilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$ ;
Sec-butilo	$(CH_2)_3NHCONH_2$ ;
	$(CH_2)_3NHCONH_2$ ;
Bencilo	Metilo;
Bencilo	$(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ ;

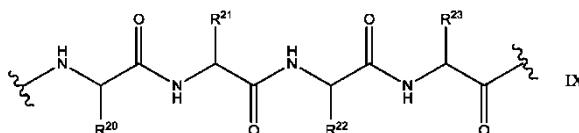
la fórmula (VIII) (como se representa a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093),



en la que  $R^{20}$ ,  $R^{21}$  y  $R^{22}$  son como se representan a continuación;

$R^{20}$	$R^{21}$	$R^{22}$
Bencilo	Bencilo	$(CH_2)_4NH_2$ ;
Isopropilo	Bencilo	$(CH_2)_4NH_2$ ;
H	Bencilo	$(CH_2)_4NH_2$ ;

y la fórmula (IX) (como se representa a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093),



5 en la que  $R^{20}$ ,  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  y  $R^{23}$  son como se representan a continuación:

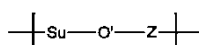
$R^{20}$	$R^{21}$	$R^{22}$	$R^{23}$
H	Bencilo	Isobutilo	H
Metilo	Isobutilo	Metilo	Isobutilo

10 Unidades de aminoácido a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, unidades de fórmula VII donde:  $R^{20}$  es bencilo y  $R^{21}$  es  $-(CH_2)_4NH_2$ ;  $R^{20}$  es isopropilo y  $R^{21}$  es  $-(CH_2)_4NH_2$ ; o  $R^{20}$  es isopropilo y  $R^{21}$  es  $-(CH_2)_3NHCONH_2$ . Otra unidad de aminoácido a modo de ejemplo es una unidad de fórmula VIII en la que  $R^{20}$  es bencilo,  $R^{21}$  es bencilo y  $R^{22}$  es  $-(CH_2)_4NH_2$ .

15 Pueden diseñarse y optimizarse unidades -Ww- útiles en su selectividad para la escisión enzimática por una enzima particular, por ejemplo, una proteasa asociada a tumor. En un aspecto, una unidad -Ww- es aquella cuya escisión se cataliza por catepsina B, C y D, o una proteasa de plasmina. En un aspecto, -Ww- es un dipéptido, tripéptido, tetrapéptido o pentapéptido. Cuando  $R^{19}$ ,  $R^{20}$ ,  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  o  $R^{23}$  es distinto de hidrógeno, el átomo de carbono al que  $R^{19}$ ,  $R^{20}$ ,  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  o  $R^{23}$  está unido es quiral. Cada átomo de carbono al que  $R^{19}$ ,  $R^{20}$ ,  $R^{21}$ ,  $R^{22}$  o  $R^{23}$  está unido está independientemente en la configuración (S) o (R).

20 En un aspecto de la unidad de aminoácido, la unidad de aminoácido es valina-citrulina (vc o val-cit). En otro aspecto, la unidad de aminoácido es fenilalanina-lisina (es decir, fk). En otro aspecto más de la unidad de aminoácido, la unidad de aminoácido es N-metilvalina-citrulina. En otro aspecto más, la unidad de aminoácido es ácido 5-aminovalérico, homofenilalanina lisina, tetraisoquinolinacarboxilato lisina, ciclohexilalanina lisina, ácido isonepecótico lisina, beta-alanina lisina, glicina serina valina glutamina y ácido isonepecótico.

25 Alternativamente, en algunos aspectos, -W- es una unidad de glucurónido que une una unidad extensora a una unidad espaciadora si las unidades extensora y espaciadora están presentes, una unidad extensora al resto de fármaco si la unidad espaciadora está ausente, y une la unidad conectora al fármaco si las unidades extensora y espaciadora están ausentes. La unidad de glucurónido incluye un sitio que puede ser escindido por una enzima  $\beta$ -glucuronidasa (véase también el documento US 2012/0107332 A1). En algunos aspectos, la unidad de glucurónido comprende un resto de azúcar (Su) unido mediante un enlace de glucósido (-O'-) a un grupo auto-inmolativo (Z) de fórmula que se representa a continuación (véase también el documento US 2012/0107332).



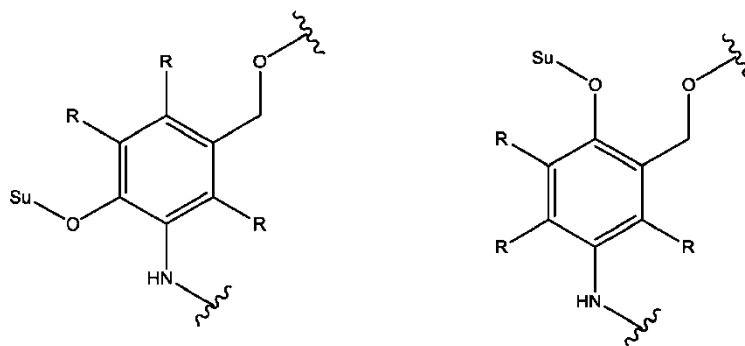
30 El enlace glucosídico (-O'-) normalmente es un sitio de escisión por  $\beta$ -glucuronidasa, tal como un enlace escindible por  $\beta$ -glucuronidasa lisosómica humana. En el contexto de una unidad de glucurónido, el término "grupo auto-inmolativo" se refiere a un resto químico di- o tri-funcional que es capaz de unir covalentemente juntos dos o tres restos químicos separados (es decir, el resto de azúcar (mediante un enlace glucosídico), una unidad de fármaco (directamente o indirectamente mediante una unidad espaciadora) y, en algunos aspectos, un conector

(directamente o indirectamente mediante una unidad extensora) en una molécula estable. El grupo auto-inmolativo se separará espontáneamente del primer resto químico (por ejemplo, la unidad espaciadora o de fármaco) si se escinde su enlace al resto de azúcar.

5 En algunos aspectos, el resto de azúcar (Su) es hexosa cíclica, tal como una piranosa, o una pentosa cíclica, tal como una furanosa. En algunos aspectos, la piranosa es un glucurónido o hexosa. El resto de azúcar está normalmente en la conformación β-D. En un aspecto específico, la piranosa es un resto de β-D-glucurónido (es decir, ácido β-D-glucurónico unido al grupo auto-inmolativo -Z- mediante un enlace glucosídico que es escindible por β-glucuronidasa). En algunos aspectos, el resto de azúcar está sin sustituir (por ejemplo, una hexose cíclica o pentosa cíclica que existe de forma natural). En otros aspectos, el resto de azúcar puede ser un β-D-glucurónido sustituido (es decir, ácido glucurónico sustituido con uno o más grupos, tales como hidrógeno, hidroxilo, halógeno, azufre, nitrógeno o alquilo inferior).

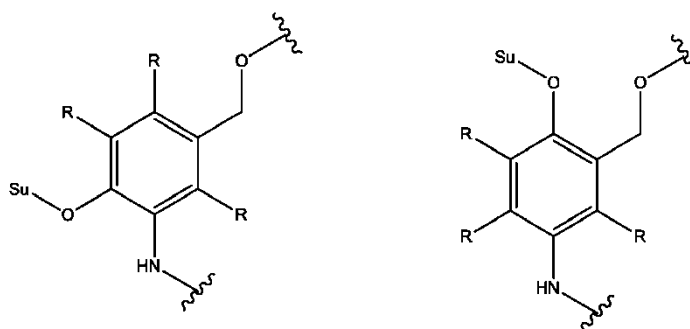
En algunos aspectos, el grupo auto-inmolativo Z es una unidad de alcohol p-aminobencílico (PAB), como se describe además en el presente documento. Se conocen en la técnica otros grupos auto-inmolativos.

15 En algunos aspectos, la unidad de glucurónido tiene una de las fórmulas que se representan a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1),



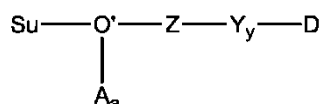
20 en las que Su es el resto de azúcar, el enlace glucosídico comprende el enlace de oxígeno entre Su y el grupo auto-inmolativo Z, y cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (por ejemplo, cloro, bromo, flúor, etc.), -CN, -NO<sub>2</sub>, u otro grupo aceptor o donante de electrones, a condición de que la unidad de glucurónido (y Z en particular) experimente auto-inmolación tras la escisión del enlace glucosídico. En algunos aspectos, cada R es independientemente hidrógeno, halógeno (por ejemplo, cloro, bromo, flúor, etc.), -CN o -NO<sub>2</sub>.

En algunos aspectos, la unidad de glucurónido tiene una de las fórmulas que se representan a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1),



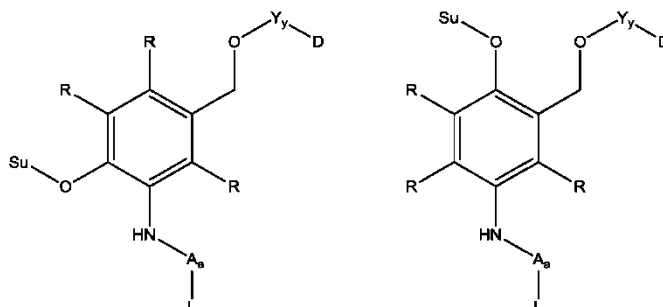
25 en las que Su es el resto de azúcar, el enlace glucosídico (-O'-) comprende el enlace de oxígeno entre Su y el grupo auto-inmolativo Z, y cada R es independientemente hidrógeno.

30 En algunos aspectos, el grupo auto-inmolativo (Z) está unido covalentemente al resto de azúcar, al fármaco (directamente o indirectamente mediante la(s) unidad(es) espaciadora(s)) y al conector (directamente o indirectamente mediante la(s) unidad(es) extensora(s)). En algunos aspectos, un conjugado fármaco-conector tiene la fórmula que se representa a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1),



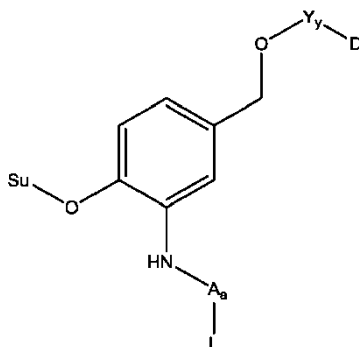
en la que Su, O', Z, Y, y, D, A y a se definen en el presente documento. Normalmente, pueden unirse de 1 a 20 de tales conjugados fármaco-conector a un conector.

- 5 En algunos aspectos, un ADC que comprende la unidad de glucurónido tiene una de las fórmulas que se representan a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1), en las que Su, Y, y, D, A, a, y L se definen como se describe en el presente documento.



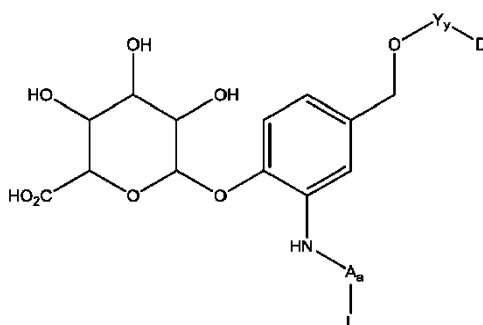
En algunos aspectos, un ADC que comprende la unidad de glucurónido tiene la fórmula que se representa a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1), en la que Y, y, D, A, a, y L se definen en el presente documento.

10

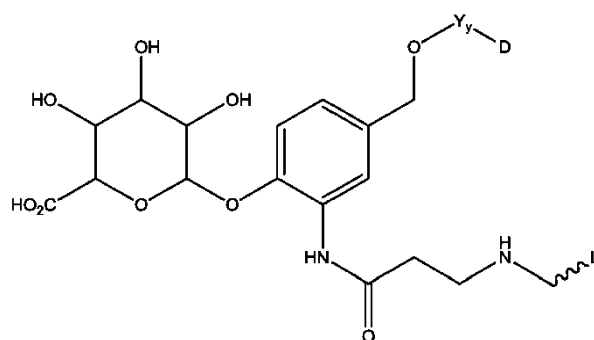


En algunos aspectos, un ADC que comprende la unidad de glucurónido tiene la fórmula que se representa a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1), en la que Y, y, D y L se definen como se describe en el presente documento.

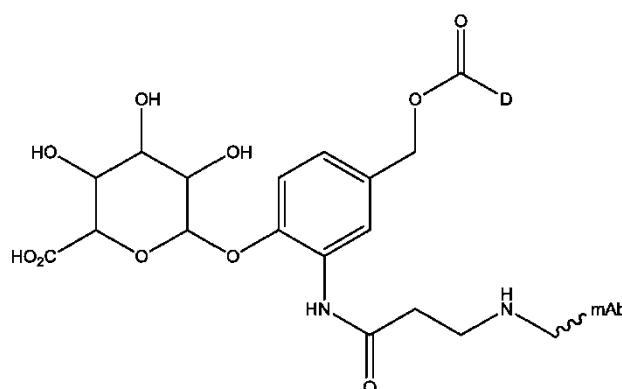
15



En algunos aspectos, un ADC que comprende la unidad de glucurónido tiene la fórmula que se representa a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1), en la que Y, y, D y L se definen como se describe en el presente documento.



En algunos aspectos, un ADC que comprende la unidad de glucurónido tiene la fórmula que se representa a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1), en la que D es como se describe en el presente documento y mAb es un anticuerpo monoclonal.

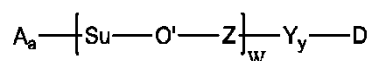


5 En otro grupo de aspectos, el conector está unido (directamente o indirectamente) al resto de azúcar (Su), que está unido al grupo auto-inmolativo (Z) que está unido (directamente o indirectamente) al fármaco, según la fórmula que se representa a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1), en la que A, a, Su, O', Z, w, Y, y, D y L se definen como se describe en el presente documento.



Por ejemplo, el resto de azúcar (Su) puede unirse directamente al anticuerpo o indirectamente mediante una unidad extensora. El grupo auto-inmolativo (Z) puede unirse directamente al fármaco o indirectamente mediante una unidad espaciadora.

15 En aspectos relacionados, un compuesto de fármaco-conector tiene la siguiente fórmula que se representa a continuación (véase también el documento US 2012/0107332 A1), en la que A, a, Su, O', Z, w, Y, y y D se definen en el presente documento.

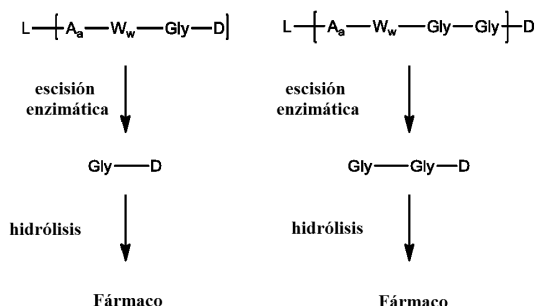


Normalmente, pueden unirse de 1 a 20 de tales compuestos de fármaco-conector a un anticuerpo.

20 La unidad espaciadora (-Y-), cuando está presente, une una unidad de aminoácido (o unidad de glucurónido, véase también el documento US 2012/0107332 A1) a la unidad de fármaco cuando una unidad de aminoácido está presente. Alternativamente, la unidad espaciadora une la unidad extensora a la unidad de fármaco cuando la unidad de aminoácido está ausente. La unidad espaciadora también une la unidad de fármaco a la unidad de anticuerpo cuando tanto la unidad de aminoácido como la unidad extensora están ausentes.

25 Las unidades espaciadoras son de dos tipos generales: no auto-inmolativas o auto-inmolativas. Una unidad espaciadora no auto-inmolativa es una en la que parte o toda de la unidad espaciadora sigue unida al resto de fármaco después de la escisión, particularmente enzimática, de una unidad de aminoácido (o unidad de glucurónido) del conjugado anticuerpo-fármaco. Ejemplos de una unidad espaciadora no auto-inmolativa incluyen, pero no se limitan a, una unidad espaciadora de (glicina-glicina) y una unidad espaciadora de glicina (ambas se representan en el Esquema 1 a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093)).

Esquema 1



5 Cuando un conjugado que contiene una unidad espaciadora de glicina-glicina o una unidad espaciadora de glicina experimenta escisión enzimática mediante una enzima (por ejemplo, una proteasa asociada a célula tumoral, una proteasa asociada a célula de cáncer o una proteasa asociada a linfocito), se escinde una glicina-glicina-resto de fármaco o una glicina-resto de fármaco de L-A<sub>a</sub>-W<sub>w</sub>-. En un aspecto, tiene lugar una reacción de hidrólisis independiente dentro de la célula diana, escindiendo el enlace glicina-resto de fármaco y liberando el fármaco.

En algunos aspectos, una unidad espaciadora no auto-inmolativa (-Y-) es -Gly-. En algunos aspectos, una unidad espaciadora no auto-inmolativa (-Y-) es -Gly-Gly-.

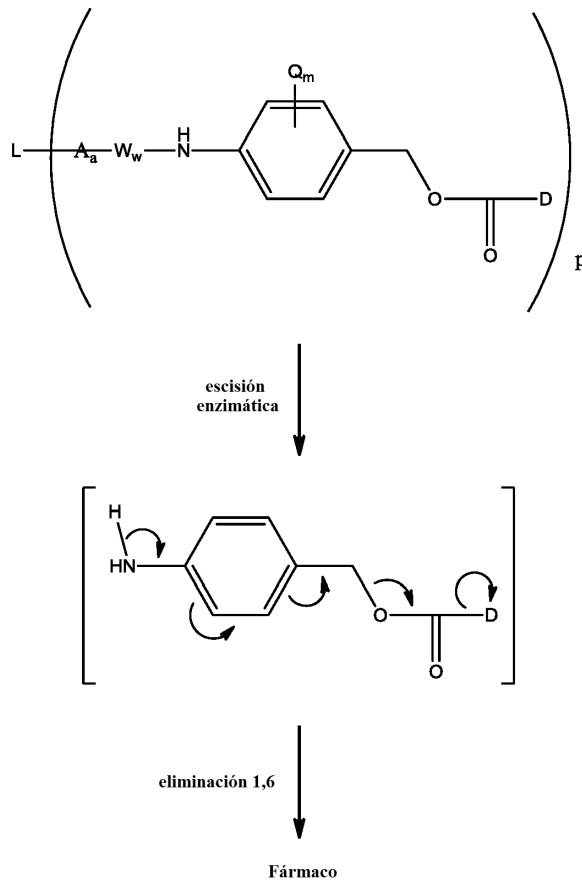
10 En un aspecto, se proporciona un conjugado fármaco-conector en el que la unidad espaciadora está ausente (y=0), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma.

Alternativamente, un conjugado que contiene una unidad espaciadora auto-inmolativa puede liberar -D. Como se usa en el presente documento, el término "espaciador auto-inmolativo" se refiere a un resto químico bifuncional que es capaz de unir covalentemente juntos dos restos químicos separados en una molécula tripartita estable. Se separará espontáneamente del segundo resto químico si se escinde su enlace al primer resto.

15 En algunos aspectos, -Y<sub>y</sub>- es una unidad de alcohol p-aminobencílico (PAB) cuya porción de fenileno está sustituida con Q<sub>m</sub> en la que Q es -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -halógeno, -nitro o -ciano; y m es un número entero que oscila de 0-4. Los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo, bien solos o como parte de otro grupo, pueden estar opcionalmente sustituidos.

20 En algunos aspectos, -Y- es un grupo PAB que se une a -W<sub>w</sub>- mediante el átomo de nitrógeno de amino del grupo PAB, y se conecta directamente a -D mediante un grupo carbonato, carbamato o éter. Sin desear quedar ligado a teoría particular alguna o mecanismo, el Esquema 2 a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093) representa un posible mecanismo de liberación de fármaco de un grupo PAB que está unido directamente a -D mediante un grupo carbamato o carbonato como se describe por Toki et al., 2002, J. Org. Chem. 67:1866-1872.

Esquema 2

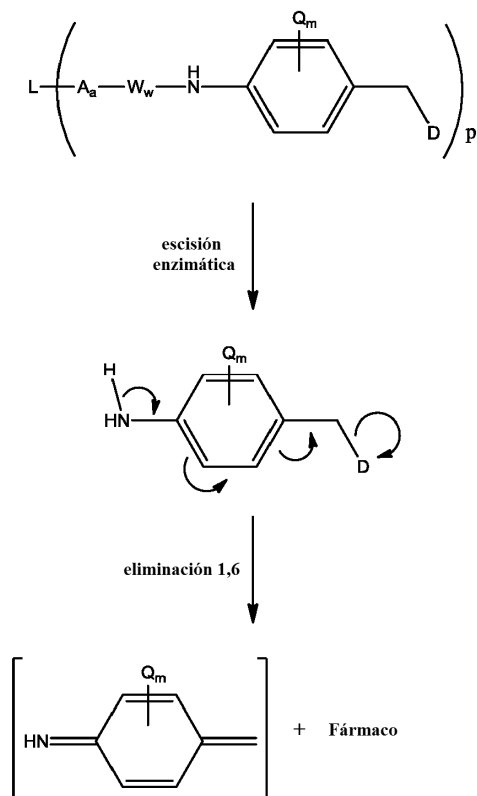


En el Esquema 2, Q es -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -halógeno, -nitro o -ciano; m es un número entero que oscila de 0-4; y p oscila de 1 a aproximadamente 20. Los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo, bien solos o como parte de otro grupo, pueden estar opcionalmente sustituidos.

5

Sin desear quedar ligado a teoría particular alguna o mecanismo, el Esquema 3 a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093) representa un posible mecanismo de liberación de fármaco de un grupo PAB que está unido directamente a -D mediante un enlace éter o amina, en el que D incluye el grupo oxígeno o nitrógeno que es parte del fármaco.

Esquema 3



En el Esquema 3, Q es -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -halógeno, -nitro o -ciano; m es un número entero que oscila de 0-4; y p oscila de 1 a aproximadamente 20. Los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo, bien solos o como parte de otro grupo, pueden estar opcionalmente sustituidos.

5

Otros ejemplos de espaciadores auto-inmolativos incluyen, pero no se limitan a, compuestos aromáticos que son electrónicamente similares al grupo PAB tales como derivados de 2-aminoimidazol-5-metanol (Hay et al., 1999, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237) y orto o para-aminobencilacetales. Pueden usarse espaciadores que experimentan ciclación tras la hidrólisis del enlace amida, tales como amidas de ácido 4-aminobutírico sustituidas y sin sustituir (Rodrigues et al., 1995, Chemistry Biology 2:223), sistemas de anillos biciclo[2.2.1] y biciclo[2.2.2] apropiadamente sustituidos (Storm et al., 1972, J. Amer. Chem. Soc. 94:5815) y amidas de ácido 2-aminofenilpropiónico (Amsberry et al., 1990, J. Org. Chem. 55:5867). La eliminación de fármacos que contienen aminas que están sustituidos en la posición  $\alpha$  de glicina (Kingsbury et al., 1984, J. Med. Chem. 27:1447) también son ejemplos de espaciadores auto-inmolativos.

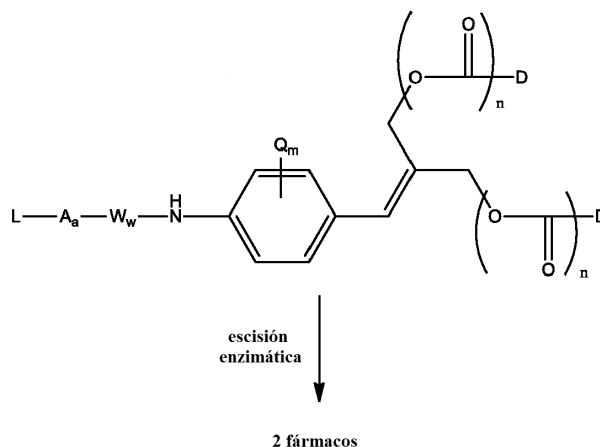
10

En un aspecto, la unidad espaciadora es una unidad de bis(hidroximetil)-estireno ramificado (BHMS) como se representa en el Esquema 4 a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093), que puede usarse para incorporar y liberar múltiples fármacos.

15



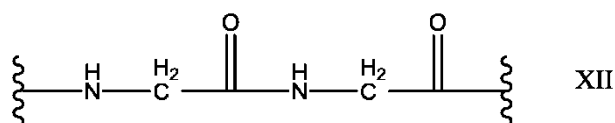
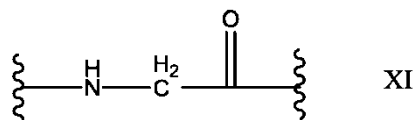
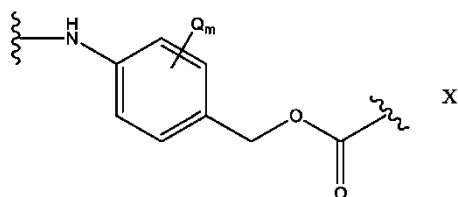
Esquema 4



En el Esquema 4 anterior, Q es -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquenido C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquenido C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -halógeno, -nitro o -ciano; m es un número entero que oscila de 0-4; n es 0 o 1; y p oscila de 1 a aproximadamente 20. Los grupos alquilo, alquenido y alquinilo, bien solos o como parte de otro grupo, pueden estar opcionalmente sustituidos.

5

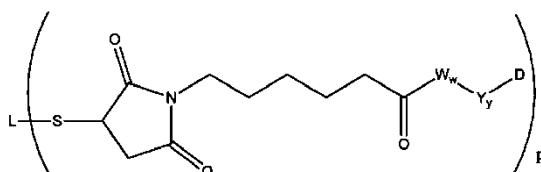
En un aspecto, las unidades espaciadoras (-Y<sub>r</sub>-) se representan por las fórmulas (X)-(XII) (véase a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093) en las que Q es -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquenido C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>, -O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquenido C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -O-(alquinilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), -halógeno, -nitro o -ciano; y m es un número entero que oscila de 0-4.



10

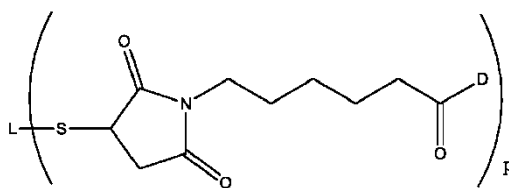
Los grupos alquilo, alquenido y alquinilo, bien solos o como parte de otro grupo, pueden estar opcionalmente sustituidos.

Aspectos de ADC que comprenden la fórmula I y II también pueden incluir el compuesto con la estructura como se representa a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093),

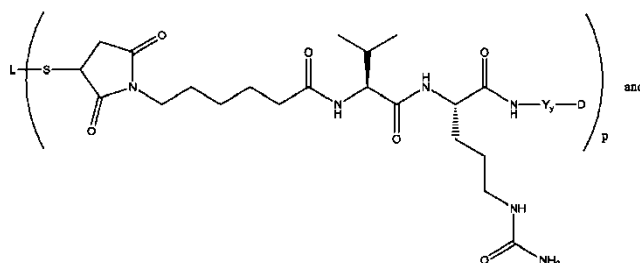
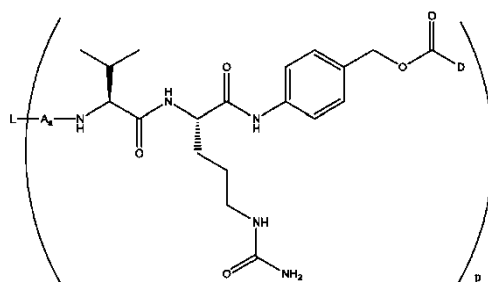


15

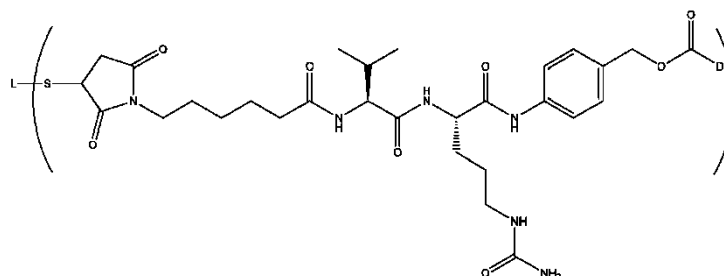
en la que w e y son cada uno 0, 1 o 2, y, el compuesto con la estructura como se representa a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093),



en la que w e y son cada uno 0, y los compuestos que se representan a continuación (véase también el documento U.S. 8.309.093).



5



10 En aún otros aspectos, la unidad espaciadora (-Y-), cuando está presente, es una unidad de glucurónido, cuando está presente, al resto de fármaco. En algunos aspectos, la(s) unidad(es) espaciadora(s) de estos aspectos son espaciadores auto-inmolativos. En este contexto, el término "espaciador auto-inmolativo" se refiere a un resto químico bifuncional que es capaz de unirse covalentemente junto dos restos químicos separados en una molécula tripartita normalmente estable. Se separará espontáneamente del segundo resto químico si se escinde su enlace al primer resto.

En algunos aspectos, -Y- está unido a -W<sub>w</sub>- mediante el átomo de carbono de metileno del grupo auto-inmolativo, y unido conectado directamente a -D mediante un grupo carbonato, carbamato o éter.

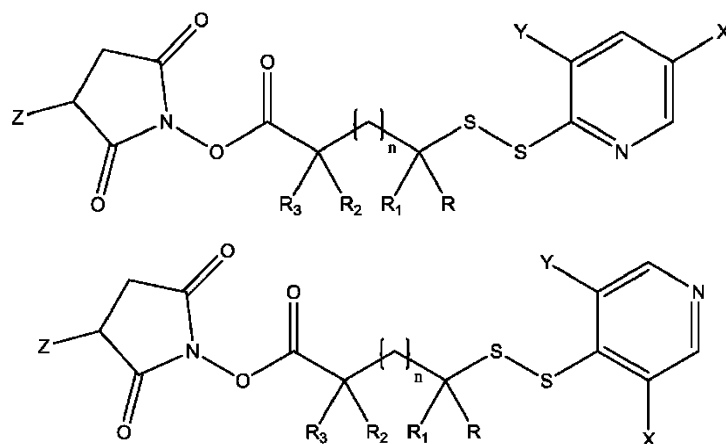
15 En algunos aspectos, -Y- es una unidad de alcohol p-aminobencílico (PAB) cuya porción de fenileno está sustituida con Q<sub>m</sub> en la que Q es como se define en el presente documento, y m es un número entero que oscila de 0-4. En otro aspecto, -Y- puede ser un grupo carbonato.

20 Otros ejemplos de espaciadores auto-inmolativos incluyen, pero no se limitan a, compuestos aromáticos que son electrónicamente similares al grupo PAB tales como derivados de 2-aminoimidazol-5-metanol (véase, por ejemplo, Hay et al., 1999, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237) y orto o para-aminobencilacetales. Pueden usarse espaciadores que experimentan ciclación tras la hidrólisis del enlace amida, tales como amidas de ácido 4-aminobutírico sustituidas y sin sustituir (véase, por ejemplo, Rodrigues et al., 1995, Chemistry Biology 2:223), sistemas de anillos biciclo[2.2.1] y biciclo[2.2.2] apropiadamente sustituidos (véase, por ejemplo, Storm et al., 1972, J. Amer. Chem. Soc. 94:5815) y amidas de ácido 2-aminofenilpropiónico (véase, por ejemplo, Amsbery et al., 1990, J. Org. Chem. 55:5867). La eliminación de fármacos que contienen aminas que están sustituidos en la posición α de glicina (véase, por ejemplo, Kingsbury et al., 1984, J. Med. Chem. 27:1447) también son ejemplos de espaciadores auto-inmolativos.

25

Otras unidades espaciadoras adecuadas se desvelan en solicitud de patente de EE.UU. publicada N.º 2005-0238649.

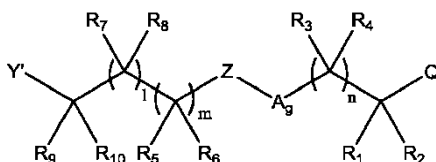
Otro enfoque para la generación de ADC implica el uso de reticulantes heterobifuncionales que unen el anticuerpo anti-PRLR al fármaco de interés. Preferentemente, los reticulantes son 4-(5-nitro-2-piridilditio)-pentanoato de N-succinimidilo o el análogo altamente soluble en agua 4-(5-nitro-2-piridilditio)-pentanoato de N-sulfosuccinimidilo, N-succinimidil-4-(2-piridilditio)butirato (SPDB), N-succinimidil-4-(5-nitro-2-piridilditio)butirato (SNPB) y N-sulfosuccinimidil-4-(5-nitro-2-piridilditio)butirato (SSNPB), N-succinimidil-4-metil-4-(5-nitro-2-piridilditio)pentanoato (SMNP), N-succinimidil-4-(5-N,N-dimetilcarboxamido-2-piridilditio)butirato (SCPB) o N-sulfosuccinimidil-4-(5-N,N-dimetilcarboxamido-2-piridilditio)butirato (SSCPB)). Los anticuerpos de la presente invención modificados con los reticulantes 4-(5-nitro-2-piridilditio)-pentanoato de N-succinimidil, 4-(5-nitro-2-piridilditio)-pentanoato de N-sulfosuccinimidil, SPDB, SNPB, SSNPB, SMNP, SCPB o SSCPB pueden entonces reaccionar con un pequeño exceso de un fármaco particular que contiene un resto de tiol para dar excelentes rendimientos de un ADC. Preferentemente, los reticulantes son compuestos de la fórmula que se representa a continuación (véase también la patente de EE.UU. N.º 6.913.748)



en las que R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son iguales o diferentes y son H, metilo, etilo, o alquilo lineal, ramificado o cíclico que tiene 3 a 6 átomos de carbono, n es 0 o un número entero de 1 a 4, X y Y son iguales o diferentes y son H, CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub> o NO<sub>2</sub>, a condición de que X y Y no sean ambos H al mismo tiempo, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> son iguales o diferentes y son cada uno H, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo o terc-butilo, y Z es SO<sub>3</sub><sup>-</sup>M<sup>+</sup> o H, en la que M<sup>+</sup> representa un ión metálico o un ión tetraalquilamonio, a condición de que cuando X y/o Y sea NO<sub>2</sub>, Z no sea H. Reticulantes heterobifuncionales adicionales y métodos de preparación de ADC usando los mismos se describen en la patente de EE.UU. N.º 6.913.748.

En un aspecto, se usan conectores cargados (también denominados conectores pro-cargados) para conjugar anticuerpos anti-PRLR con fármacos para formar ADC. Los conectores cargados incluyen conectores que llegan a cargarse después del procesamiento celular. La presencia de grupo(s) cargado(s) en el conector de un ADC particular o en el fármaco después del procesamiento celular proporciona varias ventajas, tales como (i) mayor solubilidad en agua del ADC, (ii) capacidad para operar a una concentración más alta en disoluciones acuosas, (iii) capacidad para unir un mayor número de moléculas de fármaco por anticuerpo, produciendo posiblemente mayor potencia, (iv) posibilidad de que las especies de conjugado cargadas sean retenidas dentro de la célula diana, produciendo mayor potencia, y (v) sensibilidad mejorada de células multirresistentes, que serían incapaces de exportar las especies de fármaco cargadas de la célula. Ejemplos de algunos reticulantes cargados o pro-cargados adecuados y sus síntesis se muestran en las Figuras 1 a 10 de la patente de EE.UU. N.º 8.236.319. Preferentemente, los reticulantes cargados o pro-cargados son aquellos que contienen sustituyentes sulfonato, fosfato, carboxilo o amina cuaternaria que aumentan significativamente la solubilidad de los ADC, especialmente para ADC con 2 a 20 fármacos conjugados. Los conjugados preparados a partir de los conectores que contienen un resto pro-cargado producirían uno o más restos cargados después de que el conjugado fuera metabolizado en una célula.

En un aspecto adicional, el ADC de la divulgación comprende un conector que tiene la fórmula que se representa a continuación (véase también la patente de EE.UU. N.º 8.236.319),



- en la que Y' representa un grupo funcional que permite la reacción con un anticuerpo; Q representa un grupo funcional que permite el enlace de un fármaco mediante un enlace disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éster, éter, carbamato o amida; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub> y R<sub>10</sub> son iguales o diferentes y son H, alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, alquenoilo o alquiniilo lineal, ramificado o cíclico que tiene de 2 a 6 átomos de carbono, aniones, tales como, pero no se limitan a, SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, X-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, OPO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, X-OPO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, PO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, X-PO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, CO<sub>2</sub><sup>-</sup>, cationes, tales como, pero no se limitan a, un heterociclo que contiene nitrógeno, N<sup>+</sup>R<sub>11</sub>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub>, o X-N<sup>+</sup>R<sub>11</sub>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub> o un fenilo, en las que: R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub> y R<sub>13</sub> son iguales o diferentes y son H, alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, o alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono y X representa fenilo o un alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, o un alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono; l, m y n son 0 o un número entero de 1 a 4; A es un fenilo o fenilo sustituido, en el que el sustituyente es un alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, o un alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, o un sustituyente cargado seleccionado de aniones, tales como, pero no se limitan a, SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, X-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>, OPO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, X-OPO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, PO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, X-PO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, CO<sub>2</sub><sup>-</sup>, y cationes, tales como, pero no se limitan a, un heterociclo que contiene nitrógeno, N<sup>+</sup>R<sub>11</sub>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub> o X-N<sup>+</sup>R<sub>11</sub>R<sub>12</sub>R<sub>13</sub>, en las que X tiene la misma definición que antes, y en las que g es 0 o 1; Z es una unidad de polietileno opcional de fórmula (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>, en la que p es 0 o un número entero de 2 a aproximadamente 1000, o la unidad F1-E1-P-E2-F2 en la que E1 y E2 son iguales o diferentes y son C=O, O, o NR<sub>14</sub>, en la que R<sub>14</sub> es H, un alquilo lineal que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, un alquilo ramificado o cíclico que tiene de 3 a 6 átomos de carbono, un alquenoilo o alquiniilo lineal, ramificado o cíclico que tiene de 2 a 6 átomos de carbono; P es una unidad de péptido entre 2 y 20 aminoácidos de longitud, en la que E1 o E2 pueden unirse al péptido mediante el nitrógeno terminal, carbono terminal o mediante una cadena lateral de uno de los aminoácidos del péptido; y F1 y F2 son iguales o diferentes y son una unidad de polietileno opcional de fórmula (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>, en la que p es 0 o un número entero de 2 a aproximadamente 1000, a condición de que cuando Z no sea F1-E1-P-E2-F2, al menos uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub> y R<sub>10</sub> es un sustituyente cargado o cuando g sea 1, al menos uno de A, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub> y R<sub>10</sub> es un sustituyente cargado.
- 25 Ejemplos del grupo funcional, Y', que permite la reacción con un anticuerpo, incluyen agentes que reaccionan con amina tales como, pero no se limitan a, ésteres de N-hidroxisuccinimida, ésteres de p-nitrofenilo, ésteres de dinitrofenilo, ésteres de pentafluorofenilo; agentes reactivos con tiol tales como, pero no se limitan a, piridildisulfuros, nitropiridildisulfuros, maleimidias, haloacetatos y cloruros de ácido carboxílico.
- Ejemplos del grupo funcional, Q, que permite el enlace de un fármaco, incluyen grupos que permiten el enlace mediante un enlace disulfuro, tioéter, tioéster, péptido, hidrazona, éster, carbamato o amida. Tales grupos funcionales incluyen, pero no se limitan a, tiol, disulfuro, amino, carboxi, aldehídos, maleimido, haloacetilo, hidracinas e hidroxilo.
- Ejemplos de alquilo lineales incluyen metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo y hexilo. Ejemplos de alquilos ramificados o cíclicos que tienen 3 a 6 átomos de carbono incluyen isopropilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo, hexilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.
- Ejemplos de alqueniilos lineales que tienen 2 a 6 átomos de carbono incluyen etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo. Ejemplos de alqueniilos ramificados o cíclicos que tienen 2 a 6 átomos de carbono incluyen isobutenilo, isopentenilo, 2-metil-1-pentenilo, 2-metil-2-pentenilo.
- Ejemplos de alquiniilos lineales que tienen 2 a 6 átomos de carbono incluyen etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo. Ejemplos de alquiniilos ramificados o cíclicos que tienen hasta 6 átomos de carbono incluyen 3-metil-1-butinilo, 3-metil-1-peninilo, 4-metil-2-hexinilo.
- 45 En un aspecto, uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>9</sub> o R<sub>10</sub> es un sustituyente cargado seleccionado de sulfonato, fosfato o trialquilamonio, y el resto son H, l, g y m son cada uno 0, n=1, Q y Y' son cada uno independientemente un sustituyente disulfuro, un maleimido, un grupo haloacetilo, o un éster de N-hidroxisuccinimida. En otro aspecto más preferido, uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>9</sub> o R<sub>10</sub> es un sulfonato, y el resto son H, l, g y m son cada uno 0, n=1, Q es un resto disulfuro, maleimido o haloacetilo, y Y' es un resto maleimido o un éster de N-hidroxisuccinimida. En un aspecto más preferido adicional, uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>9</sub> o R<sub>10</sub> es un sulfonato, y el resto son H, l, g y m son cada uno 0, n=1, Q es un grupo piridilditio o nitropiridilditio, resto maleimido o haloacetilo, y Y' es un éster de N-hidroxisuccinimida.
- 50 Ejemplos adicionales de conectores que pueden usarse con las presentes composiciones y métodos incluyen valina-citrulina; maleimidocaproilo; ácidos aminobenzoicos; p-aminobencilcarbamoilo (PAB); conectores escindibles por enzimas lisosómicas; maleimidocaproil-polietilenglicol (MC(PEG)6-OH); N-metil-valina-citrulina; 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de N-succinimidilo (SMCC); 4-(2-piridilditio)butanoato de N-succinimidilo (SPDB); y 4-(2-piridiltio)pentanoato de N-succinimidilo (SPP) (véase también el documento US 2011/0076232). Otro conector para su uso en la presente divulgación incluye un enlace avidina-biotina para proporcionar un ADC que contiene avidina-biotina (véase también la patente de EE.UU. N.º 4.676.980, publicaciones PCT N.º WO1992/022332A2, WO1994/016729A1, WO1995/015770A1, WO1997/031655A2, WO1998/035704A1, WO1999/019500A1, WO2001/09785A2, WO2001/090198A, WO2003/093793A2, WO2004/050016A2, WO2005/081898A2, WO2006/083562A2, WO2006/089668A1, WO2007/150020A1, WO2008/135237A1, WO2010/111198A1, WO2011/057216A1, WO2011/058321A1, WO2012/027494A1 y EP77671B1), en la que algunos

de tales conectores son resistentes a escisión por biotinidasa. Conectores adicionales para su uso en la presente divulgación pueden contener un par cohesina/dockerina para proporcionar un ADC que contiene cohesina-dockerina (véanse las publicaciones PCT N.º WO2008/097866A2, WO2008/097870A2, WO2008/103947A2 y WO2008/103953A2)

- 5 Conectores adicionales para su uso en la presente divulgación pueden contener polímeros no de péptido (ejemplos incluyen, pero no se limitan a, polietilenglicol, polipropilenglicol, polioles polioxiethylados, poli(alcohol vinílico), polisacáridos, dextrano, polivinil etil éter, PLA (poli(ácido láctico)), PLGA (poli(ácido láctico-ácido glicólico)), y combinaciones de los mismos, en la que un polímero preferido es polietilenglicol) (véase también la publicación PCT N.º WO2011/000370). Conectores adicionales también se describen en el documento WO 2004-010957, publicación de EE.UU. N.º 20060074008, publicación de EE.UU. N.º 20050238649 y publicación de EE.UU. N.º 20060024317.

10 Para un ADC de la invención que comprende un maitansinoide, muchas posiciones en los maitansinoides pueden servir de posición para unir químicamente el resto de enlace. En un aspecto, los maitansinoides que comprenden un resto de enlace que contiene un grupo químico reactivo son ésteres C-3 de maitansinol y sus análogos donde el resto de enlace contiene un enlace disulfuro y el grupo reactivo químico comprende un éster de N-succinimidilo o N-sulfosuccinimidilo. Por ejemplo, la posición C-3 que tiene un grupo hidroxilo, la posición C-14 modificada con hidroximetilo, la posición C-15 modificada con hidroxilo y la posición C-20 que tiene un grupo hidroxilo son todas útiles. El resto de enlace está unido lo más preferentemente a la posición C-3 de maitansinol.

### III. Usos de anticuerpos anti-PRLR

20 Dada su capacidad para unirse a PRLR humano, los anticuerpos anti-PRLR humano, o porciones de los mismos, de la divulgación pueden usarse para detectar PRLR humano (por ejemplo, en una muestra biológica, tal como suero o plasma), usando un inmunoensayo convencional, tal como un ensayo de inmunoadsorción (ELISA), un radioinmunoensayo (RIA) o inmunohistoquímica de tejido. La divulgación proporciona un método de detección de PRLR humano en una muestra biológica que comprende poner en contacto una muestra biológica con un anticuerpo, o porción de anticuerpo, de la divulgación y detectar o bien el anticuerpo (o porción de anticuerpo) unido a PRLR humano o bien el anticuerpo sin unir (o porción de anticuerpo), para así detectar PRLR humano en la muestra biológica. El anticuerpo se marca directamente o indirectamente con una sustancia detectable para facilitar la detección del anticuerpo unido o sin unir. Sustancias detectables adecuadas incluyen diversas enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes y materiales radiactivos. Ejemplos de enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina,  $\beta$ -galactosidasa o acetilcolinesterasa; ejemplos de complejos de grupos prostéticos adecuados incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina; ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, hodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; un ejemplo de un material luminiscente incluye luminal; y ejemplos de material radiactivo adecuado incluyen  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{166}\text{Ho}$  o  $^{153}\text{Sm}$ .

35 Alternativo a marcar el anticuerpo, puede ensayarse PRLR humano en líquidos biológicos por un inmunoensayo de competición que utiliza patrones de PRLRh marcados con una sustancia detectable y un anticuerpo anti-PRLR humano no marcado. En este ensayo, se combinan la muestra biológica, los patrones de PRLRh marcados y el anticuerpo anti-PRLR humano, y se determina la cantidad de patrón de PRLRh marcado unido al anticuerpo no marcado. La cantidad de PRLR humano en la muestra biológica es inversamente proporcional a la cantidad de patrón de PRLRh marcado unido al anticuerpo anti-PRLR. Similarmente, también puede ensayarse PRLR humano en líquidos biológicos por un inmunoensayo de competición que utiliza patrones de PRLRh marcados con una sustancia detectable y un anticuerpo anti-PRLR humano no marcado.

45 Los anticuerpos y porciones de anticuerpo de la invención son preferentemente capaces de neutralizar la actividad de PRLR humano tanto *in vitro* como *in vivo*. Por consiguiente, tales anticuerpos y porciones de anticuerpo de la invención pueden usarse para inhibir la actividad de PRLRh, por ejemplo, en un cultivo celular que contiene PRLRh, en sujetos humanos o en otros sujetos mamíferos que tienen PRLR con el que un anticuerpo de la invención reacciona de forma cruzada. En una realización, la divulgación proporciona un método de inhibición de la actividad de PRLRh que comprende poner en contacto PRLRh con un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención de forma que se inhiba la actividad de PRLRh. Por ejemplo, en un cultivo celular que contiene, o que se sospecha que contiene, PRLRh, puede añadirse un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención al medio de cultivo para inhibir la actividad de PRLRh en el cultivo.

55 En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de reducción de la actividad de PRLRh en un sujeto, ventajosamente de un sujeto que padece una enfermedad o trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial. La divulgación proporciona métodos de reducción de la actividad de PRLR en un sujeto que padece una enfermedad o trastorno tal, método que comprende administrar al sujeto un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención de forma que se reduzca la actividad de PRLR en el sujeto. Preferentemente, el PRLR es PRLR humano, y el sujeto es un sujeto humano. Alternativamente, el sujeto puede ser un mamífero que expresa un PRLR al que es capaz de unirse un anticuerpo de la invención. Todavía más, el sujeto puede ser un mamífero en el que se ha introducido PRLR (por ejemplo, por administración de PRLR o por expresión de un transgén de PRLR). Un anticuerpo de la invención puede administrarse a un sujeto humano para fines terapéuticos. Además, un anticuerpo de la invención

puede administrarse a un mamífero no humano que expresa a PRLR con el que el anticuerpo es capaz de unirse para fines veterinarios o como un modelo animal de enfermedad humana. Con respecto a lo último, tales modelos animales pueden ser útiles para evaluar la eficacia terapéutica de los anticuerpos de la invención (por ejemplo, prueba de dosis y evoluciones temporales de la administración).

5 Como se usa en el presente documento, el término "un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial" pretende incluir enfermedades y otros trastornos en los que se ha mostrado que la presencia de PRLR en un sujeto que padece el trastorno es o se sospecha que es o bien responsable de la fisiopatología del trastorno o bien un factor que contribuye a un empeoramiento del trastorno. Por consiguiente, un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial es un trastorno en el que se espera que la reducción de la actividad de PRLR alivie los síntomas y/o progresión del trastorno. Tales trastornos pueden ser demostrados, por ejemplo, por un aumento en la concentración de PRLR en un líquido biológico de un sujeto que padece el trastorno (por ejemplo, un aumento en la concentración de PRLR en suero, plasma, líquido sinovial, etc., del sujeto), que puede detectarse, por ejemplo, usando un anticuerpo anti-PRLR como se ha descrito anteriormente. Ejemplos no limitantes de trastornos que pueden tratarse con los anticuerpos de la divulgación, por ejemplo, Ab1 Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, chAb5, Ab6, chAb6, Ab7, chAb7, Ab8, chAb8, Ab9, chAb9, Ab10, chAb10, Ab11, chAb11, Ab13, chAb13, Ab14, Ab15, Ab16, Ab17, Ab18, Ab19, Ab20, Ab21, Ab22, Ab23, Ab24, Ab25, Ab26, Ab27, Ab28, Ab29, Ab30, Ab31, Ab32, Ab33, Ab34, Ab35, Ab36, Ab37, Ab38, Ab39, Ab40, Ab41, Ab42, Ab43, Ab44, Ab45, Ab46, Ab47, Ab48, Ab49, Ab50, Ab51, Ab52, Ab53, Ab54 o Ab55, variantes de los mismos, o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, incluyen aquellos trastornos tratadps en la sección a continuación referente a composiciones farmacéuticas de los anticuerpos de la invención. Por ejemplo, trastornos adecuados incluyen, pero no se limitan a, una variedad de cánceres que incluyen, pero no se limitan a, melanoma, linfoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, carcinoma renal, cáncer gastrointestinal, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer pancreático, cáncer endometrial y cáncer de próstata. En realizaciones particulares, el cáncer es cáncer de mama, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer endometrial o cáncer de pulmón. En una realización particular, el cáncer es cáncer de mama. En una realización particular, el cáncer es cáncer de próstata.

En otro aspecto, la presente divulgación se refiere al tratamiento de "un trastorno asociado a la expresión por defecto o actividad reducida de PRLR". Como se usa en el presente documento, el término "un trastorno asociado a la expresión por defecto o actividad reducida de PRLR" pretende incluir enfermedades y otros trastornos en los que se ha mostrado que la expresión por defecto o actividad reducida de PRLR es o se sospecha que es o bien responsable de la fisiopatología del trastorno o bien un factor que contribuye a un empeoramiento del trastorno. Por consiguiente, se espera que aumentar la actividad de la actividad de PRLR alivie los síntomas y/o la progresión de estos trastornos. Tales trastornos pueden ser demostrados, por ejemplo, por una disminución en la concentración de PRLR en un líquido biológico de un sujeto que padece el trastorno (por ejemplo, una disminución en la concentración de PRLR en suero, plasma, líquido sinovial, etc., del sujeto), que puede detectarse, por ejemplo, usando un anticuerpo anti-PRLR como se ha descrito anteriormente. Ejemplos no limitantes de trastornos que pueden tratarse con los anticuerpos de la invención, por ejemplo, Ab12, variantes chAb12 de los mismos, o fragmentos de unión al antígeno de los mismos, incluyen potenciar el desarrollo mamario o aumentar la lactación.

#### IV. Composiciones farmacéuticas

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas que comprenden anticuerpos de la invención son para su uso en, pero no se limitan a, diagnosticar, detectar o monitorizar un trastorno, en prevenir, tratar, gestionar o mejorar un trastorno o uno o más síntomas del mismo, y/o en investigación. En una realización específica, una composición comprende uno o más anticuerpos de la invención. En otra realización, la composición farmacéutica comprende uno o más anticuerpos de la invención y uno o más agentes profilácticos o terapéuticos distintos de los anticuerpos de la invención para tratar un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial. Preferentemente, los agentes profilácticos o terapéuticos son conocidos por ser útiles para o haber sido o estar actualmente siendo usados en la prevención, tratamiento, gestión o mejora de un trastorno o uno o más síntomas del mismo. Según estas realizaciones, la composición puede comprender además un vehículo, diluyente o excipiente.

Los anticuerpos y porciones de anticuerpo de la invención pueden incorporarse en composiciones farmacéuticas adecuadas para administración a un sujeto. Normalmente, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción, y similares que son fisiológicamente compatibles. Ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen uno o más de agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, además de combinaciones de los mismos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, o cloruro sódico en la composición. Vehículos farmacéuticamente aceptables pueden comprender además cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes o tampones, que potencian la estabilidad en almacén o eficacia del anticuerpo o porción de anticuerpo.

Se conocen diversos sistemas de administración y pueden ser usados para administrar uno o más anticuerpos de la invención o la combinación de uno o más anticuerpos de la invención y un agente profiláctico o agente terapéutico útil para prevenir, gestionar, tratar o mejorar un trastorno o uno o más síntomas del mismo, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar el anticuerpo o fragmento de anticuerpo, endocitosis mediada por receptor (véase, por ejemplo, Wu y Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)), construcción de un ácido nucleico como parte de un vector retroviral u otro vector, etc. Métodos de administración de un agente profiláctico o terapéutico de la invención incluyen, pero no se limitan a, administración parenteral (por ejemplo, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa y subcutánea), administración epidural, administración intratumoral y administración a la mucosa (por ejemplo, vías intranasal y oral). Además, puede emplearse administración pulmonar, por ejemplo, por uso de un inhalador o nebulizador, y formulación con un agente aerosolizante. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N.º 6.019.968, 5.985.320, 5.985.309, 5.934.272, 5.874.064, 5.855.913, 5.290.540 y 4.880.078; y publicaciones PCT N.º WO 92/19244, WO 97/32572, WO 97/44013, WO 98/31346 y WO 99/66903. En un aspecto, un anticuerpo de la invención, terapia de combinación, o una composición de la invención, se administra usando la tecnología de administración de fármacos pulmonares Alkermes AIR® (Alkermes, Inc., Cambridge, Masa.). En un aspecto específico, agentes profilácticos o terapéuticos de la invención se administran por vía intramuscular, por vía intravenosa, por vía intratumoral, por vía oral, por vía intranasal, pulmonar, o por vía subcutánea. Los agentes profilácticos o terapéuticos pueden administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de los revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos. La administración puede ser sistémica o local.

En un aspecto específico, puede ser deseable administrar los agentes profilácticos o terapéuticos de la invención localmente al área en necesidad de tratamiento; esto puede lograrse por, por ejemplo, y no a modo de limitación, infusión local, por inyección, o por medio de un implante, siendo dicho implante de un material poroso o no poroso, que incluye membranas y matrices, tales como membranas sialísticas, polímeros, matrices fibrosas (por ejemplo, Tissuel®), o matrices de colágeno. En un aspecto, se administra una cantidad eficaz de uno o más anticuerpos de la invención antagonistas localmente al área afectada a un sujeto para prevenir, tratar, gestionar y/o mejorar un trastorno o un síntoma del mismo. En otro aspecto, se administra una cantidad eficaz de uno o más anticuerpos de la invención localmente al área afectada en combinación con una cantidad eficaz de una o más terapias (por ejemplo, uno o más agentes profilácticos o terapéuticos) distintos de un anticuerpo de la invención de un sujeto para prevenir, tratar, gestionar y/o mejorar un trastorno o uno o más síntomas del mismo.

En otro aspecto, el agente profiláctico o terapéutico de la divulgación puede administrarse en un sistema de liberación controlada o de liberación sostenida. En un aspecto, puede usarse una bomba para lograr la liberación controlada o sostenida (véanse Langer, arriba; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20; Buchwald et al., 1980, Surgery 88:507; Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321:574). En otro aspecto, pueden usarse materiales poliméricos para lograr la liberación controlada o sostenida de las terapias de la invención (véanse, por ejemplo, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, 1983, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61; véanse también Levy et al., 1985, Science 228:190; During et al., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71:105; patente de EE.UU. N.º 5.679.377; patente de EE.UU. N.º 5.916.597; patente de EE.UU. N.º 5.912.015; patente de EE.UU. N.º 5.989.463; patente de EE.UU. N.º 5.128.326; publicación PCT N.º WO 99/15154; y publicación PCT N.º WO 99/20253. Ejemplos de polímeros usados en las formulaciones de liberación sostenida incluyen, pero no se limitan a, poli(metacrilato de 2-hidroxietilo), poli(metacrilato de metilo), poli(ácido acrílico), poli(etileno-co-acetato de vinilo), poli(ácido metacrílico), poliglicolidas (PLG), polianhídridos, poli(N-vinilpirrolidona), poli(alcohol vinílico), poli(acrilamida), poli(etilenglicol), polilactidas (PLA), poli(lactida-co-glicolidas) (PLGA) y poliortoésteres. En un aspecto preferido, el polímero usado en una formulación de liberación sostenida es inerte, está libre de impurezas lixiviables, es estable durante el almacenamiento, estéril y biodegradable. En otro aspecto más, puede ponerse un sistema de liberación controlada o sostenida en la proximidad de la diana profiláctica o terapéutica, requiriendo así solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, en Medical Applications of Controlled Release, arriba, vol. 2, pp. 115-138 (1984)).

Los sistemas de liberación controlada se tratan en la revisión por Langer (1990, Science 249:1527-1533). Puede usarse cualquier técnica conocida para un experto en la materia para producir formulaciones de liberación sostenida que comprenden uno o más agentes terapéuticos de la divulgación. Véanse, por ejemplo, la patente de EE.UU. N.º 4.526.938, publicación PCT WO 91/05548, publicación PCT WO 96/20698, Ning et al., 1996, "Intratumoral Radioimmunotherapy of a Human Colon Cancer Xenograft Using a Sustained-Release Gel", Radiotherapy & Oncology 39:179-189, Song et al., 1995, "Antibody Mediated Lung Targeting of Long- Circulating Emulsions", PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology 50:372-397, Cleek et al., 1997, "Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application", Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854, y Lam et al., 1997, "Microencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery", Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759- 760.

En un aspecto específico, donde la composición de la divulgación es un ácido nucleico que codifica un agente profiláctico o terapéutico, el ácido nucleico puede administrarse *in vivo* para promover la expresión de su agente profiláctico o terapéutico codificado, construyéndolo como parte de un vector de expresión de ácido nucleico

apropiado y administrándolo de manera que llegue a ser intracelular, por ejemplo, por el uso de un vector retroviral (véase la patente de EE.UU. N.º 4.980.286), o por inyección directa, o por el uso de bombardeo con micropartículas (por ejemplo, una pistola de genes; Biolistic, Dupont), o recubrimiento con lípidos o receptores de la superficie celular o agentes de transfección, o administrándolo en conexión con un péptido de tipo homeocaja que se sabe que entra en el núcleo (véase, por ejemplo, Joliot et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868). Alternativamente, un ácido nucleico puede introducirse intracelularmente e incorporarse dentro del ADN de la célula hospedadora para la expresión por recombinación homóloga.

Una composición farmacéutica de la invención se formula para ser compatible con su vía de administración prevista. Ejemplos de vías de administración incluyen, pero no se limitan a, parenteral, por ejemplo, administración intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral, intranasal (por ejemplo, inhalación), transdérmica (por ejemplo, tópica), transmucosa y rectal. En un aspecto específico, la composición se formula según procedimientos rutinarios como una composición farmacéutica adaptada para administración intravenosa, subcutánea, intramuscular, oral, intranasal o tópica a los seres humanos. Normalmente, las composiciones para administración intravenosa son disoluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Donde sea necesario, la composición también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local tal como lidocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección.

Si las composiciones de la invención van a administrarse por vía apical, las composiciones pueden formularse en forma de una pomada, crema, parche transdérmico, loción, gel, champú, espray, aerosol, disolución, emulsión, u otra forma muy conocida para un experto en la materia. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 19th ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (1995). Para formas de dosificación tópicas no pulverizables, normalmente se emplean formas de viscosas a semi-sólidas o sólidas que comprenden un vehículo o uno o más excipientes compatibles con la administración tópica y que tienen una viscosidad dinámica preferentemente superior a la del agua. Formulaciones adecuadas incluyen, sin limitación, disoluciones, suspensiones, emulsiones, cremas, pomadas, polvos, linimentos, bálsamos, y similares, que son, si se desea, esterilizados o mezclados con agentes auxiliares (por ejemplo, conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, tampones, o sales) para influir en diversas propiedades, tales como, por ejemplo, presión osmótica. Otras formas de dosificación tópica adecuadas incluyen preparaciones de aerosol pulverizables en las que el principio activo, preferentemente en combinación con un vehículo inerte sólido o líquido, se envasa en una mezcla con un volátil presurizado (por ejemplo, un propulsor gaseoso, tal como freón) o en un frasco exprimible. También pueden añadirse hidratantes o humectantes a las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación, si se desea. Ejemplos de tales componentes adicionales son muy conocidos en la técnica.

Si el método de la divulgación comprende administración intranasal de una composición, la composición puede formularse en una forma de aerosol, espray, niebla o en forma de gotas. En particular, los agentes profilácticos o terapéuticos para su uso según la presente invención pueden ser convenientemente administrados en forma de una presentación de espray en aerosol de envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor apropiado (por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado). En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede ser determinada proporcionando una válvula para administrar una cantidad dosificada. Pueden formularse cápsulas y cartuchos (compuestos de, por ejemplo, gelatina) para su uso en un inhalador o insuflador que contienen una mezcla en polvo del compuesto y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Si el método de la divulgación comprende administración por vía oral, las composiciones pueden formularse por vía oral en forma de comprimidos, cápsulas, sellos, cápsulas de gelatina, disoluciones, suspensiones, y similares. Pueden prepararse comprimidos o cápsulas mediante medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes de unión (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona, o hidroxipropilmetilcelulosa); cargas (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrógeno fosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (por ejemplo, almidón de patata o glicolato sódico de almidón); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Los comprimidos pueden recubrirse por métodos muy conocidos en la técnica. Preparaciones líquidas para administración por vía oral pueden tomar la forma de, pero no se limitan a, disoluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de uso. Tales preparaciones líquidas pueden prepararse mediante medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa, o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábiga); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendra, ésteres aceitosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales tampón, aromatizantes, colorantes y edulcorantes según convenga. Las preparaciones para administración por vía oral pueden ser adecuadamente formuladas para liberación lenta, liberación controlada o liberación sostenida de un agente(s) profiláctico(s) o terapéutico(s).

El método de la divulgación puede comprender administración pulmonar, por ejemplo, por uso de un inhalador o nebulizador, de una composición formulada con un agente aerosolizante. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. N.º 6.019.968, 5.985.320, 5.985.309, 5.934.272, 5.874.064, 5.855.913, 5.290.540 y 4.880.078; y publicaciones PCT N.º WO 92/19244, WO 97/32572, WO 97/44013, WO 98/31346 y WO 99/66903. En un aspecto



específico, un anticuerpo de la divulgación, terapia de combinación, y/o composición de la divulgación, se administra usando tecnología de administración de fármacos pulmonares Alkermes AIR® (Alkermes, Inc., Cambridge, Masa.).

El método de la divulgación puede comprender la administración de una composición formulada para administración parenteral mediante inyección (por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua). Las formulaciones para inyección puede presentarse en forma de dosificación unitaria (por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis) con un conservante añadido. Las composiciones may pueden adoptar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y puede contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersantes. Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado (por ejemplo, agua libre de pirógenos estéril) antes de uso.

Los métodos de la divulgación pueden comprender además la administración de composiciones formuladas como preparaciones de absorción retardada. Tales formulaciones de acción prolongada pueden administrarse por implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o por vía intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Así, por ejemplo, las composiciones pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles (por ejemplo, como una sal moderadamente soluble).

Los métodos de la divulgación engloban la administración de composiciones formuladas como formas neutras o de sal. Sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas formadas con aniones tales como aquellas derivadas de ácidos clorhídrico, fosfórico, acético, oxálico, tartárico, etc., y aquellas formadas con cationes tales como aquellos derivados de hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio, férricos, isopropilamina, trietilamina, 2-etilaminoetanol, histidina, procaína, etc.

Generalmente, los componentes de las composiciones se suministran o bien por separado o bien mezclados juntos en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado libre de agua en un envase herméticamente sellado tal como una ampolla o sobre que indica la cantidad de agente activo. Donde el modo de administración sea infusión, la composición puede ser dispensada con una botella de infusión que contiene agua de calidad farmacéutica estéril o solución salina. Donde el modo de administración sea mediante inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de manera que los componentes puedan mezclarse antes de la administración.

En particular, la divulgación también proporciona que uno o más de los agentes profilácticos o terapéuticos, o composiciones farmacéuticas de la invención, esté envadaado en un envase herméticamente sellado tal como una ampolla o sobre que indica la cantidad del agente. En una realización, uno o más de los agentes profilácticos o terapéuticos, o composiciones farmacéuticas de la invención, se suministra como un polvo liofilizado esterilizado seco o concentrado libre de agua en un envase herméticamente sellado y puede reconstituirse (por ejemplo, con agua o solución salina) a la concentración apropiada para administración a un sujeto. Preferentemente, uno o más de los agentes profilácticos o terapéuticos o composiciones farmacéuticas de la invención se suministra como un polvo liofilizado estéril seco en un envase herméticamente sellado a una dosificación unitaria de al menos 5 mg, más preferentemente al menos 10 mg, al menos 15 mg, al menos 25 mg, al menos 35 mg, al menos 45 mg, al menos 50 mg, al menos 75 mg, o al menos 100 mg. Los agentes profilácticos o terapéuticos liofilizados o composiciones farmacéuticas de la invención deben almacenarse a entre 2 ° C y 8 ° C en su recipiente original y los agentes profilácticos o terapéuticos o composiciones farmacéuticas de la invención deben administrarse en el plazo de 1 semana, preferentemente en el plazo de 5 días, en el plazo de 72 horas, en el plazo de 48 horas, en el plazo de 24 horas, en el plazo de 12 horas, en el plazo de 6 horas, en el plazo de 5 horas, en el plazo de 3 horas, o en el plazo de 1 hora después de ser reconstituidas. En un aspecto alternativo, uno o más de los agentes profilácticos o terapéuticos o composiciones farmacéuticas de la invención se suministra en forma líquida en un envase herméticamente sellado que indica la cantidad y concentración del agente. Preferentemente, la forma líquida de la composición administrada se suministra en un envase herméticamente sellado a al menos 0,25 mg/ml, más preferentemente al menos 0,5 mg/ml, al menos 1 mg/ml, al menos 2,5 mg/ml, al menos 5 mg/ml, al menos 8 mg/ml, al menos 10 mg/ml, al menos 15 mg/kg, al menos 25 mg/ml, al menos 50 mg/ml, al menos 75 mg/ml o al menos 100 mg/ml. La forma líquida debe almacenarse entre 2 ° C y 8 ° C en su recipiente original.

Los anticuerpos y porciones de anticuerpo de la invención pueden incorporarse en una composición farmacéutica adecuada para administración parenteral. Preferentemente, el anticuerpo o porciones de anticuerpo se preparará como una disolución inyectable que contiene 0,1-250 mg/ml de anticuerpo. La disolución inyectable puede estar compuesto de o bien un líquido o bien forma liofilizada de dosificación en un vial flint o ámbar, ampolla o jeringa precargada. El tampón puede ser L-histidina (1-50 mM), óptimamente 5-10 mM, a pH 5,0 to 7,0 (óptimamente pH 6,0). Otros tampones adecuados incluyen pero no se limitan a, succinato de sodio, citrato de sodio, fosfato de sodio o fosfato de potasio. Puede usarse cloruro sódico para modificar la toxicidad de la disolución a una concentración de 0-300 mM (óptimamente 150 mM para una forma de dosificación líquida). Pueden incluirse crioprotectores para una forma de dosificación liofilizada, principalmente 0-10 % de sacarosa (óptimamente 0,5-1,0 %). Otros crioprotectores adecuados incluyen trehalosa y lactosa. Pueden incluirse agentes de carga para una forma de dosificación liofilizada, principalmente 1-10 % de manitol (óptimamente 2-4 %). Pueden usarse estabilizadores en tanto formas de dosificación líquidas como liofilizadas, principalmente L-metionina 1-50 mM (óptimamente 5-10 mM). Otros agentes de carga adecuados incluyen glicina, arginina, pueden incluirse como 0-0,05 % de polisorbato-80 (óptimamente

0,005-0,01 %). Tensioactivos adicionales incluyen, pero no se limitan a, tensioactivos polisorbato 20 y BRIJ. La composición farmacéutica que comprende los anticuerpos y porciones de anticuerpo de la invención preparada como una disolución inyectable para administración parenteral puede comprender además un agente útil como adyuvante, tal como aquellos usados para aumentar la absorción, o dispersión de una proteína terapéutica (por ejemplo, anticuerpo). Un adyuvante particularmente útil es hialuronidasa, tal como Hylenex® (hialuronidasa humana recombinante). La adición de hialuronidasa en la disolución inyectable mejora la biodisponibilidad humana tras la administración parenteral, particularmente la administración subcutánea. También permite mayores volúmenes del sitio de inyección (es decir, superiores a 1 ml) con menos dolor y molestia, e incidencia mínima de reacciones del sitio de inyección (véanse los documentos WO2004078140, US2006104968).

Las composiciones de la presente invención pueden estar en una variedad de formas. Éstas incluyen, por ejemplo, formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas, tales como disoluciones líquidas (por ejemplo, disoluciones inyectables e infusibles), dispersiones o suspensiones, comprimidos, píldoras, polvos, liposomas y supositorios. La forma preferida depende del modo previsto de administración y aplicación terapéutica. Composiciones preferidas típicas están en forma de disoluciones inyectables o infusibles, tales como composiciones similares a aquellas usadas para la inmunización pasiva de seres humanos con otros anticuerpos. El modo de administración preferido es parenteral (por ejemplo, intravenoso, subcutáneo, intraperitoneal, intramuscular). En un aspecto preferido, el anticuerpo se administra por infusión o inyección intravenosa. En otro aspecto preferido, el anticuerpo se administra por inyección intramuscular o subcutánea.

Las composiciones terapéuticas normalmente deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una disolución, microemulsión, dispersión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para alta concentración de fármaco. Pueden prepararse disoluciones inyectables estériles incorporando el compuesto activo (es decir, anticuerpo o porción de anticuerpo) en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de componentes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros componentes requeridos de aquellos enumerados anteriormente. En el caso de polvos liofilizados estériles para la preparación de disoluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son secado a vacío y secado por pulverización que da un polvo del principio activo más cualquier componente deseado adicional de una disolución previamente esterilizada por filtración del mismo. La fluidez apropiada de una disolución puede mantenerse, por ejemplo, usando un recubrimiento tal como lecitina, por el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y usando tensioactivos. Puede provocarse la absorción prolongada de composiciones inyectables incluyendo, en la composición, un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

Los anticuerpos y porciones de anticuerpo de la presente invención pueden administrarse mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica, aunque para muchas aplicaciones terapéuticas, la vía/modo de administración preferido es inyección subcutánea, inyección intravenosa o infusión. Como será apreciado por el experto, la vía y/o modo de administración variarán dependiendo de los resultados deseados. En ciertos aspectos, el compuesto activo puede prepararse con un vehículo que protegerá el compuesto contra la rápida liberación, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes, parches transdérmicos y sistemas de administración microencapsulada. Pueden usarse polímeros biocompatibles biodegradables, tales como etileno-acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos métodos para la preparación de tales formulaciones están patentados o son generalmente conocidos para aquellos expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

En ciertos aspectos, un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención puede administrarse por vía oral, por ejemplo, con un diluyente inerte o un vehículo comestible asimilable. El compuesto (y otros componentes, si se desea) también puede estar encerrado en una cápsula de gelatina dura o blanda, comprimido en comprimidos, o incorporado directamente en la dieta del sujeto. Para administración terapéutica oral, los compuestos pueden incorporarse con excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, y similares. Puede ser necesaria la administración de un compuesto de la invención por administración distinta de la parenteral para recubrir el compuesto con, o co-administrar el compuesto con, un material para prevenir su inactivación.

En otros aspectos, un anticuerpo o porción de anticuerpo de la divulgación puede conjugarse con una especie basada en polímero de forma que dichas especies basadas en polímero puedan conferir un tamaño suficiente a dicho anticuerpo o porción de anticuerpo de la divulgación de forma que dicho anticuerpo o porción de anticuerpo de la divulgación se beneficie de la permeabilidad potenciada y efecto de retención (efecto EPR) (véanse también la publicación PCT N.º WO2006/042146A2 y las publicaciones de EE.UU. N.º 2004/0028687A1, 2009/0285757A1, y 2011/0217363A1, y la patente de EE.UU. N.º 7.695.719.

También pueden incorporarse compuestos activos complementarios en las composiciones. En ciertos aspectos, un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención se formula con y/o coadministra con uno o más agentes terapéuticos adicionales que son útiles para tratar trastornos en los que la actividad de PRLR es perjudicial. Por ejemplo, un anticuerpo anti-PRLRh o porción de anticuerpo de la invención puede formularse y/o coadministrarse

con uno o más anticuerpos adicionales que se unen a otra dianas (por ejemplo, anticuerpos que se unen a citocinas o que se unen a moléculas de la superficie celular). Además, pueden usarse uno o más anticuerpos de la invención en combinación con dos o más de los agentes terapéuticos anteriores. Tales terapias de combinación pueden utilizar ventajosamente dosificaciones más bajas de los agentes terapéuticos administrados, evitando así posibles toxicidades o complicaciones asociadas a las diversos monoterapias.

En ciertos aspectos, un anticuerpo contra PRLR o fragmento del mismo está unido a un vehículo que prolonga la semivida conocido en la técnica. Tales vehículos incluyen, pero no se limitan a, el dominio Fc, polietilenglicol y dextrano. Tales vehículos se describen, por ejemplo, en la patente de EE.UU. 6.660.843 y la solicitud PCT publicada N.º WO 99/25044.

En un aspecto específico, se administran secuencias de ácidos nucleicos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican un anticuerpo de la invención u otro agente profiláctico o terapéutico de la divulgación para tratar, prevenir, gestionar o mejorar un trastorno o uno o más síntomas del mismo a modo de terapia génica. Terapia génica se refiere a terapia realizada por la administración a un sujeto de un ácido nucleico expresado o expresable. En este aspecto de la divulgación, los ácidos nucleicos producen su anticuerpo codificado o agente profiláctico o terapéutico de la divulgación que media en un efecto profiláctico o terapéutico.

Pueden usarse cualquiera de los métodos para terapia génica disponibles en la materia según la presente invención. Para revisiones generales de los métodos de terapia génica, véanse Goldspiel et al., 1993, *Clinical Pharmacy* 12:488-505; Wu and Wu, 1991, *Biotherapy* 3:87-95; Tolstoshev, 1993, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596; Mulligan, *Science* 260:926- 932 (1993); y Morgan y Anderson, 1993, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217; mayo de 1993, *TIBTECH* 11(5):155-215. Métodos comúnmente conocidos en la técnica de la tecnología de ADN recombinante que pueden usarse se describen en Ausubel et al. (eds.), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); y Kriegler, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY (1990). Descripción detallada de diversos métodos de terapia génica se proporciona en el documento US20050042664 A1.

En otro aspecto, la presente solicitud caracteriza un método de tratamiento de (por ejemplo, cura, supresión, mejora, retraso o prevención de la aparición de, o prevención de la reaparición o recaída de) o prevención de un trastorno asociado a PRLR, en un sujeto. El método incluye: administrar al sujeto un agente de unión a PRLR (particularmente un antagonista), por ejemplo, un anticuerpo anti-PRLR o fragmento del mismo como se describe en el presente documento, en una cantidad suficiente para tratar o prevenir el trastorno asociado a PRLR. El antagonista de PRLR, por ejemplo, el anticuerpo anti-PRLR o fragmento del mismo, puede administrarse al sujeto solo o en combinación con otras modalidades terapéuticas como se describen en el presente documento.

En otro aspecto, la presente solicitud proporciona un método de detección de la presencia de PRLR en una muestra *in vitro* (por ejemplo, una muestra biológica, tal como suero, plasma, tejido, biopsia). El método sujeto puede usarse para diagnosticar un trastorno, por ejemplo, un cáncer. El método incluye: (i) poner en contacto la muestra o una muestra de control con el anticuerpo anti-PRLR o fragmento del mismo como se describe en el presente documento; y (ii) detectar la formación de un complejo entre el anticuerpo anti-PRLR o fragmento del mismo y la muestra o la muestra de control, en el que un cambio estadísticamente significativo en la formación del complejo en la muestra con respecto a la muestra de control es indicativo de la presencia de PRLR en la muestra.

En otro aspecto más, la presente solicitud proporciona un método de detección de la presencia de PRLR *in vivo* (por ejemplo, obtención de imágenes *in vivo* en un sujeto). El método sujeto puede usarse para diagnosticar un trastorno, por ejemplo, un trastorno asociado a PRLR. El método incluye: (i) administrar el anticuerpo anti-PRLR o fragmento del mismo como se describe en el presente documento a un sujeto o un sujeto de control en condiciones que permiten la unión del anticuerpo o fragmento a PRLR; y (ii) detectar la formación de un complejo entre el anticuerpo o fragmento y PRLR, en el que un cambio estadísticamente significativo en la formación del complejo en el sujeto con respecto al sujeto de control es indicativo de la presencia de PRLR.

Los anticuerpos de la invención, o porciones de unión al antígeno de los mismos, pueden usarse solas o en combinación para tratar tales enfermedades. Debe entenderse que los anticuerpos de la invención o porción de unión al antígeno de los mismos pueden usarse solos o en combinación con un agente adicional, por ejemplo, un agente terapéutico, siendo dicho agente adicional seleccionado por el experto para su fin previsto. Por ejemplo, el agente adicional puede ser un agente terapéutico reconocido en la materia por ser útil para tratar la enfermedad o afección que está tratándose por el anticuerpo de la presente invención. El agente adicional también puede ser un agente que confiere un atributo beneficioso a la composición terapéutica, por ejemplo, un agente que afecta la viscosidad de la composición.

Debe entenderse además que las combinaciones que van a incluirse dentro de la presente divulgación son aquellas combinaciones útiles para su fin previsto. Los agentes expuestos más adelante son ilustrativos para los fines y no pretenden ser limitados. Las combinaciones, que son parte de la presente divulgación, pueden ser los anticuerpos de la presente divulgación y al menos un agente adicional seleccionado de las listas de más a continuación. La combinación también puede incluir más de un agente adicional, por ejemplo, dos o tres agentes adicionales si la combinación es tal que la composición formada puede realizar su función prevista.

La terapia de combinación puede incluir uno o más antagonistas de PRLR, por ejemplo, anticuerpos anti-PRLR o fragmentos de los mismos, formulados con, y/o coadministrados con, uno o más agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo, uno o más inhibidores de citocinas y factores de crecimiento, inmunosupresores, agentes antiinflamatorios (por ejemplo, agentes antiinflamatorios sistémicos), agentes antifibróticos, inhibidores metabólicos, inhibidores de enzimas y/o agentes citotóxicos o citostáticos, inhibidores mitóticos, antibióticos antitumorales, agentes inmunomoduladores, vectores para terapia génica, agentes alquilantes, agentes antiangiogénicos, antimetabolitos, agentes que contienen boro, agentes quimioprotectores, hormonas, agentes antihormonales, corticosteroides, agentes terapéuticos fotoactivos, oligonucleótidos, agentes de radionúclido, inhibidores de la topoisomerasa, inhibidores de tirosina cinasas, o radiosensibilizadores, como se describen en más en el presente documento.

En un aspecto particular, las proteínas de unión anti-PRLR descritas en el presente documento, por ejemplo, los anticuerpos anti-PRLR, se usan en combinación con un agente antineoplásico o un agente antineoplásico. Los términos "agente antineoplásico" y "agente antineoplásico" se refieren a fármacos usados para tratar tumores malignos, tales como crecimientos cancerosos. Puede usarse farmacoterapia sola, o en combinación con otros tratamientos tales como cirugía o radioterapia. Pueden usarse varias clases de fármacos en el tratamiento del cáncer, dependiendo de la naturaleza del órgano implicado. Por ejemplo, los cánceres de mama son comúnmente estimulados por estrógenos, y pueden tratarse con fármacos que inactivan las hormonas sexuales. Similarmente, el cáncer de próstata puede tratarse con fármacos que inactivan andrógenos, la hormona sexual masculina. Agentes antineoplásicos que pueden usarse conjuntamente con los anticuerpos anti-PRLR de la presente invención incluyen, entre otros, los siguientes agentes:

Agente antineoplásico	Comentarios	Ejemplos
Anticuerpos (a) anticuerpos distintos de anticuerpos anti-PRLR; y (b) anticuerpos anti-PRLR que se unen a diferentes epítopes	Anticuerpos que se unen a IGF-1R (receptor del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1), que se expresan sobre la superficie celular de la mayoría de los cánceres humanos	A 12 (mAb completamente humanizado) 19D12 (mAb completamente humanizado) Cp751-871 (mAb completamente humanizado) H7C10 (mAb humanizado) alfaR3 (ratón) scFV/FC (quimera ratón/humana) EM/164 (ratón)
	Anticuerpos que se unen a EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico); mutaciones que afectan la expresión o actividad de EGFR podrían producir cáncer	Matuzumab (EMD72000) Erbitux® / Cetuximab (Imclone) Vectibix® / Panitumumab (Amgen) mAb 806 Nimotuxumab (TheraCIM) AVEO (AV299) (AVEO)
	Anticuerpos que se unen a cMET (factor de transición epitelial-mesenquimatoso); un miembro de la familia MET de tirosina cinasas de receptor)	AMG102 (Amgen) 5D5 (OA-5d5) (Genentech) H244G11 (Pierre Fabre)
	Anticuerpos anti-ErbB3 que se unen a diferentes epítopes	Ab #14 (MM 121-14) Herceptin® (Trastuzumab; Genentech) 1B4C3; 2D1D12 (U3 PharmaAG)

Agente antineoplásico	Comentarios	Ejemplos
Moléculas pequeñas que se dirigen a IGF1R	Receptor del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 que se expresa sobre la superficie celular de muchos cánceres humanos	<p>NVP-AEW541-A</p> <p>BMS-536,924 (1H-benzoimidazol-2-il)-1H-piridin-2-ona)</p> <p>BMS-554.417</p> <p>Cycloligan</p> <p>TAE226</p> <p>PQ401</p>
Moléculas pequeñas que se dirigen a EGFR	EGFR (receptor de factor de crecimiento epidérmico); expresión en exceso o mutaciones que afectan la expresión o actividad de EGFR podrían producir cáncer	<p>Iressa® / Gefitinib (AstraZeneca) CI-1033 (PD 183805) (Pfizer)</p> <p>Lapatinib (GW-572016) (GlaxoSmithKline)</p> <p>Tykerb® / ditosilato de lapatinib (Smith Kline Beecham)</p> <p>Tarceva ® / HCl de erlotinib (OSI-774) (OSI Pharma)</p> <p>PKI-166 (Novartis)</p> <p>PD-158780</p> <p>EKB-569</p> <p>Tyrphostin AG 1478 (4-(3-cloroanilino)-6,7-dimetoxiquinazolina)</p>
Moléculas pequeñas que se dirigen a cMET	cMET (factor de transición epitelial-mesenquimatoso); un miembro de la familia MET de tirosina cinasas de receptor)	<p>PHA665752</p> <p>ARQ 197</p>
Antimetabolitos		<p>Flourouracilo (5-FU)</p> <p>Capecitabina / XELODA® (HLR Roche)</p> <p>5-Trifluorometil-2'-desoxiuridina metotrexato sódico (Trexall) (Barr)</p> <p>Raltitrexed/ Tomudex® (AstraZeneca)</p> <p>Pemetrexed / Alimta® (Lilly)</p> <p>Tegafur</p> <p>Citosina arabinósido (citarabina, Ara-C) / Thioguanine® (GlaxoSmithKline)</p> <p>5-azacitidina 6-mercaptopurina (mercaptopurina, 6-MP)</p> <p>Azatioprina / Azasan® (AAIPHARMA LLC)</p>

Agente antineoplásico	Comentarios	Ejemplos
Agentes alquilantes	Un agente alquilante antineoplásico es un agente alquilante que une un grupo alquilo a ADN. Como las células cancerosas generalmente proliferan ilimitadamente más que las células sanas, son más sensibles al daño del ADN, y se usan clínicamente agentes alquilantes para tratar una variedad de tumores.	<p>6-Tioguanina (6-TG) / Purinethol® (TEVA)</p> <p>Pentostatina / Nipent® (Hospira Inc.)</p> <p>Fosfato de fludarabina / Fludara® (Bayer Health Care)</p> <p>Cladribina (2-CdA, 2-clorodesoxiadenosina) / Leustatin® (Ortho Biotech)</p> <p>Inhibidor de la reductasa de ribonucleótido (RNR)</p> <p>Ciclofosfamida / Cytosan (BMS)</p> <p>Neosar (TEVA)</p> <p>Ifosfamida / Mitoxana® (ASTA Medica)</p> <p>Tiotepa (Bedford, Abraxis, Teva)</p> <p>BCNU→ 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea</p> <p>CCNU→ 1, -(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosourea (metil CCNU)</p> <p>Hexametilmelamina (altretamina, HMM) / Hexalen® (MGI Pharma Inc.)</p> <p>Busulfán / Myleran (GlaxoSmithKline)</p> <p>HCl de procarbazona/ Matulane (Sigma Tau Pharmaceuticals, Inc.)</p> <p>Dacarbazina (DTIC)</p> <p>Clorambucilo / Leucara® (SmithKline Beecham)</p> <p>Melfalán / Alkeran® (GlaxoSmithKline)</p> <p>Cisplatino (cisplatino, CDDP) / Platinol (Bristol Myers)</p> <p>Carboplatino / Paraplatin (BMS)</p> <p>Oxaliplatino / Eloxitan® (Sanofi-Aventis US)</p>
Inhibidores de la topoisomerasa	Los inhibidores de la topoisomerasa son agentes de quimioterapia diseñados para interferir con la acción de las enzimas topoisomerasas (topoisomerasa I y II), que son enzimas que controlan los cambios en la estructura de ADN catalizando la rotura y unión de nuevo del esqueleto de fosfodiéster de hebras de ADN	<p>HCl de doxorubicina / Doxil® (Alza) Citrato de daunorubicina / Daunoxome® (Gilead) HCl de mitoxantrona / Novantrone (EMD Serono)</p> <p>Actinomomicina D</p>

Agente antineoplásico	Comentarios	Ejemplos
	durante el ciclo celular normal.	<p>Etopósido / Vepesid® (BMS)/ Etopophos® (Hospira, Bedford, Teva Parenteral, Etc.)</p> <p>HCl de topotecán / Hycamtin® (GlaxoSmithKline)</p> <p>Tenipósido (VM-26) / Vumon® (BMS)</p> <p>HCl de irinotecán (CPT-II) / Camptosar® (Pharmacia &amp; Upjohn)</p>
Agentes que se dirigen a microtúbulos	Los microtúbulos son uno de los componentes del citoesqueleto. Tienen un diámetro de ~24 nm y longitud variable de varios micrómetros a posiblemente milímetros en axones de células nerviosas. Los microtúbulos sirven de componentes estructurales dentro de las células y participan en muchos procesos celulares que incluyen mitosis, citocinesis y transporte vesicular.	<p>Vincristina / Oncovin® (Lilly)</p> <p>Sulfato de vinblastina / Velban® (retirado) (Lilly)</p> <p>Tartrato de vinorelbina / Navelbine® (PierreFabre)</p> <p>Sulfato de vindesina / Eldisine® (Lilly)</p> <p>Paclitaxel / Taxol® (BMS)</p> <p>Docetaxel / Taxotere® (Sanofi Aventis US)</p> <p>Paclitaxel en nanopartículas (ABI-007) / Abraxane® (Abraxis BioScience, Inc.)</p> <p>Ixabepilona / IXEMPRA™ (BMS)</p>
Inhibidores de cinasas	Las tirosina cinasas son enzimas dentro de la célula que funcionan uniendo grupos fosfato al aminoácido tirosina. Bloqueando la capacidad de las proteínas tirosina cinasas para funcionar, estos compuestos proporcionan una herramienta para controlar el crecimiento de células cancerosas.	<p>Mesilato de imatinib / Gleevec (Novartis)</p> <p>Malato de sunitinib / Sutent® (Pfizer)</p> <p>Tosilato de sorafenib / Nexavar® (Bayer)</p> <p>Clorhidrato de nilotinib monohidratado / Tassigna® (Novartis)</p>
Inhibidores de la síntesis de proteínas	Induce la apoptosis celular	L-asparaginasa / Elspar® (Merck & Co.)
Agentes inmunoterapéuticos	Induce que pacientes con cáncer presenten sensibilidad inmunitaria	<p>Alfa-interferón</p> <p>Inhibidor de la angiogénesis / Avastin® (Genentech)</p> <p>IL-2→ interleucina 2 (aldesleucina) / Proleukin® (Chiron)</p> <p>IL-12→ interleucina 12</p>
Hormonas	Las terapias con hormonas asociadas a la menopausia y el envejecimiento buscan aumentar la cantidad de ciertas hormonas en nuestro	<p>Citrato de toremifeno / Fareston® (GTX, Inc.)</p> <p>Fulvestrant / Faslodex®</p>

Agente antineoplásico	Comentarios	Ejemplos
	<p>cuerpo para compensar los descensos hormonales relacionados con la edad o enfermedad. La terapia con hormonas como un tratamiento para el cáncer o bien reduce el nivel de hormonas específicas o bien altera la capacidad del cáncer para usar estas hormonas para crecer y diseminarse.</p>	<p>(AstraZeneca)</p> <p>HCl de raloxifeno / Evista® (Lilly)</p> <p>Anastrozol / Arimidex® (AstraZeneca)</p> <p>Letrozol / Femara® (Novartis)</p> <p>Fadrozol (CGS 16949A)</p> <p>Exemestano / Aromasin® (Farmacia &amp; Upjohn)</p> <p>Acetato de leuprolida / Eligard® (QTL USA)</p> <p>Lupron® (TAP Pharm)</p> <p>Acetato de goserelina / Zoladex® (AstraZeneca)</p> <p>Pamoato de triptorelina / Trelstar® (Watson Labs)</p> <p>Buserelina / Suprefact® (Sanofi Aventis) nafarelina</p> <p>Cetrorelix / Cetrotide® (EMD Serono)</p> <p>Bicalutamida / Casodex® (AstraZeneca)</p> <p>Nilutamida / Nilandron® (Aventis Pharm.)</p> <p>Acetato de megestrol / Megace® (BMS)</p> <p>Análogos de somatostatina (acetato de octreotida / Sandostatin® (Novartis)</p>
Glucocorticoides	Fármacos antiinflamatorios usados para reducir la hinchazón que produce el dolor por cáncer.	Prednisolona
		Dexametasona / Decadron® (Wyeth)
Inhibidores de aromata	Incluye imidazoles	Cetoconazol
Inhibidores de mTOR	La vía de señalización de mTOR fue originalmente descubierta durante estudios del agente inmunosupresor rapamicina. Esta vía altamente conservada regula la proliferación celular y el metabolismo en respuesta a factores ambientales, uniendo el receptor del factor de crecimiento celular que señala mediante fosfoinositida-3-cinasa (PI-3K) al crecimiento celular, proliferación y angiogénesis.	<p>Sirolimus (rapamicina) / Rapamune® (Wyeth)</p> <p>Temsirolimus (CCI-779) / Torisel® (Wyeth)</p> <p>Deforolimus (AP23573) / (Ariad Pharm.)</p> <p>Everolimus (RAD001) / Certican® (Novartis)</p>

Además de los agentes antineoplásicos anteriores, los anticuerpos anti-PRLR descritos en el presente documento pueden administrarse en combinación con los agentes descritos en la Sección II. Además, los agentes antineoplásicos anteriormente mencionados también pueden usarse en los ADC de la invención.



En aspectos particulares, los anticuerpos anti-PRLR pueden administrarse solos o con otra agente antineoplásico que actúa conjuntamente con o sinérgicamente con el anticuerpo para tratar la enfermedad asociada a la actividad de PRLR. Tales agentes antineoplásicos incluyen, por ejemplo, agentes muy conocidos en la técnica (por ejemplo, citotoxinas, agentes quimioterapéuticos, moléculas pequeñas y radiación). Ejemplos de agentes antineoplásicos incluyen, pero no se limitan a, Panorex (Glaxo-Wellcome), Rituxan (IDEC/Genentech/Hoffman la Roche), Mylotarg (Wyeth), Campath (Millennium), Zevalin (IDEC y Schering AG), Bexxar (Corixa/GSK), Erbitux (Imclone/BMS), Avastin (Genentech) y Herceptin (Genentech/Hoffman la Roche). Otros agentes antineoplásicos incluyen, pero no se limitan a, los desvelados en la patente de EE.UU. N.º 7.598.028 y la publicación internacional N.º WO2008/100624. Pueden administrarse uno o más agentes antineoplásicos ya sea simultáneamente o antes o después de la administración de un anticuerpo o porción de unión al antígeno del mismo de la presente invención.

Ejemplos adicionales de agentes terapéuticos adicionales preferidos que pueden coadministrarse y/o formularse con uno o más antagonistas de PRLR, por ejemplo, anticuerpos anti-PRLR o fragmentos de los mismos, incluyen, pero no se limitan a, uno o más de: esteroides inhalados; beta-agonistas, por ejemplo, beta-agonistas de acción corta o de acción prolongada; antagonistas de leucotrienos o receptores de leucotrieno; fármacos de combinación tales como ADVAIR; inhibidores de IgE, por ejemplo, anticuerpos anti-IgE (por ejemplo, XOLAIR); inhibidores de la fosfodiesterasa (por ejemplo, inhibidores de PDE4); xantinas; fármacos anticolinérgicos; agentes estabilizantes de mastocitos tales como Cromolyn; inhibidores de IL-4; inhibidores de IL-5; inhibidores de eotaxina/CCR3; antagonistas de histamina o sus receptores que incluyen H1, H2, H3 y H4, y antagonistas de prostaglandina D o sus receptores (DP1 y CRTH2). Tales combinaciones pueden usarse para tratar asma y otros trastornos respiratorios. Ejemplos adicionales de agentes terapéuticos que pueden coadministrarse y/o formularse con uno o más anticuerpos anti-PRLR o fragmentos de los mismos incluyen uno o más de: antagonistas de TNF (por ejemplo, un fragmento soluble de un receptor de TNF, por ejemplo, receptor de TNF humano p55 o p75 o derivados del mismo, por ejemplo, TNFR-IgG de 75 kD (proteína de fusión receptor de TNF-IgG de 75 kD, ENBREL)); antagonistas enzimáticos de TNF, por ejemplo, inhibidores de la enzima convertidora de TNF (TACE); antagonistas de receptores muscarínicos; antagonistas de TGF-beta; interferón gamma; perfenidona; agentes quimioterapéuticos, por ejemplo, metotrexato, leflunomida o un sirolimus (rapamicina) o un análogo del mismo, por ejemplo, inhibidores de CCI-779; COX2 y cPLA2; AINE; inmunomoduladores; inhibidores de p38, inhibidores de TPL-2, MK-2 y NFkB, entre otros.

Otras combinaciones preferidas son fármaco(s) antiinflamatorio(s) supresor(es) de citocinas (AINE); anticuerpos contra o antagonistas de otras citocinas humanas o factores de crecimiento, por ejemplo, IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IL-16, IL-18, IL-21, IL-31, interferones, EMAP-II, GM-CSF, FGF, EGF, PDGF y edotelina-1, además de los receptores de estas citocinas y factores de crecimiento. Los anticuerpos de la invención, o porciones de unión al antígeno de los mismos, pueden combinarse con anticuerpos contra moléculas de la superficie celular tales como CD2, CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD30, CD40, CD45, CD69, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90, CTLA o sus ligandos que incluyen CD154 (gp39 o CD40L).

Combinaciones preferidas de agentes terapéuticos pueden interferir en diferentes puntos en la cascada inflamatoria; ejemplos preferidos incluyen antagonistas de TNF como anticuerpos contra TNF quiméricos, humanizados o humanos, adalimumab, (HUMIRA; D2E7; publicación PCT N.º WO 97/29131), CA2 (Remicade™), CDP 571 y receptores de TNF p55 o p75 solubles, derivados de los mismos (p75TNFR1gG (Enbrel™) o p55TNFR1gG (Lenercept)), y también inhibidores de la enzima convertidora de TNF (TACE); similarmente, inhibidores de IL-1 (inhibidores de la enzima convertidora de interleucina-1, IL-1RA, etc.) pueden ser eficaces por el mismo motivo. Otras combinaciones preferidas incluyen interleucina 4.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden incluir una "cantidad terapéuticamente eficaz" o una "cantidad profilácticamente eficaz" de un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosis y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo o porción de anticuerpo puede ser determinada por un experto en la materia y puede variar según factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo y peso del individuo, y la capacidad del anticuerpo o porción de anticuerpo para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del anticuerpo, o porción de anticuerpo, pesa más que los efectos terapéuticamente beneficiosos. Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosis y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado. Normalmente, como una dosis profiláctica se usa en sujetos antes de o en una fase más temprana de la enfermedad, la cantidad profilácticamente eficaz será inferior a la cantidad terapéuticamente eficaz.

Las pautas posológicas pueden ajustarse para proporcionar la respuesta deseada óptima (por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica). Por ejemplo, puede administrarse un único bolo, pueden administrarse varias dosis divididas a lo largo del tiempo, o la dosis puede ser proporcionalmente reducida o aumentada como se indica por las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular las composiciones parentales en forma unitaria de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. Forma unitaria de dosificación como se usa en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos mamíferos que van a tratarse; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas unitarias de dosificación de la invención está

impuesta por y es directamente dependiente de (a) las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico o profiláctico particular que va a lograrse, y (b) las limitaciones inherentes en la materia de combinar un compuesto activo tal para el tratamiento de sensibilidad en individuos.

- 5 Un intervalo no limitante a modo de ejemplo para una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de un anticuerpo o porción de anticuerpo de la invención es 0,1-20 mg/kg, más preferentemente 1-10 mg/kg. Debe observarse que los valores de dosificación pueden variar con el tipo y la gravedad de la afección que va a aliviarse. Debe entenderse además que para cualquier sujeto particular, pautas posológicas específicas deben ajustarse con el tiempo según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que intervalos de dosis expuestos en el presente documento son a modo de ejemplo solo y no pretenden limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada.

## **EJEMPLOS**

### **Ejemplo 1: Generación y aislamiento de anticuerpos monoclonales anti-PRLR humano**

#### **1 Humanización de anticuerpos contra PRLR**

##### **1.1 Selecciones de secuencias de la línea germinal humana para construir anticuerpos contra PRLR humanizados injertados en CDR**

Aplicando la metodología de humanización, se injertaron las secuencias de CDR de cadenas VH y VL de los anticuerpos monoclonales Ab5, Ab6, Ab7 y Ab8 en diferentes secuencias aceptoras de cadenas pesadas y ligeras humanas del siguiente modo:

##### **1.1.1 Ab6**

- 20 Ab1 se refiere a anticuerpos humanizados derivados de Ab6 murino. Basándose en los alineamientos con las secuencias VH y VL del anticuerpo monoclonal Ab6 de la presente invención, se seleccionaron las siguientes secuencias humanas conocidas:

1. IGHV1-69\*02 y IGHJ6\*01 para construir secuencias aceptoras de la cadena pesada
2. IGKV1-12\*01 o IGKV3-15\*01 y IGKJ4\*01 para construir secuencias aceptoras de la cadena ligera

- 25 Injertando las CDR de VH y VL correspondientes de Ab6 en dichas secuencias aceptoras, se prepararon las secuencias de VH y VL injertadas en CDR, humanizadas y modificadas.

##### **1.1.2 Ab5**

- 30 Ab2 se refiere a anticuerpos humanizados derivados de Ab5 murino. Basándose en los alineamientos con secuencias VH y VL del anticuerpo monoclonal Ab5 de la presente invención, se seleccionaron las siguientes secuencias humanas conocidas:

1. IGHV1-69\*01 y IGHJ4\*01 para construir secuencias aceptoras de la cadena pesada
2. IGKV2-29\*02 y IGKJ4\*01 para construir secuencias aceptoras de la cadena ligera

Injertando las CDR de VH y VL correspondientes de Ab5 en dichas secuencias aceptoras, se prepararon las secuencias de VH y VL injertadas en CDR, humanizadas y modificadas.

##### **1.1.3 Ab8**

Ab3 se refiere a anticuerpos humanizados derivados de Ab8 murino. Basándose en los alineamientos con secuencias VH y VL del anticuerpo monoclonal Ab8 de la presente invención, se seleccionaron las siguientes secuencias humanas conocidas:

1. IGHV1-18\*01 y IGHJ6\*01 para construir secuencias aceptoras de la cadena pesada
2. IGKV1D-39\*01 y IGKJ2\*01 para construir secuencias aceptoras de la cadena ligera

Injertando las CDR de VH y VL correspondientes de Ab8 en dichas secuencias aceptoras, se prepararon las secuencias de VH y VL injertadas en CDR, humanizadas y modificadas.

**1.1.4 Ab7**

Ab4 se refiere a anticuerpos humanizados derivados de Ab7 murino. Basándose en los alineamientos con secuencias VH y VL del anticuerpo monoclonal Ab7 de la presente invención, se seleccionaron las siguientes secuencias humanas conocidas:

- 5 1.IGHV1-69\*06 y IGHJ4\*01 para construir secuenciasceptoras de la cadena pesada
2. IGKV2-29\*02 y IGKJ4\*01 para construir secuenciasceptoras de la cadena ligera

Injertando las CDR de VH y VL correspondientes de Ab7 en dichas secuenciasceptoras, se prepararon las secuencias de VH y VL injertadas en CDR, humanizadas y modificadas.

**1.2 Introducción de posibles retromutaciones de la región estructural en anticuerpos injertados en CDR**

- 10 Para generar anticuerpo humanizado con posibles retromutaciones de la región estructural, las mutaciones se identificaron e introdujeron en las secuencias de anticuerpos injertadas en CDR por síntesis *de novo* del dominio variable, o cebadores de oligonucleótidos mutagénicos y reacción en cadena de la polimerasas, o ambos, por métodos muy conocidos en la técnica. Se construyeron diferentes combinaciones de retromutaciones y otras mutaciones para cada uno de los injertos de CDR del siguiente modo. Los números de resto para estas mutaciones se basaron en el sistema de numeración de Kabat.
- 15

**1.2.1 Ab1**

Para cadenas pesadas Ab1VH.1z, se retromutaron uno o más de los siguientes restos del siguiente modo: M48→I, V67→A, I69→L y A71→V. Mutaciones adicionales incluyeron las siguientes: Q1→E, Y27→G, N60→A, K64→Q y D65→G.

- 20 Para la cadena ligera Ab1VL.1, se retromutaron uno o más de los siguientes restos del siguiente modo: A43→S, G64→D y Y87→F.

**1.2.2 Ab2**

Para cadenas pesadas Ab2VH.1z, se retromutaron uno o más de los siguientes restos del siguiente modo: M48→I, V67→A, I69→L, A71→V y T75→S. Mutaciones adicionales incluyeron las siguientes: Q1→E, Y27→G, N60→A y K64→Q.

- 25 Para la cadena ligera Ab2VL.1, se retromutaron uno o más de los siguientes restos del siguiente modo: I2→V y Y87→F.

**1.2.3 Ab3**

Para cadenas pesadas Ab3VH.1z, se retromutaron uno o más de los siguientes restos del siguiente modo: M48→I, V67→A, M69→L, T71→V y T73→N. Mutaciones adicionales incluyeron las siguientes: Q1→E, N60→A, F63→L, K64→Q y S65→G.

- 30 Para la cadena ligera Ab3VL.1, se retromutaron uno o más de los siguientes restos del siguiente modo: A43→P y I48→V.

**1.2.4 Ab4**

Para cadenas pesadas Ab4 VH.1z, se retromutaron uno o más de los siguientes restos del siguiente modo: M48→I, V67→A, I69→L, A71→V, K73→R, T75→S y A93→G. Mutaciones adicionales incluyeron las siguientes: Q1→E.

- 35 Para la cadena ligera Ab4 VL.1, se retromutaron uno o más de los siguientes restos del siguiente modo: I2→V y Y87→F.

**1.3 Generación de anticuerpos humanizados contra PRLR que contienen retromutaciones de la región estructural en anticuerpos injertados en CDR**

- 40 Se clonaron las siguientes regiones variables humanizadas de los anticuerpos monoclonales murinos contra PRLR en vectores de expresión de IgG para caracterización funcional.

1.3.1 **Ab1**

TABLA 9: Secuencias de regiones variables humanizadas para el anticuerpo Ab1

SEQ ID NO:	Región de proteína	Secuencia
		123456789012345678901234567890
39	Ab1 VH.1z	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTFTTYWM HWVRQAPGQGLEWMGEIDPSDSYSNYNQKFKDRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNGGL GPAWFSYWGQGLVTVSS
43	Ab1 VH.1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTFTTYWM HWVRQAPGQGLEWMGEIDPSDSYSNYNQKFKDRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNGGL GPAWFSYWGQGLVTVSS
44	Ab1 VH.1a	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTFTTYWM HWVRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYSNYNQKFKDRA TLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNGGL GPAWFSYWGQGLVTVSS
45	Ab1 VH.1b	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTFTTYWM HWVRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYSNYAQKFKGRV TITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNGGL GPAWFSYWGQGLVTVSS
48	Ab1 VL.1	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASQYVGT AVAWYQQKPGKAPKLLIYSASNRYTGVPSTRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSS YPWTFGGGTKVEIK
52	Ab1 VL.1a	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASQYVGT AVAWYQQKPGKSPKLLIYSASNRYTGVPSTRF SDSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYSS YPWTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:	Región de proteína	Secuencia
		123456789012345678901234567890
53	Ab1 VL.2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQYVGT AVAWYQQKPGQAPRLLIYSASNRYTGIPARF SGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYSS YPWTFGGGTKVEIK
54	Ab1 VL.2a	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQYVGT AVAWYQQKPGQS <sub>1</sub> PRLLIYSASNRYTGVPARF SDSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYFCQQYSS YPWTFGGGTKVEIK

- 5 • **Ab1 VH.1z** es una VH de Ab6 humanizado injertado en CDR que contiene secuencias de la región estructural IGHV1-69\*02 y IGHJ6\*01.
- **Ab1 VH.1** se basa en .1z con un cambio Q1E.
- **Ab1 VH.1a** es un diseño humanizado basado en .1 y contiene cuatro retromutaciones de la región estructural propuestas M48I, V67A, I69L y A71V.
- 10 • **Ab1 VH.1b** es un diseño intermedio entre .1 y .1a y solo tiene dos retromutaciones M48I y A71V. También tiene cuatro cambios de la línea germinal humana de CDR Y27G, N60A, K64Q y D65G.
- **Ab1 VL.1** es una VL de Ab6 humanizado injertado en CDR que contiene secuencias de la región estructural IGKV1-12\*01 y IGKJ4\*01.
- **Ab1 VL.1a** es un diseño humanizado basado en .1 con 3 retromutaciones de la región estructural propuestas (A43S, G64D y Y87F).
- 15 • **Ab1 VL.2** es una VL de Ab6 humanizado injertado en CDR que contiene secuencias de la región estructural IGKV3-15\*01 y IGKJ4\*01.
- **Ab1 VL.2a** es un diseño humanizado basado en .1 con 4 retromutaciones de la región estructural propuestas (A43S, I58V, G64D y Y87F).

1.3.2 **Ab2**

TABLA 10: Secuencias de regiones variables humanizadas para el anticuerpo Ab2

SEQ ID NO:	Región de proteína	Secuencia
		123456789012345678901234567890
55	Ab2 VH.1z	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSFWM HWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDYYTNYNQKFKGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDYS NWFYWGQGLVTVSS
59	Ab2 VH.1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSFWM HWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDYYTNYNQKFKGRV TITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDYS NWFYWGQGLVTVSS
60	Ab2 VH.1a	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSFWM HWVRQAPGQGLEWIGVIDPSDYYTNYNQKFKGRA TLTVDESSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDYS NWFYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO:	Región de proteína	Secuencia
		123456789012345678901234567890
61	Ab2 VH.1b	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTSFWM HWVRQAPGQGLEWIGVIDPSDYYTNYAQQKFKGRV TITVDESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDYS NWFYWGQGLVTVSS
64	Ab2 VL.1	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLVH SNGNTYHLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYC SQSTHVPWTFGGGTKVEIK
68	Ab2 VL.1a	DVVMQTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLVH SNGNTYHLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYFC SQSTHVPWTFGGGTKVEIK
69	Ab2 VL.1b	DVVMQTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLVH SNGNTYHLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYC SQSTHVPWTFGGGTKVEIK

- 5 • **Ab2 VH.1z** es un VH de Ab5 humanizada injertada en CDR que contiene secuencias de la región estructural IGHV1-69\*01 y IGHJ4\*01.
- **Ab2 VH.1** se basa en .1z con un cambio Q1E.
- **Ab2 VH.1a** es un diseño humanizado basado en .1 y contiene cinco retromutaciones de la región estructural propuestas M48I, V67A, I69L, A71V y T75S.
- 10 • **Ab2 VH.1b** es un diseño intermedio entre .1 y .1a y solo tiene dos retromutaciones M48I y A71V. También tiene tres cambios de la línea germinal humana de CDR Y27G, N60A y K64Q.
- **Ab2VL.1** es un VL de Ab5 humanizada injertada en CDR que contiene secuencias de la región estructural IGKV2-29\*02 y IGKJ4\*01.
- **Ab2 VL.1a** es un diseño humanizado basado en .1 con 2 retromutaciones de la región estructural propuestas (I2V y Y87F).
- 15 • **Ab2 VL.1b** es un diseño intermedio entre .1 y .1a con 1 retromutación de la región estructural propuesta I2V.

**Ab3**

**TABLA 11: Secuencias de regiones variables humanizadas para el anticuerpo Ab3**

SEQ ID NO:	Región de proteína	Secuencia
		123456789012345678901234567890
70	Ab3 VH.1z	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYNI HWVRQAPGQGLEWMGYIYPNNDGTGYNQKFKSRV TMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDGN YVGDMDYWGQGTITVTVSS
74	Ab3 VH.1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYNI HWVRQAPGQGLEWMGYIYPNNDGTGYNQKFKSRV TMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDGN YVGDMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO:	Región de proteína	Secuencia
		123456789012345678901234567890
75	Ab3 VH.1a	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYNI HWVRQAPGQGLEWIGYIYPNNDGTGYNQKFKSRA TLTVDNSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDGN YVGDMDYWGQGTITVTVSS
76	Ab3 VH.1b	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYNI HWVRQAPGQGLEWIGYIYPNNDGTGYAOKLQGRV TMTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDGN YVGDMDYWGQGTITVTVSS
78	Ab3 VL.1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIYS YLAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLAEGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHHYA TPFTFGQGTKLEIK
82	Ab3 VL.1a	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIYS YLAWYQQKPGKPPKLLVYNAKTLAEGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHHYA TPFTFGQGTKLEIK
83	Ab3 VL.1b	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIYS YLAWYQQKPGKAPKLLVYNAKTLAEGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHHYA TPFTFGQGTKLEIK

- 5 • **Ab3 VH.1z** es una VH de Ab8 humanizada injertada en CDR que contiene secuencias de la región estructural IGHV1-18\*01 y IGHJ6\*01.
- **Ab3 VH.1** se basa en .1z con un cambio Q1E.
- **Ab3 VH.1a** es un diseño humanizado basado en .1 y contiene cinco retromutaciones de la región estructural propuestas M48I, V67A, M69L, T71V y T73N.
- 10 • **Ab3 VH.1b** es un diseño intermedio entre .1 y .1a y solo tiene dos retromutaciones M48I y T71V. También tiene cuatro cambios de la línea germinal humana de HCDR2 N60A, F63L, K64Q y S65G.
- **Ab3 VL.1** es una VL de Ab8 humanizada injertada en CDR que contiene secuencias de la región estructural IGKV1D-39\*01 y IGKJ2\*01.
- **Ab3 VL.1a** es un diseño humanizado basado en .1 con 2 retromutaciones de la región estructural propuestas (A43P y I48V).
- 15 • **Ab3 VL.1b** es un diseño intermedio entre .1 y .1a con 1 retromutación de la región estructural propuesta I48V.

1.3.3 **Ab4**

TABLA 12: Secuencias de regiones variables humanizadas para el anticuerpo Ab4

SEQ ID NO:	Región de proteína	Secuencia
		123456789012345678901234567890
84	Ab4 VH.1z	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPDSYTNYNQKFKGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR <b>SFFT</b> NWFAYWGQGLVTVSS
		123456789012345678901234567890
88	Ab4 VH.1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWI HWVRQAPGQGLEWMGEIDPDSYTNYNQKFKGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR <b>SFFT</b> NWFAYWGQGLVTVSS
89	Ab4 VH.1a	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWI HWVRQAPGQGLEWIGEIDPDSYTNYNQKFKGRA TLTVDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR <b>SFFT</b> NWFAYWGQGLVTVSS
121	Ab4 VH.1a.2	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWI HWVRQAPGQGLEWIGEIDPDSYTNYNQKFKGRA TLTVDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCGR <b>SFFT</b> NWFAYWGQGLVTVSS
122	Ab4 VH.1a.3	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWI HWVRQAPGQGLEWIGEIDPDSYTNYNQKFKGRA TLTVDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCGR <b>SFFT</b> NWFAYWGQGLVTVSS
90	Ab4 VH.1b	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTSYWI HWVRQAPGQGLEWIGEIDPDSYTNYAQKFKGRV TITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR <b>SFFT</b> NWFAYWGQGLVTVSS
123	Ab4 VH.1b.2	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWI HWVRQAPGQGLEWIGEIDPDSYTNYNQKFKGRV TITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR <b>SFFT</b> NWFAYWGQGLVTVSS
91	Ab4 VL.1	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVH SNGNTYLNHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYC SQSTHVPFTFGGGTKVEIK
95	Ab4 VL.1a	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVH SNGNTYLNHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYFC SQSTHVPFTFGGGTKVEIK
96	Ab4 VL.1b	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVH SNGNTYLNHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYC SQSTHVPFTFGGGTKVEIK

- 5 • **Ab4 VH.1z** es una VH de Ab7 humanizada injertada en CDR que contiene secuencias de la región estructural IGHV1-69\*6 y JH4.
- **Ab4 VH.1** se basa en .1z con un cambio Q1E.
- **Ab4 VH.1a** es un diseño humanizado basado en .1 y contiene siete retromutaciones de la región estructural propuestas M48I, V67A, I69L, A71V, K73R, T75S y A93G.
- **Ab4 VH.1b** es un diseño intermedio entre .1 y .1a y solo tiene dos retromutaciones M48I y A71V.
- 10 • **Ab4 VL.1** una VL de Ab7 humanizada injertada en CDR que contiene secuencias de la región estructural IGKV2-29 y Jk4.
- **Ab4 VL.1a** es un diseño humanizado basado en .1 con 2 retromutaciones de la región estructural propuestas (I2V y Y87F).
- **Ab4 VL.1b** es un diseño intermedio entre .1 y .1a con 1 retromutación de la región estructural propuesta I2V.

**Ejemplo 2: Ensayo de la unión y actividad de anticuerpos contra PRLR**

Se ensayaron la unión y actividad de los anticuerpos contra PRLR de la invención del siguiente modo.

**2.1 ELISA de pPRLR de T47D**

5 Se sembraron células T47D a 60.000/pocillo en placa de 96 pocillos en medio RPMI1640 que contenía 10 % de FBS, y se incubaron durante la noche. Al día siguiente, el medio de cultivo celular se cambió a medio RPMI1640 sin FBS. Entonces, las células se trataron con anticuerpos contra PRLR de prueba diluidos en tampón PBS que contenía 0,1 % de BSA a concentraciones que oscilaban de 0,001 a 10 ug/ml durante 60 min a 37 °C. Al final del tratamiento, las células se estimularon con 100 ng/ml de PRLh (R&D Systems) durante 15 min a 37 °C. Entonces, las células se lisaron con tampón de lisis de células (Cell Signaling) durante 20 min a 4 °C. Los lisados celulares se analizaron para niveles de fosfo-PRLR usando el kit ELISA DuoSet IC de fosfor-PRLR humana de R&D Systems (N.º  
10 DYC4058). Los resultados se representan en la Tabla 13.

Este ensayo se usó como cribado inicial debido a que la fosforilación de PRLR es una respuesta directa a la estimulación del receptor, y el bloqueo de esta actividad se correlaciona con la inhibición de la señalización de PRLR. Todos los anticuerpos presentaron inhibición de la fosforilación de PRLR.

**15 2.2 Ensayos de proliferación celular****2.2.1 Ensayo de proliferación de células Baf3-xPRLR**

Se mantuvieron líneas celulares Baf3-xPRLR manipuladas en medio RPMI1640 con 10 % de FBS y 10 ng/ml de PRLh (R&D Systems). Las células se sembraron en placa de 96 pocillos a 10.000/pocillo en medio de cultivo regular que contenía 10 ng/ml de PRLh. Entonces, las células se trataron con anticuerpos de prueba contra PRLR diluido en tampón PBS con 0,1 % de BSA a concentraciones 0,001-10 ug/ml durante 3 días a 37 °C. Después de la incubación, se midió la proliferación celular usando el kit de ensayo de viabilidad luminiscente estándar CellTiter-Glo (Promega). Los resultados se representan en la Tabla 13.

**2.2.2 Ensayo de proliferación de células Nb2-11**

25 Se mantuvieron células Nb2-11 (Sigma) en medio completo (RPMI1640, 10 % de FBS, 10 % de suero de caballo, 2-mercaptoetanol 0,05 mM, 0,075 % de bicarbonato sódico). Las células se cambiaron a medio estacionario (RPMI1640, 10 % de suero de caballo, 2-mercaptoetanol 0,05 mM, 0,075 % de bicarbonato sódico) más 1 % de FBS el día antes del ensayo. Para el ensayo de proliferación dependiente de PRL, se lavaron células Nb2-11 y se resuspendieron en medio estacionario más 1 ng/ml de PRLh (R&D Systems) a 250k células / ml. Las células se sembraron en placa de 96 pocillos a 90 ul/pocillo, y se trataron con 10 ul de anticuerpos contra PRLR de prueba diluidos en tampón PBS con 0,1 % de BSA a concentraciones finales 0,001-10 ug/ml durante 3 días a 37 °C. Después de la incubación, se midió la proliferación celular usando el kit de ensayo de viabilidad luminiscente estándar CellTiter-Glo (Promega). Los resultados se representan en la Tabla 13.

**2.2.3 Conclusiones**

35 Células Nb-211 y Ba/F3 de rata que expresan la expresión de PRLR de ratón, cino y humano son todas dependientes de la señalización de PRLR para la proliferación, de manera que se usó este ensayo sensible para evaluar el bloqueo de la señalización PRLR en células para estas especies diferentes *in vitro*. Los resultados humanos fueron paralelos a aquellos observados con el ensayo de pPRLR. La actividad se mantuvo generalmente en las versiones humanizadas, por ejemplo, Ab1, Ab2, Ab3 y Ab4. Ab1 Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab11 y Ab13 demostraron inhibición de PRLR para PRLR de cino y PRLR humano, siendo Ab1 Ab2, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab9 y Ab13 particularmente eficaces. Ab2, Ab4 y Ab7 demostraron actividad inhibitora de PRLR, particularmente eficaz para PRLR de ratón y rata.

**2.3 Ensayo de unión de ELISA para dominios extracelulares (ECD)**

45 Se recubrieron placas durante la noche con anticuerpo anti-región Fc humana de cabra (1 ug/ml) para proteínas de fusión de ECD de PRLR humano, de ratón y rata-Fc, y anti-his de ratón para la proteína ECD de PRLR de cino-his6 en 1x PBS (pH 7,4). Para los experimentos de unión de ECD de PRLR de cino a anticuerpos de ratón, la proteína ECD de PRLR de cino-his6 se unió directamente a la placa de ELISA. Las placas se bloquearon durante 1 hora con Superblock (Pierce) y se lavaron (3x) con tampón de lavado (1x PBS (pH 7,4), 0,05 % de Tween 20). Se unieron las proteínas de ECD al anticuerpo apropiado (1 hora) en tampón de unión (tampón de lavado más 10 % de Superblock), se lavaron (3x, tampón de lavado), y luego se incubaron con diluciones sucesivas de anticuerpos (1 hora) en tampón de unión. Después de lavar (3x, tampón de lavado), se unieron los anticuerpos secundarios conjugados con HRP (1 hora) en tampón de unión, se lavaron (3x, tampón de lavado) y se incubaron con sustrato TMB (Pierce) para desarrollar la señal durante 3-5 minutos, se detuvo con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N y se barrió a 450 nM. Las curvas se ajustaron con GraphPad 5 (Prizm) y se determinaron las CE50 con la función de ajuste de curva de GraphPad 5. Los resultados se representan en la Tabla 13.



Los datos de ELISA de unión se correlacionaron con los datos de inhibición de la proliferación.

#### 2.4 Ensayo de unión de FACS:

5 Se resuspendieron células Nb2-11 y Baf3-xPRLR en tampón FACS (PBS + 1 % de FBS) a 2 millones de células / ml. Se añadieron células a placa de 96 pocillos de fondo redondo (100 ul/pocillo) y se trataron con anticuerpos de prueba contra PRLR durante 1 h a 4 °C. Entonces, las células se lavaron con tampón FACS dos veces y se incubaron con 2° anticuerpo conjugado con ALEXA488 (Invitrogen) durante 1 h a 4 °C. Después de dos lavados en tampón FACS, las células se resuspendieron en 1 % de formaldehído en PBS. Las células se analizaron usando un citómetro de flujo LSRII. Los resultados se representan en la Tabla 13.

10 Los datos de FACS también se correlacionaron con los datos de proliferación. Anticuerpos humanizados no se sometieron al ensayo de unión de FACS.

#### 2.5 Unión de Biacore

15 El tampón de electroforesis fue HBS-EP+ (Hepes 10 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, 0,05 % de Tween 20). [PRLR] a 600 nM, 66,67 nM y 7,41 nM (3 puntos, serie de dilución de 9 veces), ajustar a un modelo de unión 1:1 (R<sub>máx</sub> local, término MT incluido) usando el software Biacore T200 Evaluation. Los resultados se representan en la Tabla 14.

Los datos de Biacore proporcionan información de unión bioquímica más detallada. La unión de afinidad más baja de los anticuerpos humanizados a PRLR de ratón se cuantifica con más exactitud con este ensayo.

20 El análisis de los resultados en la Figura 11 demuestra que chAb7 tiene una alta afinidad por PRLR humano. Además, tras la humanización del anticuerpo quimérico para producir los anticuerpos humanizados Ab36 y Ab39, la afinidad disminuye ~45 veces y ~22 veces, respectivamente. La disminución en la afinidad es principalmente debida a cambios en la velocidad  $k_{dis}$ . Mientras que las retromutaciones realizadas en Ab36 (es decir, Ab53) no mejoraron la afinidad del anticuerpo, las retromutaciones realizadas en Ab39 (es decir, Ab54 y Ab55) aumentaron la afinidad a un nivel que era aproximadamente 4 veces y 5 veces más débil que el observado con chAb7. El análisis de los resultados en la Figura 10 indicó que todos los mAbs muestran cinética de unión significativamente y  
25 proporcionalmente más débil para PRLR murino.

**TABLA 13: RESUMEN DE HALLAZGOS DE LOS EJEMPLOS 2.1 (ELISA DE pPRLR), 2.2 (ENSAYOS DE PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS Baf3-xPRLR y NB2-11), 2.3 (ENSAYO DE UNIÓN DE ELISA PARA ECD) Y 2.4 (ENSAYO DE UNIÓN DE FACS)**

Anti-cuerpo	Isotipo	Fosfo-ELISA celular	Ensayo de proliferación de células						ELISA de unión					FACS (GeoMean-neg)		
		CI50 de pPRLR de T47D (ug/ml)	CI50 de Baf3-PRLRh (ug/ml)	CI50 de Baf3-PRLRcino (ug/ml)	CI50 de Baf3-PRLRm (ug/ml)	CI50 de Nb2-11 (ug/ml)	CE50 humana (pM)	CE50 de cino (pM)	CE50 de rata (pM)	CE50 de ratón (pM)	T47D 10 ug/ml	Nb2-11 20 ug/ml	Baf3-mPRLR 10 ug/ml			
Ab6	G1	0,039	0,26	0,44	>30	>30	>30	>30	86	>5000	>5000	>5000	1838	0	0	
Ab5	G2a	0,038	0,24	0,38	1,03	0,91	0,91	71	95	80	98	1607	90	166		
Ab8	G2b	0,219	1,15	1,64	>30	>30	>30	98	>5000	205	342	1532	17	1		
Ab7	G1	0,080	0,28	0,30	3,55	4,42	4,42	98	202	135	143	2380	82	27		
Ab13	G2a	0,047	0,32	0,85	4,69	7,56	7,56	70	143	85	88	1499	60	143		
Ab9	G2b	0,072	0,51	6,40	>30	>30	>30	72	>5000	>5000	>5000	1871	0	1		
Ab10	G2a	0,362	3,14	>10	>30	>30	>30	147	>5000	234	1137	2723	16	49		
Ab11	G1	0,047	1,11	1,20	18,52	>30	>30	93	153	87	86	2220	94	25		
Ab12	G2a	0,538	estimulante	>30	>30	estimulante	>30	69	<4000	116	121	1680	17	90		
chAb6	G1		0,28	12,17	no	no	no	103	72	>1000	>10000					
chAb5	G1		0,15	0,42	2,51	0,69	0,69	98	103	147	120					
chAb8	G1		0,30	2,94	no	no	no	80	191	305	1017					
chAb7	G1		1,2	1,9	3,6	16,8	16,8	151	118	157	184					
chAb9	G1		0,20	10,44	no	no	no									
chAb12	G1		10,74	>10	no	41,37	41,37									
Ab14	G1		0,30	1,15	>30	>30	>30	32,86	30,98	>10000	>10000					
Ab15	G1		0,13	0,19	>30	>30	>30	78,06	55,05	>10000	>10000					
Ab16	G1		0,46	1,73	>30	>30	>30	64,07	67,14	>10000	>10000					
Ab17	G1		0,14	0,27	>30	>30	>30	76,58	78,79	>10000	>10000					
Ab18	G1		0,15	0,40	>30	>30	>30	67,52	110,8	>10000	>10000					

Anti-cuerpo	Isotipo	Fosfo-ELISA celular		Ensayo de proliferación de células				ELISA de unión				FACS (GeoMean-neg)				
		CI50 de pPRLR de T47D (ug/ml)	CI50 de BaF3-PRLRh (ug/ml)	CI50 de BaE3-PRLRcino (ug/ml)	CI50 de BaE3-PRLRkm (ug/ml)	CI50 de Nb2-11 (ug/ml)	CE50 humana (pM)	CE50 de cino (pM)	CE50 de rata (pM)	CE50 de ratón (pM)	T47D 10 ug/ml	Nb2-11 20 ug/ml	BaF3-mPRLR 10 ug/ml			
Ab19	G1		0,12	0,13	>30					61,36	57,55	>10000	>10000			
Ab20	G1		0,20	0,50	>30					83,57	71,08	>10000	>10000			
Ab21	G1		0,15	0,15	>30					72,76	53,75	>10000	>10000			
Ab22	G1		>30							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab23	G1		>30							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab24	G1		>30							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab25	G1		>30							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab26	G1		0,23	0,25	y*					198,9	151,3	163,7	201,3			
Ab27	G1		0,16	0,22	y					169,7	101,9	125,2	185,1			
Ab28	G1		0,22	0,31	y					196,8	96,5	416,2	291,6			
Ab29	G1		0,15	0,23	y					269,2	153,1	688,5	238,2			
Ab30	G1		0,14	0,24	y					220,5	100,1	423,1	197,5			
Ab31	G1		0,17	0,39	y					452,6	255,5	717,6	332,7			
Ab32	G1		>30							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab33	G1		>30							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab34	G1		>30							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab35	G1		0,38	0,65	>30					2495	320,4	>10000	>10000			
Ab36	G1		0,28	0,41	>30					556,4	538	>10000	>10000			
Ab37	G1		0,43	0,44	>30					183,7	185,8	>10000	>10000			
Ab38	G1		0,42	0,25	>30					346,3	263,5	>10000	>10000			
Ab39	G1		0,27	0,25	>30					180,3	459,8	>10000	>10000			
Ab40	G1		0,40	0,32	>30					4405	862,3	>10000	>10000			
Ab41	G1		4,38							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab42	G1		4,76							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab43	G1		6,75							>10000	>10000	>10000	>10000			
Ab44	G1		0,30	1,76	>30					43,45	94,52	>10000	>10000			

Anti-cuerpo	Isotipo	Fosfo-ELISA celular		Ensayo de proliferación de células					ELISA de unión					FACS (GeoMean-neg)		
		CI50 de pPRLR de T47D (ug/ml)	CI50 de BaF3-PRLRh (ug/ml)	BaF3-CI50 de BaF3-PRLRcino (ug/ml)	CI50 de BaF3-PRLRm (ug/ml)	CI50 de Nb2-11 (ug/ml)	CE50 humana (pM)	CE50 de cino (pM)	CE50 de rata (pM)	CE50 de ratón (pM)	T47D 10 ug/ml	Nb2-11 20 ug/ml	BaF3-mPRLR 10 ug/ml			
Ab45	G1		0,31	2,24	>30		68,37	201	>10000	977,5						
Ab46	G1		0,30	1,72	>30		62,57	81,4	>10000	568,2						
Ab47	G1		0,40	3,01	>30		81,88	119,3	>10000	>10000						
Ab48	G1		0,40	4,87	>30		74,65	236,2	>10000	>10000						
Ab49	G1		0,37	3,49	>30		95,44	360,7	>10000	>10000						
Ab50	G1		0,51	41,58	>30		109,1	>10000	>10000	>10000						
Ab51	G1		0,55	100,04	>30		287,4	>10000	>10000	>10000						
Ab52	G1		0,51	304,52	>30		91,32	>10000	>10000	>10000						
Ab53	G1		1,03													
Ab54	G1		0,77													
Ab55	G1		0,92													
LFA102	G1	0,069	0,56	>30	>30	0,93	53	154	157	1636	98	4				

TABLA 14: RESUMEN DE HALLAZGOS DEL EJEMPLO 2.5 (ENSAYO DE UNIÓN BIACORE)

	Isotipo	Biacore: union a PRLR humano				Biacore: union a PRLR de cino				Biacore: union a PRLR murino			
		$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)
<b>Ab6</b>	G1	1.28E+06	5.76E-04	4.50E-10	1.36E+06	1.09E-03	8.07E-10	6.22E+05	3.94E-01	6.35E-07			
<b>Ab5</b>	G2a	3.55E+05	2.03E-04	5.72E-10	3.36E+05	2.35E-04	7.00E-10	2.02E+05	2.91E-03	1.44E-08			
<b>Ab8</b>	G2b	5.36E+05	8.19E-05	1.53E-10	5.26E+05	1.16E-03	2.20E-09	1.80E+05	4.66E-02	2.59E-07			
<b>Ab7</b>	G1	2.80E+05	4.27E-05	1.53E-10	2.59E+05	3.29E-05	1.27E-10	8.40E+04	3.50E-03	4.17E-08			
<b>Ab13</b>	G2a	4.33E+05	4.31E-04	9.97E-10									
<b>Ab9</b>	G2b	5.77E+05	1.31E-04	2.26E-10									
<b>Ab10</b>	G2a	1.61E+05	2.28E-04	1.41E-09									
<b>Ab11</b>	G1	3.05E+05	2.11E-02	6.92E-08									
<b>Ab12</b>	G2a	2.82E+05	1.86E-03	6.60E-09									
<b>chAb6</b>	G1	1.14E+06	5.36E-04	4.69E-10	1.30E+06	1.03E-03	7.94E-10	5.91E+05	3.60E-01	6.08E-07			
<b>chAb5</b>	G1	3.56E+05	1.99E-04	5.58E-10	3.33E+05	2.23E-04	6.71E-10	2.00E+05	2.77E-03	1.38E-08			
<b>chAb8</b>	G1	4.96E+05	9.10E-05	1.83E-10	5.14E+05	1.77E-03	3.44E-09	1.86E+05	5.38E-02	2.91E-07			
<b>chAb7</b>	G1	2.48E+05	4.46E-05	1.80E-10	2.35E+05	3.61E-05	1.54E-10	7.95E+04	3.57E-03	4.49E-08			
<b>chAb9</b>	G1												
<b>chAb12</b>	G1												
<b>Ab14</b>	G1	1.10E+06	4.58E-03	4.16E-09									
<b>Ab15</b>	G1	1.16E+06	9.72E-04	8.37E-10									
<b>Ab16</b>	G1	1.39E+06	5.62E-03	4.05E-09									
<b>Ab17</b>	G1	1.25E+06	1.32E-03	1.06E-09									

	Isotipo	Biacore: union a PRLR humano				Biacore: union a PRLR de cino				Biacore: union a PRLR murino			
		$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)		$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)		$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	
<b>Ab18</b>	G1	1.06E+06	1.71E-03	1.62E-09									
<b>Ab19</b>	G1	9.85E+05	4.03E-04	4.09E-10	1.05E+06	7.28E-04	6.91E-10		4.09E+05	2.52E-01	6.16E-07		
<b>Ab20</b>	G1	1.04E+06	2.08E-03	2.00E-09					**	**	6.20E-07		
<b>Ab21</b>	G1	1.06E+06	5.86E-04	5.54E-10					5.00E+05	2.60E-01	5.30E-07		
<b>Ab22</b>	G1	4.03E+05	1.67E-01	4.16E-07									
<b>Ab23</b>	G1												
<b>Ab24</b>	G1												
<b>Ab25</b>	G1												
<b>Ab26</b>	G1												
<b>Ab27</b>	G1	3.56E+05	4.43E-04	1.25E-09	3.33E+05	5.20E-04	1.56E-09		1.34E+05	5.12E-03	3.83E-08		
<b>Ab28</b>	G1	3.44E+05	5.33E-04	1.55E-09	3.15E+05	6.19E-04	1.97E-09		1.17E+05	6.06E-03	5.20E-08		
<b>Ab29</b>	G1	3.13E+05	5.60E-04	1.79E-09	3.01E+05	6.75E-04	2.24E-09		1.20E+05	6.34E-03	5.30E-08		
<b>Ab30</b>	G1	3.39E+05	4.37E-04	1.29E-09	3.30E+05	5.23E-04	1.59E-09		1.40E+05	5.60E-03	4.00E-08		
<b>Ab31</b>	G1	3.22E+05	5.37E-04	1.67E-09	3.10E+05	6.43E-04	2.08E-09		1.22E+05	6.82E-03	5.57E-08		
<b>Ab32</b>	G1												
<b>Ab33</b>	G1												
<b>Ab34</b>	G1												
<b>Ab35</b>	G1	1.20E+05	1.60E-03	1.33E-08	1.05E+05	1.42E-03	1.35E-08		4.98E+04	7.85E-02	1.58E-06		
<b>Ab36</b>	G1	1.57E+05	1.28E-03	8.13E-09	1.33E+05	1.14E-03	8.51E-09		4.98E+04	5.68E-02	1.14E-06		
<b>Ab37</b>	G1	1.19E+05	1.46E-03	1.23E-08	1.07E+05	1.32E-03	1.23E-08		4.11E+04	6.87E-02	1.67E-06		
<b>Ab38</b>	G1	1.41E+05	8.79E-04	6.22E-09	1.25E+05	7.56E-04	6.04E-09		5.30E+04	5.27E-02	9.94E-07		
<b>Ab39</b>	G1	1.68E+05	7.15E-04	4.25E-09	1.53E+05	6.13E-04	4.01E-09		5.76E+04	4.27E-02	7.42E-07		

	Isotipo	Biacore: union a PRLR humano			Biacore: union a PRLR de cino			Biacore: union a PRLR murino		
		$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$k_a$ (1/MS)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)
<b>Ab40</b>	G1	1.53E+05	8.23E-04	5.38E-09	1.34E+05	7.19E-04	5.38E-09	4.50E+04	5.34E-02	1.19E-06
<b>Ab41</b>	G1									
<b>Ab42</b>	G1									
<b>Ab43</b>	G1									
<b>Ab44</b>	G1									
<b>Ab45</b>	G1									
<b>Ab46</b>	G1									
<b>Ab47</b>	G1									
<b>Ab48</b>	G1	5.46E+05	9.84E-05	1.80E-10	5.76E+05	5.63E-03	9.77E-09	2.17E+05	9.83E-02	4.53E-07
<b>Ab49</b>	G1	5.58E+05	1.20E-04	2.14E-10						
<b>Ab50</b>	G1									
<b>Ab51</b>	G1									
<b>Ab52</b>	G1									
<b>Ab53</b>	G1	1.2E+05	1.0E-03	8.5E-09	1.1E+05	8.9E-04	7.8E-09	4.0E+04	5.2E-02	1.3E-06
<b>Ab54</b>	G1	1.4E+05	1.4E-04	1.0E-09	1.4E+05	1.2E-04	8.5E-10	4.1E+04	7.0E-03	1.7E-07
<b>Ab55</b>	G1	1.7E+05	1.2E-04	6.7E-10	1.7E+05	9.8E-05	5.9E-10	4.4E+04	6.3E-03	1.4E-07
<b>LFA102</b>		5.6E+05	7.3E-04	1.3E-09	8.8E+05	9.5E-03	1.1E-08	6.2E+05	1.6E-02	2.6E-08

**Ejemplo 3: Ensayo inhibición del crecimiento tumoral de xenoinjerto**

Se evaluó el efecto de anticuerpos contra PRLR sobre el crecimiento de tumores de xenoinjerto de linfoma de rata Nb2-11. Se inocularon un millón células cancerosas suspensas en medio S-MEM (sin calcio, sin glutamina, Life Technologies Corporation) que contenía Matrigel (sin rojo de fenol, Becton Dickinson Biosciences Discovery Labware) por vía subcutánea en el flanco trasero derecho de ratones SCID-beige hembra (Charles Rivers Labs, 10 por grupo) en el día de estudio 0. Se inició la administración (IP) de anticuerpos o vehículo (solución salina normal) en el momento de coincidencia de tamaño en el día 7. Los tumores se midieron por un par de compases calibradores dos veces a la semana empezando en el momento de coincidencia de tamaño y se calcularon los volúmenes de tumor según la fórmula  $V = L \times W^2 / 2$  (V: volumen, mm<sup>3</sup>; L: longitud, mm. W: anchura, mm). El volumen del tumor se midió durante la duración del experimento hasta que el volumen medio del tumor en cada grupo alcanzó un punto final de >1000 mm<sup>3</sup>. Los resultados se muestran en la Figura 5 y Tabla 15.

**Tabla 15. Resumen de los efectos de anticuerpos contra PRLR en el modelo de xenoinjerto de Nb2-11**

Tratamiento	Vía de dosis, pauta	% de TGI <sup>a</sup>	% de TGD <sup>b</sup>
Ab7	30 mg/kg IP, Q7Dx3	12	17
Ab6	30 mg/kg IP, Q7Dx3	-15	9
Ab11	30 mg/kg IP, Q7Dx3	-5	13
Ab5	30 mg/kg IP, Q7Dx3	78***	84***
Ab9	30 mg/kg IP, Q7Dx3	2	17

a. Inhibición del crecimiento tumoral, % de TGI = 100 - volumen medio del tumor del grupo de tratamiento / volumen medio del tumor del grupo de control x 100. Los valores de p (como se indica por asteriscos) derivan de la comparación de la prueba de la t de Student del grupo de tratamiento frente al grupo de control. Basado en día 26.

\*p<0,05, \*\* p<0,01, \*\*\* p<0,001.

b. Retraso del crecimiento tumoral, % de TGD = (T - C) / C x 100, donde T = mediana del tiempo hasta el punto final del grupo de tratamiento y C = mediana del tiempo hasta el punto final del grupo de control. Los valores de p (como se indica por asteriscos) derivaron de la comparación del rango logarítmico de Kaplan Meier del grupo de tratamiento frente al grupo de control de tratamiento. Basado en un punto final de 1000 mm<sup>3</sup>. \*p<0,05, \*\* p<0,01, \*\*\* p<0,001.

**Ejemplo 4: Agrupación de epítopes anti-PRLR**

Se determinaron las agrupaciones de epítopes de los anticuerpos contra PRLR de la invención usando el ensayo de unión por parejas del siguiente modo.

**Anticuerpos murinos: Ab5-Ab12**

El tampón de electroforesis fue HBS-EP+ (Hepes 10 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, 0,05 % de tensioactivo). El ensayo se realizó usando Biacore T100 y chips sensores CM5 con anti-IgG de ratón (Pierce) o anti-IgG humana (Pierce) en cada celda de flujo. Se capturó un anticuerpo contra PRLR en una celda de flujo. La celda de flujo se bloqueó entonces mediante la inyección de un anticuerpo de control (50 µg/ml) antes de la inyección del antígeno. Entonces se inyectó un segundo anticuerpo contra PRLR (10 µg/ml). Se analizó la respuesta de unión en función del tiempo para cada ensayo de unión por parejas. También se realizaron ensayos de unión recíproca. Los resultados de los ensayos realizados con anticuerpos murinos Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11 y Ab12 se representan en la Figura 6.

**Anticuerpos quiméricos y humanizados**

El tampón de electroforesis fue HBS-EP+ (Hepes 10 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, 0,05 % de tensioactivo). El ensayo se realizó a 12 °C usando Biacore T200 y chips sensores CM5 con anti-IgG humana (Pierce) se acoplaron a amina en las 4 celdas de flujo ~2000 UR.

Se capturaron mAb de prueba separados en las celdas de flujo 2, 3 y 4 (la celda de flujo 1 fue la referencia, sin mAb de prueba). Las 4 celdas de flujo se bloquearon entonces mediante inyección con mAb de control de isotipo a 50 µg/ml. Las 4 celdas de flujo se inyectaron entonces con antígeno o tampón solo (tampón solo es para la referencia doble, hecha para cada par de mAb individualmente). Entonces se inyectaron las 4 celdas de flujo con el 2º mAb de prueba a 10 µg/ml. Entonces, las 4 celdas de flujo se regeneraron con glicina, pH 1,5.



Se analizó la respuesta de unión en función del tiempo para cada ensayo de unión por parejas. También se realizaron ensayos de unión recíproca. Los resultados de los ensayos de unión simultánea realizados con chAb7, Ab39, Ab40, chAb5, Ab30, chAb6, Ab19, Ab21, chAb8, Ab48, Ab49 y LFA102 se representan en la Figura 7 y Figura 8.

- 5 Estos ensayos, realizados usando tanto anticuerpos quiméricos como humanizados, demostraron que tanto los anticuerpos quiméricos como los humanizados reconocieron la misma región de PRLR.

La Figura 7 muestra los resultados de un ensayo de unión de anticuerpo realizado para determinar si las formas quiméricas y humanizadas de cada media cuadrática del anticuerpo compiten entre sí para unirse a PRLR. Estos resultados indican que las formas quiméricas y humanizadas de cada media cuadrática del anticuerpo compiten entre sí, sugiriendo así que la humanización del anticuerpo quimérico no cambió significativamente el epítipo central para ninguna media cuadrática del anticuerpo dada. En otras palabras, la ingeniería quimérica o humanización no cambió la agrupación de epítipes relativa para la mayoría de los anticuerpos cuando se comparó con la agrupación de epítipes de los anticuerpos de ratón parentales. Sin embargo, hubo un pequeño desplazamiento en la agrupación de epítipes para los mAb derivados de Ab5 con respecto a los mAb derivados de Ab8 cuando se comparó con la agrupación de epítipes previa para los mAb de ratón. Es más probable que esta diferencia sea debida a diferencias estéricas entre las regiones estructurales de ratón y humanas, a diferencia de un cambio en el epítipo real. Para resultados similares véase Zettlitz, K.A., et al., Mol Biotechnol (2010) 46: 265-278.

#### **Ejemplo 5: Cristalización del complejo chAb6 (Fab)-PRLR**

Se realizó la cristalización de la estructura del complejo fragmento Fab de chAb6-PRLR y se analizó del siguiente modo.

##### Preparación y purificación del fragmento Fab de chAb6:

Se preparó el fragmento Fab de chAb6 por escisión con papaína del mAb parental como se detalla más adelante. Se activó papaína con cisteína 50 mM en tampón PBS, pH 7,4. Se mezcló el mAb chAb6 en tampón PBS, pH 7,4, con papaína en la relación en peso 1:77 de papaína con respecto a mAb y se incubó durante 1 h a 37 °C. La reacción se inactivó con yodoacetamida 6,25 mM. La mezcla se purificó en 8 ml de resina MabSelect Sure (GE Healthcare) donde el fragmento Fab se recogió como flujo continuo. Se concentró el flujo continuo usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). La mezcla concentrada se purificó en una columna Sephacryl 200 HiPrep de 2,6 cm x 60 cm (GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón HEPES 50 mM, NaCl 50 mM, pH 7,5. Se reunieron las fracciones que contenían el fragmento Fab (monitorizado por absorbancia UV a 280 nm) y se congelaron a -80 °C. Se evaluó la pureza de la muestra por SEC analítica, SDS-PAGE y espectrometría de masas.

##### Preparación del complejo Fab de chAb6-PRLR:

Se expresó PRLR humano recombinante en un sistema de expresión de mamífero y posteriormente se purificó usando técnicas muy conocidas en la técnica. Se mezclaron PRLR humano recombinante y la proteína Fab de chAb6 en una relación molar 1,15:1 y se incubaron durante 2 h a 22 °C. La muestra de complejo se cargó en una columna Sephacryl 200 HiPrep de 2,6 cm x 60 cm (GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón HEPES 50 mM, NaCl 50 mM, pH 7,5, a 1 ml/min. Se reunieron las fracciones que contenían el complejo (monitorizado por absorbancia UV a 280 nm) y se concentraron a 44 mg/ml usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). Se evaluó la pureza de la muestra por SEC analítica y SDS-PAGE. El exceso de la proteína del complejo de Fab se almacenó congelada a -80 °C.

##### Cristalización del complejo Fab de chAb6 - PRLR:

Se suministró el complejo de proteína a 43,9 mg/ml en HEPES 50 mM pH 7,5, NaCl 50 mM, y se usó diluido a 30 mg/ml para ensayos de cristalización. Los cristales crecieron usando la técnica de difusión de vapor a 17 °C. La disolución de depósito fue 25 % (p/v) de PEG 3350, Bis-Tris 0,1 M a pH 5,5, sulfato de amonio 0,1 M. Se produjeron gotas de cristalización usando una relación 1:1 de proteína y disolución de depósito. Los cristales se crioprotegieron usando 10 % (v/v) de propilenglicol. Se recogieron datos de difracción bajo nitrógeno gaseoso a 100K en Canadian Light Source (Saskatoon, Canadá).

##### Estructura de rayos X del complejo Fab de chAb6 - PRLR:

Los datos de difracción de rayos X se extendieron a la resolución de 1,93 Å, y se procesó un conjunto de datos completo con HKL2000 (HKL Research, Inc). El grupo espacial cristalográfico es ortorrómbico P212121 con parámetros de la celdilla unidad a=62 Å, b=83 Å y c=135 Å. Las estadísticas para el conjunto de datos recogido se proporcionan en la Tabla 16.

**TABLA 16. ESTADÍSTICAS DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X PARA EL COMPLEJO Fab de chAb6-PRLR**

Resolución (Å)	50 - 1.93
Reflexiones únicas	53,147
RCombinado (%)	9.9
Complejidad (%)	99
Multiplicidad	7.2

Determinación de la estructura:

5 Se determinó la estructura cristalina por sustitución molecular. Se generó el modelo de búsqueda parcial para las porciones VhV1, ChCl y PRLR y se dispusieron secuencialmente usando el programa MOLREP (Vagin et al, 1997) en el paquete CCP4 de programas (Winn et al. 2011). La unidad asimétrica contiene un complejo molecular, y las parejas de simetría completan la red cristalina con contactos intermoleculares. Se refinaron las coordenadas contra los datos usando el programa autoBUSTER (Global Phasing, Ltd) y rondas iterativas de análisis gráficos y reconstrucción en la densidad electrónica con el programa COOT (Emsley et al, 2010). Las estadísticas para la estructura resultante se proporcionan en la Tabla 17:

**TABLA 17. ESTADÍSTICAS DE REFINAMIENTO PARA EL COMPLEJO Fab de chAb6-PRLR**

Resolución (Å)	50 - 1.93
R / Rlibre (%)	20.2 / 23.6
Enlaces ideales de RMSD (Å)	0.010
Ángulos ideales de RMSD (°)	1.11

15 Se observan contactos intermoleculares entre el dominio extracelular de PRLR y múltiples CDR de Fab de chAb6. Los contactos están comprendidos de interacciones hidrófobas e hidrófilas críticas e incluyen moléculas de agua de unión. Estos contactos participan directamente en H1, H2, H3 y L2 de CDR de SEQ ID NO: 104 y 113. El área de contacto en el antígeno cubre una superficie de epítopo en la intersección de los dominios de PRLR, que comprende la región topográfica definida por los restos de PRLR: E8, F10, C12, R25, E43, G44, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, Y99, I100, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO: 2. Los restos de aminoácidos anteriores de PRLR están dentro de 4Å del Fab de chAb6 tras la unión al mismo.

20 Una ilustración de las superficies de epítopo mapeadas en la estructura del complejo ternario de PRL-PRLR para Ab6 y LFA102 se muestra en la Figura 9.

**Ejemplo 6: Cristalización del complejo chAb7 (Fab)-PRLR**

Se realizó y analizó la cristalización de la estructura del complejo fragmento Fab de chAb7-PRLR del siguiente modo.

Preparación y purificación del fragmento Fab de chAb7:

25 Se preparó el fragmento Fab de chAb7 por escisión con papaína del mAb parental como se detalla más adelante. Se activó papaína con cisteína 50 mM en tampón PBS, pH 7.4. Se mezcló el mAb chAb7 en tampón PBS, pH 7.4, con papaína en la relación de peso 1:100 de papaína con respecto a mAb y se incubó durante 1 h a 37 °C. La reacción se inactivó con yodoacetamida 6 mM. La mezcla se purificó en 5 ml de resina MabSelect Sure (GE Healthcare) donde el fragmento Fab se recogió como flujo continuo. Se concentró el flujo continuo usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). La mezcla concentrada se purificó en columna Sephacryl 200 HiPrep de 2,6 cm x 60 cm (GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón HEPES 50 mM, NaCl 50 mM, pH 7.5. Se reunieron las fracciones que contenían fragmento Fab (monitoreado por absorbancia UV a 280 nm) y se congelaron a -80 °C. Se evaluó la pureza de la muestra por SEC analítica, SDS-PAGE y espectrometría de masas.

Preparación del complejo Fab de chAb7-PRLR:

Se expresó PRLR humano recombinante en sistema de expresión de mamífero y posteriormente se purificó usando técnicas muy conocidas en la técnica. Se mezclaron PRLR humano recombinante y la proteína Fab de chAb7 en una

relación molar 2:1 y se incubaron durante 2 h a 4 °C. La muestra de complejo se cargó en una columna Sephacryl 200 HiPrep de 2,6 cm x 60 cm (GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón HEPES 50 mM, NaCl 50 mM, pH 7,5, a 1 ml/min. Se reunieron las fracciones que contenían el complejo (monitorizado por absorbancia UV a 280 nm) y se concentraron a 18 mg/ml usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). Se evaluó la pureza de la muestra por SEC analítica y SDS-PAGE. El exceso de la proteína del complejo de Fab se almacenó congelada a -80 °C.

Cristalización del complejo Fab de chAb7-PRLR:

Se suministró la proteína a 17,6 mg/ml en HEPES 50 mM pH 7,5, NaCl 50 mM, azida de sodio 1 mM y se usó a la concentración suministrada. Los cristales crecieron usando la técnica de difusión de vapor a 4 °C. La disolución de depósito fue 22 % (p/v) de PEG 4000, acetato sódico 0,1 M, sulfato de amonio 0,2 M. Se produjeron gotas de cristalización usando una relación 1:1 de proteína y disolución de depósito. Los cristales se crioprotegieron usando 15 % (v/v) de propilenglicol. Se recogieron datos de difracción bajo nitrógeno gaseoso a 100K en la línea 17ID (IMCA-cat) en Advanced Photon Source (Argonne, IL).

Estructura de rayos X del complejo Fab de chAb7 - PRLR:

Los datos de difracción de rayos X se extendieron a la resolución de 2,0 Å, y se procesó un conjunto de datos completo con autoPROC (Global Phasing, Ltd). El grupo espacial del cristal es monoclinico P21 con parámetros de la celdilla unidad a=99 Å, b=85 Å, c=101 Å y beta=93°. Las estadísticas para el conjunto de datos recogido se proporcionan en la Tabla 18.

**TABLA 18. ESTADÍSTICAS DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X PARA EL COMPLEJO Fab de chAb7-PRLR**

Resolución (Å)	49 - 2.0
Reflexiones únicas	103,942
RCombinado (%)	7.0
Complejitud (%)	98
Multiplicidad	3.4

Determinación de la estructura:

Se determinó la estructura cristalina por sustitución molecular. Se generó el modelo de búsqueda parcial para las porciones VhV1, ChCl y PRLR y se dispusieron secuencialmente usando el programa MOLREP (Vagin et al, 1997) en el paquete CCP4 de programas (Winn et al. 2011). La unidad asimétrica contiene 2 complejos moleculares que están dispuestos similarmente y se empaquetan con parejas de simetría para completar la red cristalina con contactos intermoleculares. Se refinaron las coordenadas contra los datos usando el programa autoBUSTER (Global Phasing, Ltd) y rondas iterativas de análisis gráficos y reconstrucción en la densidad electrónica con el programa COOT (Emsley et al, 2010). Las estadísticas para la estructura resultante se proporcionan en la Tabla 19:

**TABLA 19. ESTADÍSTICAS DE REFINAMIENTO PARA EL COMPLEJO Fab de chAb7-PRLR**

Resolución (Å)	20 - 2.0
R / Rlibre (%)	18.4 / 21.6
Enlaces ideales de RMSD (Å)	0.010
Ángulos ideales de RMSD (°)	1.12

Estructura del complejo PRLR / Fab de chAb7:

Se observan contactos intermoleculares entre el dominio extracelular de PRLR y múltiples CDR de Fab de chAb7. El área superficial enterrada del receptor tras la unión al anticuerpo es 1198 Å<sup>2</sup>. Los contactos están comprendidos de interacciones hidrófobas e hidrófilas críticas e incluyen moléculas de agua de unión. Estos contactos participan directamente en H1, H2, H3, L1 y L2 de CDR de SEQ ID NO: 105 y 114. El área de contacto en el antígeno cubre una superficie de epitope en la intersección de los dominios de PRLR, que comprende la región topográfica definida por los restos de PRLR: E8, I9, F10, K11, C12, R25, E43, G44, W72, T74, I76, D91, E92, L93, Y94, V95, D96, T98, Y99, I100, W139, L143, E145, F160, K185, D187, H188, Y190 y W191 de SEQ ID NO: 2. Los restos de aminoácidos anteriores de PRLR están dentro de 4Å de Fab de chAb7 tras la unión al mismo.

La posición de chAb7 unido a PRLR sugiere que chAb7 prevendría que la prolactina se uniera a PRLR.

Los hallazgos de los Ejemplos 5 y 6 son coherentes en demostrar que chAb6 y chAb7 presentan interacciones complementarias para aproximadamente el mismo epítopo. Características de la cadena pesada conservada entre los dos anticuerpos sugieren la importancia de las interacciones de la cadena pesada en la unión de PRLR.

#### 5 **Ejemplo 7: Cristalización de complejos chAb8 (Fab)-PRLR**

Se realizó y analizó la cristalización de la estructura del complejo fragmento Fab de chAb8-PRLR del siguiente modo.

##### Preparación y purificación del fragmento Fab de chAb8:

10 Se preparó el fragmento Fab de chAb8 por escisión con papaína del mAb parental como se detalla más adelante. Se activó papaína con cisteína 50 mM en tampón PBS, pH 7,4. Se mezcló el mAb chAb8 en tampón PBS, pH 7,4, con papaína en la relación de peso 1:93 de papaína con respecto a mAb y se incubó durante 1 h a 37 °C. La reacción se inactivó con yodoacetamida 5 mM. La mezcla se purificó en 8 ml de resina MabSelect Sure (GE Healthcare) donde el fragmento Fab se recogió como flujo continuo. Se concentró el flujo continuo usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). La mezcla concentrada se purificó en 15 columna Sephacryl 200 HiPrep de 2,6 cm x 60 cm (GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón HEPES 50 mM, NaCl 50 mM, pH 7,5. Se reunieron las fracciones que contenían el fragmento Fab (monitorizado por absorbancia UV a 280 nm) y se congelaron a -80 °C. Se evaluó la pureza de la muestra por SEC analítica, SDS-PAGE y espectrometría de masas.

##### Preparación del complejo Fab de chAb8-PRLR:

20 Se expresó PRLR humano recombinante en un sistema de expresión de mamífero y posteriormente se purificó usando técnicas muy conocidas en la técnica. Se mezclaron PRLR humano recombinante y la proteína Fab de chAb8 en una relación molar 1,16:1 y se incubaron durante 2 h a 22 °C. La muestra de complejo se cargó en una columna Sephacryl 200 HiPrep de 2,6 cm x 60 cm (GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón HEPES 50 mM, NaCl 50 mM, pH 7,5, a 1 ml/min. Se reunieron las fracciones que contenían el complejo (monitorizado por absorbancia UV a 280 nm) y se concentraron a 38 mg/ml usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). Se evaluó la pureza de la muestra por SEC analítica y SDS-PAGE. El exceso de la proteína del complejo de Fab se almacenó congelada a -80 °C.

##### Cristalización del complejo chAb8-PRLR:

30 Se suministró el complejo de proteína a 38 mg/ml en HEPES 50 mM pH 7,5, NaCl 50 mM, y se usó diluido a 30 mg/ml para ensayos de cristalización. Los cristales crecieron usando la técnica de difusión de vapor a 17 °C. La disolución de depósito fue 20 % (p/v) de PEG 8000, cacodilato de sodio 0,1 M, pH 5,5, sulfato de amonio 0,2. Se produjeron gotas de cristalización usando una relación 1:1 de proteína y disolución de depósito. Los cristales se crioprotegieron usando 10 % (v/v) de propilenglicol. Se recogieron datos de difracción bajo nitrógeno gaseoso a 100K en Canadian Light Source (Saskatoon, Canadá).

##### Estructura de rayos X del complejo Fab de chAb8-PRLR:

Los datos de difracción de rayos X se extendieron a la resolución de 2,55 Å, y se procesó un conjunto de datos completo con HKL2000 (HKL Research, Inc). El grupo espacial cristalográfico es ortorrómbico P212121 con parámetros de la celdilla unidad a=55 Å, b=89 Å y c=186 Å. Las estadísticas para el conjunto de datos recogido se proporcionan en la Tabla 20.

#### 40 **TABLA 20. ESTADÍSTICAS DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X PARA EL COMPLEJO DE Fab de chAb8-PRLR**

Resolución (Å)	50 – 2.55
Reflexiones únicas	30,353
RCombinado (%)	12.7
Complejidad (%)	99
Multiplicidad	7.2

##### Determinación de la estructura:

Se determinó la estructura cristalina por sustitución molecular. Se generó el modelo de búsqueda parcial para las porciones VhV1, ChCl y PRLR y se dispusieron secuencialmente usando el programa MOLREP (Vagin et al, 1997)

5 en el paquete CCP4 de programas (Winn et al. 2011). La unidad asimétrica contiene un complejo molecular, y las parejas de simetría completan la red cristalina con contactos intermoleculares. Se refinaron las coordenadas contra los datos usando el programa autoBUSTER (Global Phasing, Ltd) y rondas iterativas de análisis gráficos y reconstrucción en la densidad electrónica con el programa COOT (Emsley et al, 2010). Las estadísticas para la estructura resultante se proporcionan en la Tabla 21:

**TABLA 21. ESTADÍSTICAS DE REFINAMIENTO PARA EL COMPLEJO Fab de chAb8-PRLR**

Resolución (Å)	44 – 2.55
R / Rlibre (%)	23.1 / 28.3
Enlaces ideales de RMSD (Å)	0.010
Ángulos ideales de RMSD (°)	1.28

Estructura del complejo PRLR / Fab de chAb8:

10 Se observan contactos intermoleculares entre el dominio extracelular de PRLR y múltiples CDR de Fab de chAb8. Los contactos están comprendidos de interacciones hidrófobas e hidrófilas críticas e incluyen moléculas de agua de unión. Estos contactos participan directamente en H1, H2, H3, L1 y L3 de CDR de SEQ ID NO: 106 y 115. El área de contacto en el antígeno cubre una superficie de epítipo en la intersección de los dominios de PRLR, que comprende la región topográfica definida por los restos de PRLR: R25, T141, L143, E145, R147, E155, W156, E157, I158, H159, F160, A161, G162, Q163, Q164, F167, S171, R183, K185, D187, H188, W191 y W194 de SEQ ID NO: 2. Los restos de aminoácidos anteriores de PRLR están dentro de 4Å de Fab de chAb8 tras la unión al mismo.

**Ejemplo 8: Cristalización de chAb5 (Fab)**

Se realizó y analizó la cristalización de la estructura del fragmento Fab de chAb5 del siguiente modo.

Preparación y purificación del fragmento Fab de chAb5:

20 Se preparó el fragmento Fab de chAb5 por escisión con papaína del mAb parental como se detalla más adelante. Se activó papaína con cisteína 50 mM en tampón PBS, pH 7,4. Se mezcló el mAb chAb5 en tampón PBS, pH 7,4, con papaína en la relación de peso 1:100 de papaína con respecto a mAb y se incubó durante 1 h a 37 °C. La reacción se inactivó con yodoacetamida 5,5 mM. La mezcla se purificó en 5 ml de resina MabSelect Sure (GE Healthcare) donde el fragmento Fab se recogió como flujo continuo. Se concentró el flujo continuo usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). La mezcla concentrada se purificó en columna Sephacryl 200 HiPrep de 2,6 cm x 60 cm (GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón HEPES 50 mM, NaCl 50 mM, pH 7,5. Se reunieron las fracciones que contenían fragmento Fab (monitoreado por absorbancia UV a 280 nm) y se concentraron a 31,3 mg/ml usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). Se evaluó la pureza de la muestra por SEC analítica, SDS-PAGE y espectrometría de masas.

30 Cristalización de chAb5:

35 Se suministró la proteína a 31,3 mg/ml en HEPES 50 mM pH 7,5, NaCl 50 mM, azida de sodio 1 mM y se diluyó a 20 mg/ml para ensayos de cristalización usando tampón de proteína. Los cristales crecieron usando la técnica de difusión de vapor a 4 °C. La disolución de depósito fue 20 % (p/v) de PEG 3350, formiato de sodio 0,2 M. Se produjeron gotas de cristalización usando una relación 1:1 de proteína y disolución de depósito. Los cristales se crioprotegieron usando 15 % (v/v) de propilenglicol. Se recogieron datos de difracción bajo nitrógeno gaseoso a 100K en la línea 17ID (IMCA-CAT) en Advanced Photon Source (Argonne, IL).

Estructura de rayos X de chAb5

40 Los datos de difracción de rayos X se extendieron a la resolución de 2,1 Å, y se procesó un conjunto de datos completo con autoPROC (Global Phasing, Ltd). El grupo espacial del cristal es monoclinico P21 con parámetros de la celdilla unidad a=72 Å, b=66 Å, c=92 Å y beta=96°. Las estadísticas para el conjunto de datos recogido se proporcionan en la Tabla 22.

**TABLA 22. ESTADÍSTICAS DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X PARA Fab DE chAb5**

Resolución (Å)	66 – 2.1
Reflexiones únicas	51,329
RCombinado (%)	10.5
Complejitud (%)	99
Multiplicidad	3.4

Determinación de la estructura:

5 Se determinó la estructura cristalina por sustitución molecular. Se generaron modelos de búsqueda parcial para las porciones VhV1 y ChCl y se dispusieron secuencialmente usando el programa MOLREP (Vagin et al, 1997) en el paquete CCP4 de programas (Winn et al. 2011). La unidad asimétrica contiene dos (2) moléculas Fab de conformación similar y se empaquetan con parejas de simetría para completar la red cristalina con contactos intermoleculares. Se refinaron las coordenadas contra los datos usando el programa autoBUSTER (Global Phasing, Ltd) y rondas iterativas de análisis gráficos y reconstrucción en la densidad electrónica con el programa COOT (Emsley et al, 2010). Las estadísticas para la estructura resultante se proporcionan en la Tabla 23:

**TABLA 23. ESTADÍSTICAS DE REFINAMIENTO PARA Fab de chAb5**

Resolución (Å)	42 – 2.1
R / Rlibre (%)	21.2/26.2
Enlaces ideales de RMSD (Å)	0.010
Ángulos ideales de RMSD (°)	1,23

Estructura de Fab de chAb5:

15 El recubrimiento del Fab de chAb5 con chAb7 del complejo con PRLR revela un estrecho alineamiento estructural, dando 0,67 Å de RMSD para las coordenadas de C-alfa alineado de los dominios VhV1. La comparación resaltó el aspecto esperado de conformación estructural muy similar para estos Fab estrechamente relacionados, y proporcionó evidencia de conformaciones similares en las localizaciones de diferentes aminoácidos. La inspección de la interfase con PRLR para las estructuras alineadas no revela graves desacuerdos con la conformación de chAb5.

20 Un recubrimiento de un modelo de chAb5 con chAb7, basado en sus estructuras cristalinas respectivas, sugiere que los anticuerpos tienen algunas diferencias y comparten conformaciones similares. Basándose en lo anterior, se espera que chAb5 tenga un epítopo similar a chAb7 con interacciones de PRLR similares.

**Ejemplo 9: Cristalización de complejos LFA-102-PRLR**

Se realizó y analizó la cristalización de la estructura del complejo LFA102-PRLR del siguiente modo.

25 Preparación y purificación de fragmento Fab de LFA-102:

Se preparó el fragmento Fab de LFA-102 por escisión con papaína del mAb parental como se detalla más adelante. Se activó papaína con cisteína 50 mM en tampón PBS, pH 7,4. Se mezcló el mAb LFA-102 en tampón PBS, pH 7,4, con papaína en la relación de peso 1:100 de papaína con respecto a mAb y se incubó durante 1 h a 37 °C. La reacción se inactivó con yodoacetamida 5 mM. La mezcla se purificó en 20 ml de resina MabSelect Sure (GE Healthcare) donde el fragmento Fab se recogió como flujo continuo. Se concentró el flujo continuo usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). La mezcla concentrada se purificó en columna Sephacryl 300 HR de 2,6 cm x 60 cm (GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón HEPES 50 mM, NaCl 50 mM, pH 7,5. Se reunieron las fracciones que contenían el fragmento Fab (monitorizado por absorbancia UV a 280 nm) y se congelaron a -80 °C. Se evaluó la pureza de la muestra por SEC analítica, SDS-PAGE y espectrometría de masas.

35 Preparación del complejo Fab de LFA-102-PRLR:

Se expresó PRLR humano recombinante en un sistema de expresión de mamífero y posteriormente se purificó usando técnicas muy conocidas en la técnica. Se mezclaron PRLR humano recombinante y la proteína Fab de LFA-

102 en una relación molar 1,1:1 y se incubaron durante 3 h a 4 °C. La muestra de complejo se cargó en una columna Sephacryl 300 HR de 2,6 cm x 60 cm (GE Healthcare) pre-equilibrada en tampón HEPES 50 mM, NaCl 50 mM, pH 7,5, a 1 ml/min. Se reunieron las fracciones que contenían el complejo (monitoreado por absorbancia UV a 280 nm) y se concentraron a 18 mg/ml usando un dispositivo centrífugo de 30 kDa de corte de peso molecular (MWCO) Ultrafree-15 Biomax (Millipore). Se evaluó la pureza de la muestra por SEC analítica y SDS-PAGE. El exceso de la proteína del complejo de Fab se almacenó congelada a -80 °C.

Cristalización del complejo Fab de LFA-102-PRLR:

Se suministró la proteína a 20,7 mg/ml en HEPES 50 mM pH 7,5, NaCl 50 mM, azida de sodio 1 mM, y se usó a la concentración suministrada. Los cristales crecieron usando la técnica de difusión de vapor a 4 °C siendo el depósito 45 % (p/v) de 2-metil-2,4-pentanodiol (MPD), Tris-HCl 0,1 M a pH 8,5, dihidrógeno fosfato de amonio 0,1 M. Con estas condiciones de disolución no se requirió crioprotector adicional, así que los cristales se recuperaron directamente de la gota y se criocongelaron en nitrógeno líquido. Se recogieron datos de difracción bajo nitrógeno gaseoso a 100K en la línea 17ID (IMCA-cat) en Advanced Photon Source (Argonne, IL).

Estructura de rayos X del complejo Fab de LFA-102-PRLR:

Los datos de difracción de rayos X se extendieron a la resolución de 2,25 Å, y se procesó un conjunto de datos completo con autoPROC (Global Phasing, Ltd). El grupo espacial cristalográfico es monoclinico C2 con parámetros de la celdilla unidad a=98 Å, b=119 Å, c=81 Å y beta=107°. Las estadísticas para el conjunto de datos recogido se proporcionan en la Tabla 24.

**TABLA 24. ESTADÍSTICAS DE LA DIFRACCIÓN DE RAYOS X PARA EL COMPLEJO Fab de LFA-102-PRLR**

Resolución (Å)	77 - ,.25
Reflexiones únicas	41,794
RCombinado (%)	3,9
Complejitud (%)	99
Multiplicidad	3,4

Determinación de la estructura:

Se determinó la estructura cristalina por sustitución molecular. Se generó el modelo de búsqueda parcial para las porciones de VhV1, ChCl y PRLR y se dispusieron secuencialmente usando el programa MOLREP (Vagin et al, 1997) en el paquete CCP4 de programas (Winn *et al.* 2011). La unidad asimétrica contiene un complejo molecular, y las parejas de simetría completan la red cristalina con contactos intermoleculares. Se refinaron las coordenadas contra los datos usando el programa autoBUSTER (Global Phasing, Ltd) y rondas iterativas de análisis gráficos y reconstrucción en la densidad electrónica con el programa COOT (Emsley et al, 2010). Las estadísticas para la estructura resultante se proporcionan en la Tabla 25:

**TABLA 25. ESTADÍSTICAS DE REFINAMIENTO PARA EL COMPLEJO Fab de LFA-102-PRLR**

Resolución (Å)	77 – 2,25
R / Rlibre (%)	19.7 / 23,1
Enlaces ideales de RMSD (Å)	0,010
Ángulos ideales de RMSD (°)	1,17

Estructura del complejo de PRLR / Fab de chAb7:

Los contactos intermoleculares entre PRLR y LFA102 implican L1, L3, H2 y H3 de CDR de LFA 102 (SEQ ID NO 156 y 157). El área de contacto en el antígeno cubre un epítipo definido por los restos de PRLR: E145, E155, W156, E157, I158, H159, F160, A161, G162, Q164, L170 y S171 de SEQ ID NO: 2. Los restos de aminoácidos anteriores de PRLR están dentro de 4Å de LFA102 tras la unión al mismo.

La posición de LFA102 unido a PRLR sugiere que LFA102 inhibiría la dimerización de PRLR, pero parece que casi permite la unión simultánea de prolactina a PRLR.

**Ejemplo 10: Unión de anticuerpos anti-PRLR a PRLRci y PRLRmu**

Se realizaron ensayos para evaluar la unión de ciertos anticuerpos anti-PRLR a PRLRci y PRLRmu del siguiente modo.

5 El tampón de electroforesis fue HBS-EP+ (Hepes 10 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, 0,05 % de P20). El ensayo se realizó usando Biacore T200 y chips sensores CM5 con anti-Fc de ratón (Pierce 31170) o anti-Fc humano (Pierce 31125), acoplado a amina en las 4 celdas de flujo a ~8000.

Se capturó mAb en las celdas de flujo 2, 3 o 4. Se inyectó antígeno (2 min a 80 µl/min). Las concentraciones fueron una dilución de 9 veces de 3 puntos de 500 nM - 7,4 nM, y tampón solo. Se monitorizó la disociación durante 15 minutos. La regeneración se realizó con 2 inyecciones consecutivas (60 y 10 s a 60 µl/min) de glicina 10 mM, pH 1,5.

10 Los resultados se representan en la Figura 10. Las cinéticas de unión de PRLR de cino y humano son prácticamente idénticas para los anticuerpos probados. Sin embargo, cada anticuerpo probado muestra significativamente y proporcionalmente cinética de unión más débil por PRLRmu.

Listado de secuencias

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:1	PRLR humano	MKENVASATVFVFTLLFLNTCLLNQQLPPGKPE IFKCRSPNKETFCTCWRPPTDGGGLPTNYS LTYHREGETLMHECPDYITGGPNSCHFGKQY TSMWR RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVTVYI VQPD PPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLID LKTGWFTLLYEIRLKP EKAWEIHFAGQQT EFKILSLH PGQKYLQV RCKPDHGYWS AWS PATFIQIPSD FTMNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALVKY SMVTCIFPPVPGPKIKGFD AHLEK GKSEELL SALGCQDFPPTSDYEDLLVEYLEVDD SEDQHL MSVH SKEHPSQGMKPT YLDPDTDSGRG SCDSP SLLSEKCEEPQANPSTFYDPEVIEKPE NPET HTWDPQCI SMEGKI PYFHAGG SKCSTW PLPQ PSQHNP RSSYHNITD VCELAVG PAGAPAT LLNEAGK DALKSSQ TIKSRE EGKATQ QREVE SFHSE TDQDTP WLLPQ EKT PFGSAK PLDYVE IHKV NKDGALS LLPKQ RENSGK PKKPGT PEN NKEYAKV SGVMD NNILV LVPDP HAKNV ACFEESA KEAPP SLEQN QAEKAL ANFTAT SSKCR LQLG LDYLD PACFTH SFH
SEQ ID NO.:2	Dominio extracelular de PRLR humano	QLPPGKPEIFKCRSPNKETFCTCWRPPTDGGGL PTNYS LTYHREGETLMHECPDYITGGPNSCHFGKQY TSMWR RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVTVYI VQPD PPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLID LKTGWFTLLYEIRLKP EKAWEIHFAGQQT EFKILSLH PGQKYLQV RCKPDHGYWS AWS PATFIQIPSD FTMNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALVKY SMVTCIFPPVPGPKIKGFD AHLEK GKSEELL SALGCQDFPPTSDYEDLLVEYLEVDD SEDQHL MSVH SKEHPSQGMKPT YLDPDTDSGRG SCDSP SLLSEKCEEPQANPSTFYDPEVIEKPE NPET HTWDPQCI SMEGKI PYFHAGG SKCSTW PLPQ PSQHNP RSSYHNITD VCELAVG PAGAPAT LLNEAGK DALKSSQ TIKSRE EGKATQ QREVE SFHSE TDQDTP WLLPQ EKT PFGSAK PLDYVE IHKV NKDGALS LLPKQ RENSGK PKKPGT PEN NKEYAKV SGVMD NNILV LVPDP HAKNV ACFEESA KEAPP SLEQN QAEKAL ANFTAT SSKCR LQLG LDYLD PACFTH SFH
SEQ ID NO.:3	Isoforma 2 de PRLR humano	MKENVASATVFVFTLLFLNTCLLNQQLPPLEL AVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLKTGWFT LLYEIRLKP EKAWEIHFAGQQT EFKILSLH PGQKYLQV RCKPDHGYWS AWS PATFIQIPSD FTMNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALVKY SMVTCIFPPVPGPKIKGFD AHLEK GKSEELL SALGCQDFPPTSDYEDLLVEYLEVDD SEDQHL MSVH SKEHPSQGMKPT YLDPDTDSGRG SCDSP SLLSEKCEEPQANPSTFYDPEVIEKPE NPET HTWDPQCI SMEGKI PYFHAGG SKCSTW PLPQ PSQHNP RSSYHNITD VCELAVG PAGAPAT LLNEAGK DALKSSQ TIKSRE EGKATQ QREVE SFHSE TDQDTP WLLPQ EKT PFGSAK PLDYVE IHKV NKDGALS LLPKQ RENSGK PKKPGT PEN NKEYAKV SGVMD NNILV LVPDP HAKNV ACFEESA KEAPP SLEQN QAEKAL ANFTAT SSKCR LQLG LDYLD PACFTH SFH



Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:4	Isoforma 3 de PRLR humano	MKENVASATVFLLLLFLNTCLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSPTY HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFQKQYTSMW RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVYIVQPD PPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLK TGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTFFK ILSLHPGQKYLQVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSAW
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:5	Isoforma 4 de PRLR humano	MKENVASATVFLLLLFLNTCLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSPTY HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFQKQYTSMW RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVYIVQPD PPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLK TGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTFFK ILSLHPGQKYLQVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSDFTMNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALKGYSMVTCIFPPVPGPKIKGFDHLLLEKGG SEELLSALGCQDFPPTS DYEDLLVEYLEVDDS EDQHLMSVHSKEHPSQGDPLMLGASHYKNLKS YRPRKISSQGR LAVFTKATLTTVQ
SEQ ID NO.:6	Isoforma 5 de PRLR humano	MKENVASATVFLLLLFLNTCLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSPTY HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFQKQYTSMW RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVYIVQPD PPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLK TGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTFFK ILSLHPGQKYLQVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSDFTMNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALKGYSMVTCIFPPVPGPKIKGFDHLLLEKGG SEELLSALGCQDFPPTS DYEDLLVEYLEVDDS EDQHLMSVHSKEHPSQEREQRQAQEARDS
SEQ ID NO.:7	Isoforma 6 de PRLR humano	MKENVASATVFLLLLFLNTCLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSPTY HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFQKQYTSMW RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVYIVQPD PPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLK TGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTFFK ILSLHPGQKYLQVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSDFTMNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALKGYSMVTCIFPPVPGPKIKGFDHLLLETP
SEQ ID NO.:8	Isoforma 7 de PRLR humano	MKENVASATVFLLLLFLNTCLLNGQLPPGKPE IFKCRSPNKETFTCWWRPGTDGGLPTNYSPTY HREGETLMHECPDYITGGPNSCHFQKQYTSMW RTYIMMVNATNQMGSSFSDELYVDVYIVQPD PPLELAVEVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLK TGWFTLLYEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTFFK ILSLHPGQKYLQVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSGDPLMLGASHYKNLKS YRPRKISSQGR LAVFTKATLTTVQ
SEQ ID NO.:9	Isoforma 8 de PRLR humano	MHECPDYITGGPNSCHFQKQYTSMWRTYIMMV NATNQMGSSFSDELYVDVYIVQPD PPLELAV EVKQPEDRKPYLWIKWSPPTLIDLKTGWFTLL YEIRLKPEKAAEWEIHFAGQQTFFK ILSLHPG QKYLQVRCKPDHGYWSAWSPATFI QIPSDFT MNDTTVWISVAVLSAVICLIIVWAV ALKGYSM VTCIFPPVPGPKIKGFDHLLLETP

ES 2 671 506 T3

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:10	Región constante de Ig gamma-1	ASTKGPVSFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYT QKSLSLSPGK
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:11	Mutante de la región constante de Ig gamma-1	ASTKGPVSFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYT QKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:12	Región constante de Ig Kappa	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY BREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO.:13	Región constante de Ig lambda	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSTPEQWKSHRSYSQCQVTHEGSTVE KTVAPTECS
SEQ ID NO.:14	VH1-18 y JH6 FR1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCSCKASGYTFT
	21/28 y JH4 FR1	
	VH1-46 y JH6 FR1	
SEQ ID NO.:15	VH1-18 y JH6 FR2	WVRQAPGQGLEWMG
	VH1-46 y JH6 FR2	
SEQ ID NO.:16	VH1-18 y JH6 FR3	RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR
SEQ ID NO.:17	VH1-18&JH6 FR4	WGQGTTVTVSS
	VH2-26&JH6 FR4	
	VH1-46&JH6 FR4	
SEQ ID NO.:18	21/28&JH4 FR2	WVRQAPGQRLEWMG
SEQ ID NO.:19	21/28&JH4 FR3	RVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCAR
SEQ ID NO.:20	21/28&JH4 FR4	WGQGTLVTVSS
	M60&JH4 FR4	
SEQ ID NO.:21	VH2-26&JH6 FR1	QVTLKESGPVLVKPTETLTLCTVSGFSL
SEQ ID NO.:22	VH2-26&JH6 FR2	WIRQPPGKALEWLAH
SEQ ID NO.:23	VH2-26&JH6 FR3	RLTISKDTSKSQVLTMTNMDPVDATYYCAR
SEQ ID NO.:24	M60&JH4 FR1	QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTLYGFSL

ES 2 671 506 T3

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:25	M60&JH4 FR2	WIRQPPGKALEWLA
SEQ ID NO.:26	M60&JH4 FR3	RLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAR
SEQ ID NO.:27	VH1-46&JH6 FR3	RVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDATVYYCAR
SEQ ID NO.:28	A20&JK4 FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC
	III-3R&JK4 FR1	
SEQ ID NO.:29	A20&JK4 FR2	WYQQKPGKVPKLLIY
	III-3R&JK4 FR2	
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:30	A20&JK4 FR3	GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDVATYYC
SEQ ID NO.:31	A20&JK4 FR4	FGGGTKVEIKR
	III-3R&JK4 FR4	
	A1&JK4 FR4	
SEQ ID NO.:32	III-3R&JK4 FR3	GVPSRISGSGSGTDFFTISLQPEDVATYYC
SEQ ID NO.:33	A1&JK4 FR1	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC
SEQ ID NO.:34	A1&JK4 FR2	WFQQRPGQSPRRLIY
SEQ ID NO.:35	A1&JK4 FR3	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC
	01&JK2 FR3	
SEQ ID NO.:36	01&JK2 FR1	DIVMTQTPLSLPVTGEPASISC
SEQ ID NO.:37	01&JK2 FR2	WYLQKPGQSPQLLIY
SEQ ID NO.:38	01&JK2 FR4	FGQGTKLEIKR
SEQ ID NO.:39	Ab1 VH.1z	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTTY WMHWVRQAPGQGLEWMGEIDPSDSYSNYNQKF KDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDATVYYC ARNGGLGPAWFSYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO.:40	Ab1 VH.1z CDRH1	GYTFTTYWMH
	Ab1 VH.1 CDRH1	
	Ab1 VH.1a CDRH1	
SEQ ID NO.:41	Ab1 VH.1z CDRH2	EIDPSDSYSNYNQKFKD
	Ab1 VH.1 CDRH2	
	Ab1 VH.1a CDRH2	
SEQ ID NO.:42	Ab1 VH.1z CDRH3	NGGLGPAWFSY
	Ab1 VH.1 CDRH3	
	Ab1 VH.1a CDRH3	
	Ab1 VH.1b CDRH3	

ES 2 671 506 T3

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:43	Ab1 VH.1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTTY WMHWVRQAPGQGLEWMGEIDPSDSYSNYNQKF KDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARNGGLGPAWFSYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO.:44	Ab1 VH.1a	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTTY WMHWVRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYSNYNQKF KDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARNGGLGPAWFSYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO.:45	Ab1 VH.1b	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTTY WMHWVRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYSNYAQKF QGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARNGGLGPAWFSYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO.:46	Ab1 VH.1b CDRH1	GGTFTTYWMH
SEQ ID NO.:47	Ab1 VH.1b CDRH2	EIDPSDSYSNYAQKF
SEQ ID NO.:48	Ab1 VL.1	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASQYVGTA VAWYQQKPGKAPKLLIYSASNRYTGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSYPW TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO.:49	Ab1 VL.1 CDRL1	<b>KASQYVGTAVA</b>
	Ab1 VL.1a CDRL1	
	Ab1 VL.2 CDRL1	
	Ab1 VL.2a CDRL1	
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:50	Ab1 VL.1 CDRL2	<b>SASNRYT</b>
	Ab1 VL.1a CDRL2	
	Ab1 VL.2 CDRL2	
	Ab1 VL.2a CDRL2	
SEQ ID NO.:51	Ab1 VL.1 CDRL3	<b>QQYSSYPWT</b>
	Ab1 VL.1a CDRL3	
	Ab1 VL.2 CDRL3	
	Ab1 VL.2a CDRL3	
SEQ ID NO.:52	Ab1 VL.1a	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASQYVGTA VAWYQQKPGKSPKLLIYSASNRYTGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSYPW TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO.:53	Ab1 VL.2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC <b>KASQYVGTA</b> VAWYQQKPGQAPRLLIYSASNRYTGIPARFSG SGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYSSYPW TFGGGTKVEIK
SEQ ID NO.:54	Ab1 VL.2a	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC <b>KASQYVGTA</b> VAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGVPARFSD SGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYSSYPW TFGGGTKVEIK

ES 2 671 506 T3

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:55	Ab2 VH.1z	<b>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFTSF</b> <b>WMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDITYTNYNQKF</b> <b>KGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDYAVYYC</b> ARGDYSNWFTYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO.:56	Ab2 VH.1z CDRH1	<b>GYTFTSFWMH</b>
	Ab2 VH.1 CDRH1	
	Ab2 VH.1a CDRH1	
SEQ ID NO.:57	Ab2 VH.1z CDRH2	<b>VIDPSDITYTNYNQKFKG</b>
	Ab2 VH.1 CDRH2	
	Ab2 VH.1a CDRH2	
SEQ ID NO.:58	Ab2 VH.1z CDRH3	<b>GDYSNWFTY</b>
	Ab2 VH.1 CDRH3	
	Ab2 VH.1a CDRH3	
	Ab2 VH.1b CDRH3	
SEQ ID NO.:59	Ab2 VH.1	<b>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFTSF</b> <b>WMHWVRQAPGQGLEWMGVIDPSDITYTNYNQKF</b> <b>KGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDYAVYYC</b> ARGDYSNWFTYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO.:60	Ab2 VH.1a	<b>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFTSF</b> <b>WMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPSDITYTNYNQKF</b> <b>KGRATLTVDESSSTAYMELSSLRSEDYAVYYC</b> ARGDYSNWFTYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO.:61	Ab2 VH.1b	<b>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGGTFTSF</b> <b>WMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPSDITYTNYAQKF</b> <b>QGRVTITVDESTSTAYMELSSLRSEDYAVYYC</b> ARGDYSNWFTYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO.:62	Ab2 VH.1b CDRH1	<b>GGTFTSFWMH</b>
SEQ ID NO.:63	Ab2 VH.1b CDRH2	<b>VIDPSDITYTNYAQKFKG</b>
SEQ ID NO.:64	Ab2 VL.1	<b>DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLVHS</b> <b>NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFS</b> <b>DRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCSQS</b> <b>THVPWTFGGGTKVEIK</b>
SEQ ID NO.:65	Ab2 VL.1 CDRL1	<b>RSSQRLVHSNGNTYLH</b>
	Ab2 VL.1a CDRL1	
	Ab2 VL.1b CDRL1	
SEQ ID NO.:66	Ab2 VL.1 CDRL2	<b>KVSNRFS</b>
	Ab2 VL.1a CDRL2	
	Ab2 VL.1b CDRL2	
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:67	Ab2 VL.1 CDRL3	<b>SQSTHVPWT</b>
	Ab2 VL.1a CDRL3	

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
	Ab2 VL.1b CDRL3	
SEQ ID NO.:68	Ab2 VL.1a	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQS THVPWTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO.:69	Ab2 VL.1b	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQS THVPWTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO.:70	Ab3 VH.1z	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY NIHWVRQAPGQGLEWMGYIYPNNDGTGYNQKF KSRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC ARGDGNVVGDMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO.:71	Ab3 VH.1z CDRH1	GYTFTDYNIH
	Ab3 VH.1 CDRH1	
	Ab3 VH.1a CDRH1	
	Ab3 VH.1b CDRH1	
SEQ ID NO.:72	Ab3 VH.1z CDRH2	YIYPNNDGTGYNQKF
	Ab3 VH.1 CDRH2	
	Ab3 VH.1a CDRH2	
SEQ ID NO.:73	Ab3 VH.1z CDRH3	GDDGNVVGDMDY
	Ab3 VH.1 CDRH3	
	Ab3 VH.1a CDRH3	
	Ab3 VH.1b CDRH3	
SEQ ID NO.:74	Ab3 VH.1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY NIHWVRQAPGQGLEWMGYIYPNNDGTGYNQKF KSRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC ARGDGNVVGDMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO.:75	Ab3 VH.1a	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY NIHWVRQAPGQGLEWIGYIYPNNDGTGYNQKF KSRATLTVDNSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC ARGDGNVVGDMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO.:76	Ab3 VH.1b	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY NIHWVRQAPGQGLEWIGYIYPNNDGTGYAQL QGRVTMTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC ARGDGNVVGDMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO.:77	Ab3 VH.1b CDRH2	YIYPNNDGTGYAQLQG
SEQ ID NO.:78	Ab3 VL.1	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASENIYSY LAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYATPF TFGGGTKLEIK
SEQ ID NO.:79	Ab3 VL.1 CDRL1	RASENIYSYLA
	Ab3 VL.1a CDRL1	
	Ab3 VL.1b CDRL1	

ES 2 671 506 T3

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:80	Ab3 VL.1 CDRL2	<b>NAKTLAE</b>
	Ab3 VL.1a CDRL2	
	Ab3 VL.1b CDRL2	
SEQ ID NO.:81	Ab3 VL.1 CDRL3	<b>QHHYATPFT</b>
	Ab3 VL.1a CDRL3	
	Ab3 VL.1b CDRL3	
SEQ ID NO.:82	Ab3 VL.1a	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIYSY <b>LAWYQQKPGKPKLLVYNAKTLAEGVPSRFSG</b> SGSGTDFTLTISSLPEDFATYYC <b>QHHYATPF</b> TFGQGTKLEIK
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:83	Ab3 VL.1b	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASENIYSY <b>LAWYQQKPGKAPKLLVYNAKTLAEGVPSRFSG</b> SGSGTDFTLTISSLPEDFATYYC <b>QHHYATPF</b> TFGQGTKLEIK
SEQ ID NO.:84	Ab4 VH.1z	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFTSY <b>WIHWVRQAPGQGLEWMGEIDPSDSYTNYNQKF</b> <b>KGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC</b> AR <b>SFFTNWFAY</b> WGQGLVTVSS
SEQ ID NO.:85	Ab4 VH.1z CDRH1	<b>GYTFTSYWIH</b>
	Ab4 VH.1 CDRH1	
	Ab4 VH.1a CDRH1	
	Ab4 VH.1a.2	
	CDRH1	
	Ab4 VH.1a.3	
	CDRH1	
	Ab4 VH.1b.2	
CDRH1		
SEQ ID NO.:86	Ab4 VH.1z CDRH2	<b>EIDPSDSYTNYNQKFKG</b>
	Ab4 VH.1 CDRH2	
	Ab4 VH.1a CDRH2	
	Ab4 VH.1a.2	
	CDRH2	
	Ab4v VH.1a.3	
	CDRH2	
	Ab4 VH.1b.2	
CDRH2		
SEQ ID NO.:87	Ab4 VH.1z CDRH3	<b>SFFTNWFAY</b>

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
	Ab4 VH.1 CDRH3	
	Ab4 VH.1a CDRH3	
	Ab4 VH.1a.2	
	CDRH3	
	Ab4 VH.1a.3	
	CDRH3	
	Ab4 VH.1b CDRH3	
	Ab4 VH.1b.2	
	CDRH3	
SEQ ID NO.:88	Ab4 VH.1	<b>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFDTSY WIHWVRQAPGQGLEWMGEIDPDSYTNYNQKF KGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYC ARSFFTNWFAYWGQGLVTVSS</b>
SEQ ID NO.:89	Ab4 VH.1a	<b>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFDTSY WIHWVRQAPGQGLEWIGEIDPDSYTNYNQKF KGRATLTVDRSSSTAYMELSSLRSEDYAVYYC GRSFFTNWFAYWGQGLVTVSS</b>
SEQ ID NO.:90	Ab4 VH.1b.2	<b>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKKASGYTFDTSY WIHWVRQAPGQGLEWIGEIDPDSYTNYNQKF KGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDYAVYYC ARSFFTNWFAYWGQGLVTVSS</b>
SEQ ID NO.:91	Ab4 VL.1	<b>DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCSQS THVPFTFGGGTKVEIK</b>
SEQ ID NO.:92	Ab4 VL.1 CDRH1	<b>RSSQSLVHSNGNTYLH</b>
	Ab4 VL.1a CDRH1	
	Ab4 VL.1b CDRH1	
SEQ ID NO.:93	Ab4 VL.1 CDRH2	<b>KVSNRFS</b>
	Ab4 VL.1a CDRH2	
	Ab4 VL.1b CDRH2	
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:94	Ab4 VL.1 CDRH3	<b>SQSTHVPFT</b>
	Ab4 VL.1a CDRH3	
	Ab4 VL.1b CDRH3	
SEQ ID NO.:95	Ab4 VL.1a	<b>DVVMQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYFCSQS THVPFTFGGGTKVEIK</b>
SEQ ID NO.:96	Ab4 VL.1b	<b>DVVMQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYCSQS THVPFTFGGGTKVEIK</b>



Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:97	Región CDR:	Secuencia consenso: 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 35a X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> G Y T F I S Y W M H F S I S D F N I F K T D Y A W
	CDRH1	
SEQ ID NO.:98	Región CDR:	Secuencia consenso:
	CDRH2	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> X <sub>13</sub> X <sub>14</sub> X <sub>15</sub> X <sub>16</sub> X <sub>17</sub> Y I D P S D G Z T N Y N C K F K G V F Y K Y H S G S G F F C D E L S E S K G D H A Y F P T V D G S S T S S S S K
SEQ ID NO.:99	Región CDR:	Secuencia consenso:
	CDRH3	95 96 97 98 99 100 100a 100b 100c 100d 100e 101102 X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> X <sub>13</sub> G D G S Y W F D Y S F F K H V G D M A K T N G Y I G F A W E A Q L W L L G Y A G S G M Y S R S G Y - A
SEQ ID NO.:100	Región CDR:	Secuencia consenso:
	CDRL1	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> X <sub>13</sub> X <sub>14</sub> X <sub>15</sub> X <sub>16</sub> R A S Q - - - - N G K - Y I F K S E C L V R S I L Y S A V A S S R - - V Q M T S S
SEQ ID NO.:101	Región CDR:	Secuencia consenso:
	CDRL2	50 51 52 53 54 55 56 X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> K A S N R F S N V K T L A E S D Y C T S
SEQ ID NO.:102	Región CDR:	Secuencia consenso:
	CDRL3	89 90 91 92 93 94 95 95a 96 97 X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> Q Q S S F V F T S E H C S I F W F C Y A Y L Y G W V
SEQ ID NO.:103	Cadena ligera variable de Ab5 murino	DVVMQTPLSLPVSLGDAQSISCRSSQRLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFGSVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQS THVPWTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO.:104	Cadena ligera variable de Ab6 murino	DIVMTQSQKFMSTTVGDRVSIITCKASQYVGT VAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRITGVPDRFTD SGSGTDFLTITISNLQSEDLADYFCQQYSSYPW TFGGGTKLEIK
SEQ ID NO.:105	Cadena ligera variable de Ab7 murino	DVVMQTPLSLPVSLGDAQSISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFGSVP DRFSGSGSGTDFTLKINRVEAEDLGVYFCSQS THVPFTFGSGTKLEIK
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:106	Cadena ligera variable de Ab8 murino	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSY LAWYQQKQKPKPQLLVYNAKTLAEGVPSRFGS GGSGTQFSLKINSIQPEDFGSYCQHHYATPF TFGGGTKLEIK

ES 2 671 506 T3

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:107	Cadena ligera variable de Ab9 murino	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSY LAWYQQKQKGKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSG SGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYHCQHHSQTPF TFGSGTKLEIK
SEQ ID NO.:108	Cadena ligera variable de Ab10 murino	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSY LTWYQQKQKGKSPQLLVYNAKTLAEGVPSRFSG SGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYHCQHHSVTPL TFGAGTKLEIK
SEQ ID NO.:109	Cadena ligera variable de Ab11 murino	DVLTMTQTPPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSIVHS NGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSQVPS DRFSGSGSGTDFTLKIISRVEAEDLGVVYCFQG SHVPTTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO.:110	Cadena ligera variable de Ab12 murino	QIVLTQSPGIMASAPGKVTMTCSASSSVTYM YWYQQKPRSSPKPWIYLTSLNLAAGVPSRFSG SGSGTYSLTISSEAEADGATYYCQQWSSTPPL TFGGGTKLELN
SEQ ID NO.:111	Cadena ligera variable de Ab13 murino	DVVTMTQTPPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSQVPS DRFSGSGSGTDFTLKIISRVEAEDLELYFCSQS THVPTTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO.:112	Cadena pesada variable de Ab5 murino	QVQLQQPGAELVLRPGTSSVKLSCKASGYTFTSF WMHWVKQRPGQGLEWIGVIDPSDITYTNYNQKF KSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC ARGDYSNWFYWGQGLVTVSA
SEQ ID NO.:113	Cadena pesada variable de Ab6 murino	QVQLQQPGAELVMPGSSVKLSCKASGYTFTTY WMHWVKQRPGQGLEWIGVIDPSDSYSNINQKF KDKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC ARNGGLGPAWFSYWGQGLVTVSA
SEQ ID NO.:114	Cadena pesada variable de Ab7 murino	QVQLQQPGAELVMPGTSSVKLSCKASGYTFTSY WIHWVKQRPGQGLEWIGVIDPSDITYTNYNQKF KSKATLTVDRSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC GRSFTTNWFAYWGQGLVTVSA
SEQ ID NO.:115	Cadena pesada variable de Ab8 murino	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDY NIHWVKQSHGKSLWIGYIYPNNDGTGYNQKF KSKATLTVDNSSSTAYMEVRSLSLSEDSAVYYC ARGDGNVYVGMMDYWGQGSVTVSS
SEQ ID NO.:116	Cadena pesada variable de Ab9 murino	EVQLQQSGPELVLRPGASVKISCKASGYSFTDY NMHWVKQSHGKSLWIGYIYPYNGGAGYNQKF KSKATMNVGISSSTAYMELRSLTSEDSAVYYC ARGDGNVYVGMMDYWGQGSVTVSS
SEQ ID NO.:117	Cadena pesada variable de Ab10 murino	EVQLHQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDY NMHWVKQSHGKSLWIGYIYPYNGGTGYNQEF KNKATLTVDISSTAYMELRRLTSEDSAVYYC ARGGWIYYAMDYWGQGSVTVSS
SEQ ID NO.:118	Cadena pesada variable de Ab11 murino	EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSDY YMFWRQTPEKSLWVAYISNGGGSYYPDTV KGRFTISRDNKNTLYLQMSRLKSEDTAMYYC SRQLFYYSRGAMGYWGQGSVTVSS
SEQ ID NO.:119	Cadena pesada variable de Ab12 murino	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLCTCTVGTGYSITSD YAWNWRIRQFPNGKLEWGMGIGYSGRTSFNPSL KSRISITRDTSKNQFLQLNSVTEDTATYYC ARGGFAMDYWGQGSVTVSS
SEQ ID NO.:120	Cadena pesada variable de Ab13 murino	DVVTMTQTPPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSQVPS DRFSGSGSGTDFTLKIISRVEAEDLELYFCSQS THVPTTFGGGTKLEIK
		<b>12345678901234567890123456789012</b>

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:121	Ab4 VH.1a.2	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSY WIHWVRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYTNYNQKF KGRATLTVDRSSSTAYMELSSLRSED TAVYYC GRSFFTNWFAYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO.:122	Ab4 VH.1a.3	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSY WIHWVRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYTNYNQKF KGRATLTVDKSSSTAYMELSSLRSED TAVYYC GRSFFTNWFAYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO.:123	Ab4 VH.1b	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTSY WIHWVRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYTNYAQKF QGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARSFFTNWFAYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO.:124	Ab1 HC.1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTTY WMHWVRQAPGQGLEWMGEIDPSDSYSNYNQKF KDRVTITADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARNGGLGPAWFSYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCD KTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVD KSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP GK
SEQ ID NO.:125	Ab1 LC.1	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASQYVGT VAWYQQKPGKAPKLLIYSASNRYTGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATY CQQYSSYPWTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO.:126	Ab1 LC.1a	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASQYVGT VAWYQQKPGKSPKLLIYSASNRYTGVP SRFSDSGSGTDFTLTISSLPEDFATY FCQQYSSYPWTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO.:127	Ab1 LC.2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCASQYVGT VAWYQQKPGQAPRLLIYSASNRYTGIP PARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVY CQQYSSYPWTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO.:128	Ab1 LC.2a	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCASQYVGT VAWYQQKPGQSPRLLIYSASNRYTGIP PARFSDSGSGTEFTLTISLQSEDFAVY FCQQYSSYPWTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
		<b>12345678901234567890123456789012</b>

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:129	Ab1 HC.1a	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTTY WMHWVRQAPGQGLEWIGEDPSDSYSNYNQKF KDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARNGGLGPAWFSYWGQGLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP GK
SEQ ID NO.:130	Ab1 HC.1b	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTTY WMHWVRQAPGQGLEWIGEDPSDSYSNYAQKF QGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARNGGLGPAWFSYWGQGLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP GK
SEQ ID NO.:131	Ab2 HC.1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSF WMHWVRQAPGQGLEWVGVIDPSDTYTNYNQKF KGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYC ARGDYSNWFTYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:132	Ab2 LC.1	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFGSVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS THVPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO.:133	Ab2 LC.1a	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFGSVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQS THVPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
		<b>12345678901234567890123456789012</b>

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:134	Ab2 LC.1b	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASTISCRSSQRLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS THVPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNQSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO.:135	Ab2 HC.1a	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSF WMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPDSITYTNYNQKF KGRATLTVDSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGDYSNWFTYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDT HTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:136	Ab2 HC.1b	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTSF WMHWVRQAPGQGLEWIGVIDPDSITYTNYAQKF QGRVTITVDESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARGDYSNWFTYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDT HTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:137	Ab4 HC.1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSY WIHWVRQAPGQGLEWIGVIDPDSITYTNYNQKF KGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARSFFTNWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDT HTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:138	Ab4 LC.1	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASTISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS THVPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNQSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:139	Ab4 LC.1a	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASTISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQS THVPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNQSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:140	Ab4 LC.1b	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASTISCRSSQSLVHS NGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVP DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS THVPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO.:141	Ab4 HC.1a	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSY WIHWVRQAPGQGLEWIGEDPSDSTNYNQKF KGRATLTVDKSSSTAYMELSSLRSEDVAVYIC ARSFNTNWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKT HTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:142	Ab4 HC.1b	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFTSY WIHWVRQAPGQGLEWIGEDPSDSTNYAQKF QGRVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYIC ARSFNTNWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKT HTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:143	Ab3 HC.1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDY NIHWVRQAPGQGLEWGMGIYPNDGTGYNQKF KSRVTMTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYIC ARGDGNVVDMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCD KTHTCPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV KSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
		<b>12345678901234567890123456789012</b>
SEQ ID NO.:144	Ab3 LC.1	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASENIYSY LAWYQQKPGKAPKLLIYNAKTLAEGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYATPF TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO.:145	Ab3 LC.1a	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASENIYSY LAWYQQKPGKPPKLLVYNAKTLAEGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYATPF TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia																																																																																			
SEQ ID NO.:146	Ab3 LC.1b	DIQMTQSPSSLSASVGRVTTTCRASENIYSY LAWYQQKPGKAPKLLVYNKTLAEGVPSRFSG SGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQHHYATPF TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC																																																																																			
SEQ ID NO.:147	Ab3 HC.1a	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY NIHWVRQAPGQGLEWIGYIYPNNDGTGYNQKF KSRATLTVDNSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC ARGDGNVVGDMYWGQGTITVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK																																																																																			
SEQ ID NO.:148	Ab3 HC.1b	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY NIHWVRQAPGQGLEWIGYIYPNNDGTGYAQKL QGRVTMTVDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC ARGDGNVVGDMYWGQGTITVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK																																																																																			
SEQ ID NO.:149	Ab4 VH.1b CDRH1	<b>GGFTSYWIH</b>																																																																																			
SEQ ID NO.:150	Ab4 VH.1b CDRH2	<b>EIDPSDSYTNYAQKFQG</b>																																																																																			
SEQ ID NO.:151	Región CDR: CDRH1	Secuencia consenso: <table border="1"> <tr> <td>26</td><td>27</td><td>28</td><td>29</td><td>30</td><td>31</td><td>32</td><td>33</td><td>34</td><td>35</td><td>36a</td> </tr> <tr> <td>X<sub>1</sub></td><td>X<sub>2</sub></td><td>X<sub>3</sub></td><td>X<sub>4</sub></td><td>X<sub>5</sub></td><td>X<sub>6</sub></td><td>X<sub>7</sub></td><td>X<sub>8</sub></td><td>X<sub>9</sub></td><td>X<sub>10</sub></td><td>X<sub>11</sub></td> </tr> <tr> <td>G</td><td>Y</td><td>L</td><td>F</td><td>C</td><td>S</td><td>Y</td><td>W</td><td>M</td><td>L</td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td>F</td><td>S</td><td>I</td><td>S</td><td>D</td><td>F</td><td>K</td><td>C</td><td>F</td><td>K</td> </tr> <tr> <td></td><td>G</td><td></td><td></td><td>T</td><td>D</td><td>Y</td><td>A</td><td>W</td><td></td><td></td> </tr> </table>	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36a	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>	G	Y	L	F	C	S	Y	W	M	L			F	S	I	S	D	F	K	C	F	K		G			T	D	Y	A	W																														
26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36a																																																																											
X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>																																																																											
G	Y	L	F	C	S	Y	W	M	L																																																																												
	F	S	I	S	D	F	K	C	F	K																																																																											
	G			T	D	Y	A	W																																																																													
		<b>12345678901234567890123456789012</b>																																																																																			
SEQ ID NO.:152	Región CDR: CDRH2	Secuencia consenso: <table border="1"> <tr> <td>X<sub>1</sub></td><td>X<sub>2</sub></td><td>X<sub>3</sub></td><td>X<sub>4</sub></td><td>X<sub>5</sub></td><td>X<sub>6</sub></td><td>X<sub>7</sub></td><td>X<sub>8</sub></td><td>X<sub>9</sub></td><td>X<sub>10</sub></td><td>X<sub>11</sub></td><td>X<sub>12</sub></td><td>X<sub>13</sub></td><td>X<sub>14</sub></td><td>X<sub>15</sub></td> </tr> <tr> <td>Y</td><td>I</td><td>D</td><td>P</td><td>S</td><td>D</td><td>G</td><td>Y</td><td>T</td><td>K</td><td>Y</td><td>K</td><td>Q</td><td>K</td><td>P</td><td>K</td><td>G</td> </tr> <tr> <td>V</td><td>F</td><td>Y</td><td>K</td><td>Y</td><td>K</td><td>S</td><td>S</td><td>S</td><td>G</td><td>F</td><td>P</td><td>D</td><td>K</td><td>L</td><td>Q</td><td>S</td> </tr> <tr> <td>E</td><td>S</td><td>S</td><td>K</td><td>S</td><td>D</td><td>E</td><td>A</td><td>Y</td><td>A</td><td>F</td><td>T</td><td>V</td><td>D</td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td>G</td><td></td><td>G</td><td>S</td><td>T</td><td>S</td><td>S</td><td></td><td>S</td><td></td><td>S</td><td></td><td>K</td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	X <sub>13</sub>	X <sub>14</sub>	X <sub>15</sub>	Y	I	D	P	S	D	G	Y	T	K	Y	K	Q	K	P	K	G	V	F	Y	K	Y	K	S	S	S	G	F	P	D	K	L	Q	S	E	S	S	K	S	D	E	A	Y	A	F	T	V	D					G		G	S	T	S	S		S		S		K			
X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	X <sub>6</sub>	X <sub>7</sub>	X <sub>8</sub>	X <sub>9</sub>	X <sub>10</sub>	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	X <sub>13</sub>	X <sub>14</sub>	X <sub>15</sub>																																																																							
Y	I	D	P	S	D	G	Y	T	K	Y	K	Q	K	P	K	G																																																																					
V	F	Y	K	Y	K	S	S	S	G	F	P	D	K	L	Q	S																																																																					
E	S	S	K	S	D	E	A	Y	A	F	T	V	D																																																																								
	G		G	S	T	S	S		S		S		K																																																																								

Identificador de secuencia	Proteína	Secuencia
SEQ ID NO.:153	Ab4 HC.1b.2	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYTHYNQKFKGRVITV DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVVYCARSFTHWFAYW GQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGL YLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSHTKVDKVV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:154	Ab4 HC.1a.3	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYTHYNQKFKGRATLTV DKSSSTAYMELSSLRSEDTAVVYCGRSFTHWFAYW GQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGL YLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSHTKVDKVV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:155	Ab4 HC.1a.2	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYWIHW VRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYTHYNQKFKGRATLTV DRSSSTAYMELSSLRSEDTAVVYCGRSFTHWFAYW GQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGL YLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSHTKVDKVV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:156	Cadena pesada de LFA102	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAIVSGFTFSSYGMSW VRQAPGKRLEWVATVSSGGTYTYYPDSVKGRFTISR DNGKNTLYLQMNGLRAEDTAMYYCARHRGNYATYY YAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAV LQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHHKPSHT KVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQFEN NYKTPPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFPSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO.:157	Cadena ligera de LFA102	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCKASKSVSTSGYTY MHWYQQKPGQPPKLLIYLASNRESGVDRFGSGSG TDFTLTISPVAEDVATYYCQHSSELPPSFGQGTKL EIKRTVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSL STLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC



## REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo capaz de unirse a receptor de prolactina (PRLR), que comprende un dominio de unión al antígeno con al menos dos conjuntos de CDR de dominio variable seleccionados de un grupo que consiste en:

5 (1) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 40, 41 y 42 o SEQ ID NO: 46, 47 y 42, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 49, 50 y 51;

(2) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 56, 57 y 58 o SEQ ID NO: 62, 63 y 58, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO 65, 66 y 67;

10 (3) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 71, 72 y 73 o SEQ ID NO: 71, 77 y 73, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 79, 80 y 81; y

(4) cualquiera de los conjuntos de CDR del dominio variable de la cadena pesada SEQ ID NO: 85, 86 y 87 o SEQ ID NO: 149, 150 y 87, y el conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera SEQ ID NO: 92, 93 y 94.

2. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo según la reivindicación 1, que comprende además una región estructural de receptor humano.

3. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo según la reivindicación 1, que comprende al menos un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 44; SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 45; SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60; SEQ ID NO: 61; SEQ ID NO: 70; SEQ ID NO: 74; SEQ ID NO: 75; SEQ ID NO: 76; SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; SEQ ID NO: 90; SEQ ID NO: 121; SEQ ID NO: 122 y SEQ ID NO: 123; o en el que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende dos dominios variables, que tienen secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en:

25 (1) una de SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 o SEQ ID NO: 45; y una de SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53 o SEQ ID NO: 54;

(2) una de SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 60 o SEQ ID NO: 61; y una de SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68 o SEQ ID NO: 69;

30 (3) una de SEQ ID NO: 70; SEQ ID NO: 74; SEQ ID NO: 75 o SEQ ID NO: 76; y una de SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82 o SEQ ID NO: 83; y

(4) una de SEQ ID NO: 84; SEQ ID NO: 88; SEQ ID NO: 89; SEQ ID NO: 90; SEQ ID NO: 121; SEQ ID NO: 122 o SEQ ID NO: 123; y una de SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 95 o SEQ ID NO: 96.

4. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende al menos un dominio variable que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 52; SEQ ID NO: 53; SEQ ID NO: 54; SEQ ID NO: 64; SEQ ID NO: 68; SEQ ID NO: 69; SEQ ID NO: 78; SEQ ID NO: 82; SEQ ID NO: 83; SEQ ID NO: 91; SEQ ID NO: 95; y SEQ ID NO: 96.

5. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una secuencia de cadena pesada y una secuencia de cadena ligera seleccionadas del grupo que consiste en:

(a) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126;

(b) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125;

45 (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126;

(d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127;

50 (e) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128;

- (f) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125;
- (g) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127;
- 5 (h) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128;
- (i) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125;
- 10 (j) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126;
- (k) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127; y
- (l) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128.
- 15 6. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una secuencia de cadena pesada y una secuencia de cadena ligera seleccionadas del grupo que consiste en:
- (a) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132;
- 20 (b) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133;
- (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134;
- 25 (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132;
- (e) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133;
- (f) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134;
- 30 (g) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132;
- (h) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133; y
- 35 (i) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134.
7. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una secuencia de cadena pesada y una secuencia de cadena ligera seleccionadas del grupo que consiste en:
- 40 (a) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;
- (b) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145;
- (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146;
- 45 (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;
- (e) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145;

- (f) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146;
- (g) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;
- 5 (h) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145; y
- (i) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146.
- 10 8. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende una secuencia de cadena pesada y una secuencia de cadena ligera seleccionadas del grupo que consiste en:
- (a) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138;
- 15 (b) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139;
- (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140;
- (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138;
- 20 (e) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139;
- (f) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140;
- 25 (g) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138;
- (h) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139;
- (i) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140;
- 30 (j) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139;
- (k) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; y
- 35 (l) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155; y una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.
9. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno tiene una característica seleccionada del grupo que consiste en:
- a) se une al ligando que se une al dominio D1 de PRLR;
- b) inhibe la unión de prolactina a PRLR;
- 40 c) es capaz de modular una función biológica de PRLR;
- d) es capaz de neutralizar PRLR;
- e) tiene una constante de velocidad de asociación ( $K_{as}$ ) a PRLR seleccionada del grupo que consiste en: al menos aproximadamente  $10^2 M^{-1}s^{-1}$ ; al menos aproximadamente  $10^3 M^{-1}s^{-1}$ ; al menos aproximadamente  $10^4 M^{-1}s^{-1}$ ; al menos aproximadamente  $10^5 M^{-1}s^{-1}$ ; y al menos aproximadamente  $10^6 M^{-1}s^{-1}$ ; como se mide por resonancia de plasmones superficiales;
- 45

- f) tiene una constante de velocidad de disociación ( $K_{dis}$ ) a PRLR seleccionada del grupo que consiste en: como máximo aproximadamente  $10^{-3} s^{-1}$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-4} s^{-1}$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-5} s^{-1}$ ; y como máximo aproximadamente  $10^{-6} s^{-1}$ , como se mide por resonancia de plasmones superficiales; y
- g) tiene una constante de disociación ( $K_D$ ) a PRLR seleccionada del grupo que consiste en: como máximo aproximadamente  $10^{-7} M$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-8} M$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-9} M$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-10} M$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-11} M$ ; como máximo aproximadamente  $10^{-12} M$ ; y como máximo  $10^{-13} M$ .
10. Una construcción de anticuerpo que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, comprendiendo dicha construcción de anticuerpo además un polipéptido de conector o un dominio constante de inmunoglobulina.
11. La construcción de anticuerpo según la reivindicación 10, en la que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno está seleccionado del grupo que consiste en:
- una molécula de inmunoglobulina, un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo injertado en CDR, un anticuerpo humanizado, un Fab, un Fab', un F(ab')<sub>2</sub>, un Fv, un Fv unido por disulfuro, un scFv, un diacuerpo, un anticuerpo multiespecífico, un anticuerpo específico doble y un anticuerpo biespecífico.
12. La construcción de anticuerpo según la reivindicación 10 u 11, en la que dicho anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende un dominio constante de inmunoglobulina de la cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en:
- un dominio constante de IgM humana, un dominio constante de IgG1 humana, un dominio constante de IgG2 humana, un dominio constante de IgG3 humana, un dominio constante de IgG4 humana, un dominio constante de IgE humana y un dominio constante de IgA humana.
13. La construcción de anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, que comprende un dominio constante de inmunoglobulina que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 10-13.
14. Un conjugado de anticuerpo que comprende la construcción de anticuerpo de las reivindicaciones 10 a 13, comprendiendo dicho conjugado de anticuerpo además un agente seleccionado del grupo que consiste en: una molécula de inmunoadhesión, un agente de obtención de imágenes, un agente terapéutico y un agente citotóxico; opcionalmente en el que el agente es un agente de obtención de imágenes seleccionados del grupo que consiste en una radiomarca, una enzima, una marca fluorescente, una marca luminiscente, una marca bioluminiscente, una marca magnética y biotina.
15. El conjugado de anticuerpo según la reivindicación 14, en el que dicho agente es un agente terapéutico o citotóxico y está seleccionado del grupo que consiste en: un antimetabolito, un agente alquilante, un antibiótico, un factor de crecimiento, una citocina, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, una antraciclina, toxina y un agente apoptótico; opcionalmente en el que el agente antimitótico está seleccionado del grupo que consiste en una dolastatina, una auristatina, un maitansinoide, un alcaloide de planta, un taxano y un alcaloide de la vinca.
16. Un ácido nucleico aislado que codifica la secuencia de aminoácidos del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
17. Un ácido nucleico aislado que codifica una secuencia de aminoácidos de la construcción de anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 10-15.
18. Un vector que comprende un ácido nucleico aislado según la reivindicación 17.
19. El vector que comprende un ácido nucleico aislado según la reivindicación 18, en el que dicho vector está seleccionado del grupo que consiste en pADNc, pTT, pTT3, pEFBOS, pBV, pJV y pBJ.
20. Una célula hospedadora que comprende un vector según la reivindicación 18 o 19.
21. La célula hospedadora que comprende un vector según la reivindicación 20, en la que la célula hospedadora es una célula procariota o una célula eucariota.
22. La célula hospedadora según la reivindicación 21, en la que dicha célula hospedadora está seleccionada del grupo que consiste en una célula CHO, una célula COS, una célula de levadura y una célula Sf9 de insecto.
23. Un método de producción de una proteína capaz de unirse a PRLR, que comprende cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 20 o 21 en medio de cultivo en condiciones suficientes para producir una proteína de unión capaz de unirse a PRLR.

24. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
25. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 para su uso en un método de reducción de actividad de PRLR humano.
- 5 26. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 para su uso en reducir la actividad de PRLR humano en un sujeto humano que padece un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial, o tratar un sujeto que tiene un trastorno en el que la actividad de PRLR es perjudicial.
- 10 27. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno para su uso según la reivindicación 26, en el que el trastorno es cáncer, adicionalmente opcionalmente melanoma, cáncer endometrial, linfoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, carcinoma renal, cáncer gastrointestinal, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer pancreático y cáncer de próstata.
28. Un conjugado anticuerpo anti-PRLR-fármaco (ADC) que comprende el anticuerpo anti-PRLR, o fragmento de unión al antígeno del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 4-9 conjugado con al menos un fármaco.
- 15 29. El conjugado anticuerpo anti-PRLR-fármaco (ADC) de la reivindicación 28, en el que el anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, comprende al menos 3 CDR seleccionadas de un conjunto de CDR del dominio variable de la cadena pesada (CDR1, CDR2 y CDR3) que consiste en SEQ ID NO: 40, 41 y 42; SEQ ID NO: 46, 47 y 42; SEQ ID NO: 56, 57 y 58; SEQ ID NO: 62, 63 y 58; SEQ ID NO: 71, 72 y 73; SEQ ID NO: 71, 77 y 73; SEQ ID NO: 85, 86 y 87; SEQ ID NO: 149, 150 y 87.
- 20 30. El conjugado anticuerpo anti-PRLR-fármaco (ADC) de las reivindicaciones 28 o 29, en el que el anticuerpo, o porción de unión al antígeno al mismo, comprende al menos 3 CDR seleccionadas de un conjunto de CDR del dominio variable de la cadena ligera (CDR1, CDR2 y CDR3) que consiste en SEQ ID NO: 49, 50 y 51; SEQ ID NO: 65, 66 y 67; SEQ ID NO: 79, 80 y 81; y SEQ ID NO: 92, 93 y 94.
- 25 31. El ADC de una cualquiera de las reivindicaciones 28-30, en el que el fármaco está seleccionado del grupo que consiste en un inhibidor mitótico, un antibiótico antitumoral, un agente inmunomodulador, un vector para terapia génica, un agente alquilante, un agente antiangiogénico, un antimetabolito, un agente que contiene boro, un agente quimioprotector, una hormona, un agente antihormonal, un corticosteroide, un agente terapéutico fotoactivo, un oligonucleótido, un agente de radionúclido, un inhibidor de la topoisomerasa, un inhibidor de tirosina cinasas y un radiosensibilizador.
- 30 32. El ADC de una cualquiera de las reivindicaciones 28-31, en el que el fármaco está seleccionado del grupo que consiste en Ixempra, dolastatina 10, dolastatina 15, auristatina E, auristatina PE, monometil auristatina D (MMAD o derivado de auristatina D), monometil auristatina E (MMAE o derivado de auristatina E), monometil auristatina F (MMAF o derivado de auristatina F), fenilendiamina de auristatina F (AFP), auristatina EB (AEB), auristatina EFP (AEFP), éster de ácido 5-benzoilvalérico-AE (AEVB), metotrexato, daunorubicina, vincristina, maitansina, maitansinol, ésteres C-3 de maitansinol, ansamitocina P1, ansamitocina P2, ansamitocina P3, ansamitocina P4, docetaxel, paclitaxel, paclitaxel en nanopartículas, sulfato de vindesina, vincristina, vinblastina, vinorelbina, actinomicinas, pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepinas, dímero de pirrolobenzodiazepina (PBD), actinomicina D, antramycin, chicamicina A, DC-18, mazetramicina, neotramicina A, neotramicina B, porotramicina, protracarcina B, SG2285, sibanomicina, sibiromicina, tomamicina, antraciclinas, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina, caliqueamicinas,  $\gamma_1'$ ,  $\alpha_2'$ ,  $\alpha_3'$ , N-acetil- $\gamma_1'$ , PSAG,  $\theta_1'$ , duocarmicinas, adozelesina, bizelesina y carzelesina, bleomicina, mitomicina, plicamicina, bacillus calmette-guerin (BCG), levamisol, vacunas para el cáncer, vacuna para el virus del papiloma humano (VPH) bivalente recombinante tipos 16 y 18, vacuna para el virus del papiloma humano (VPH) cuadrivalente recombinante tipos 6, 11, 16 y 18, sipuleucel-T, citocinas, hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorelaxin; glucoproteína hormonas tales como hormona estimulante del folículo (FSH), hormona estimulante tiroidea (TSH), y hormona luteinizante (LH), factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos, prorelaxina, lactógeno placentario, factor de necrosis tumoral, sustancia inhibidora mulleriana, péptido asociado a gonadotropina de ratón, inhibina, activina, factor de crecimiento endotelial vascular, integrina, trombopoyetina (TPO), factores de crecimiento nervioso tales como NGF, factor de crecimiento de plaquetas, factores de crecimiento transformante (TGF), factor de crecimiento similar a la insulina-I y -II, eritropoyetina (EPO), factores osteoinductivos, interferones tales como interferón  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , factores estimulantes de colonias (CSFs), granulocito-macrófago-CSF (GM-CSF) y granulocito-CSF (G-CSF), interleucinas (IL) tales como IL-1, IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, factor de necrosis tumoral y otros factores de polipéptido que incluyen LIF y ligando kit (KL), factores estimulantes de colonias, eritropoyetina (epoetina), filgrastim, sargramostim, promegapoyetina, Oprelvekin, agentes terapéuticos de genes inmunomoduladores, ácido nucleico que codifica un gen terapéutico funcional que se usa para sustituir un gen mutado o disfuncional de otro modo (por ejemplo, truncado) asociado a cáncer, ácido nucleico que codifica o proporciona de otro modo la producción de una proteína terapéutica para tratar cáncer, sulfonatos de alquilo, busulfán, mostazas nitrogenadas, clorambucilo, ciclofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina y melfalán, nitrosoureas, carmustina, fotemustina, lomustina, nimustina, estreptozocina, triazinas e hidracinas, dacarbazina, procarbazona, temozolomida, etilenimimas, tiopeta, diazicuona, mitomicina C, derivados de metilamina, epóxidos,

altretamina, dianhidrogalactitol, dibromodulcitol, angiostatina, ABX EFG, C1-1033, PKI-166, vacuna de EGF, EKB-569, GW2016, ICR-62, EMD 55900, CP358, PD153035, AG1478, IMC-C225, OSI-774, Erlotinib, angiostatina, arrestina, endostatina, BAY 12-9566 y con fluorouracilo o doxorubicina, canstatina, carboxiamidotriazol y con paclitaxel, EMD121974, S-24, vitaxina, ácido dimetilxantenonaacético, IM862, interleucina-12, interleucina-2, NM-3, HuMV833, PTK787, RhuMab, angiozima, IMC-1C11, Neovastat, marimstat, prinomastat, BMS-275291, COL-3, MM1270, SU101, SU6668, SU11248, SU5416, con paclitaxel, con gemcitabina y cisplatino, y con irinotecán y cisplatino y con radiación, tecogalán, temozolomida y PEG interferón  $\alpha$ 2b, tetratiomolibdato, TNP-470, talidomida, CC-5013 y con taxotere, tumstatina, 2-metoxiestradiol, trampa de VEGF, inhibidores de mTOR (deforolimus, everolimus y temsirolimus), inhibidores de tirosina cinasas (por ejemplo, imatinib, gefitinib, dasatinib, sunitinib, nilotinib, lapatinib, sorafenib, fosfoinositida 3-cinasas (PI3K), antagonistas de ácido fólico, metotrexato, ácido 4-amino-fólico, lometrexol, pemetrexed, trimetrexato, un antagonista de pirimidina, azacitidina, capecitabina, citarabina, decitabina, 5-fluorouracilo, 5-fluoro-2'-desoxiuridina 5'-fosfato, 5-fluorouridina trifosfato, gemcitabina, foxuridina, un antagonista de purina azatioprina, cladribina, mercaptopurina, fludarabina, pentostatina, 6-tioguanina, inhibidores de adenosina desaminasa, cladribina, fludarabina, nelarabina, pentostatina, boroficina, bortezomib, agentes quimioprotectores, amifostina, dexrazoxano, mesna, andrógenos, estrógenos, acetato de medroxiprogesterona, progestinas, aminoglutetimida, anastrozol, bicalutamida, clorotrianiseno, acetato de ciproterona, degarelix, exemestano, flutamida, fulvestrant, goserelina, letrozol, leuprolida, lupron, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, tamoxifeno, triptorelina, asparaginasa, dacarbazina, hidroxiiurea, levamisol, mitotano, procarbazono, tretinoína, glucocorticoides, prednisona, cromágenos, colorantes, oligonucleótidos antisentido tanto que existen de forma natural como sintetizados usando nucleótidos estándar y/o no estándar (incluyendo interferencia por ARN (iARN)), ARN bicatenario (ARNbc), ARN interferente pequeño (ARNip), microARN (miARN), aptámeros, oligonucleótidos CpG, ribozimas, angiozima, <sup>111</sup>In, <sup>177</sup>Lu, <sup>212</sup>Bi, <sup>213</sup>Bi, <sup>211</sup>At, <sup>62</sup>Cu, <sup>64</sup>Cu, <sup>67</sup>Cu, <sup>90</sup>Y, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>P, <sup>47</sup>Sc, <sup>111</sup>Ag, <sup>67</sup>Ga, <sup>142</sup>Pr, <sup>153</sup>Sm, <sup>161</sup>Tb, <sup>166</sup>Dy, <sup>166</sup>Ho, <sup>186</sup>Re, <sup>188</sup>Re, <sup>189</sup>Re, <sup>212</sup>Pb, <sup>223</sup>Ra, <sup>225</sup>Ac, <sup>59</sup>Fe, <sup>75</sup>Se, <sup>77</sup>As, <sup>89</sup>Sr, <sup>99</sup>Mo, <sup>105</sup>Rh, <sup>109</sup>Pd, <sup>143</sup>Pr, <sup>149</sup>Pm, <sup>169</sup>Er, <sup>194</sup>Ir, <sup>198</sup>Au, <sup>199</sup>Au, <sup>211</sup>Pb, Co-58, Ga-67, Br-80m, Tc-99m, Rh-103m, Pt-109, In-111, Sb-119, I-125, Ho-161, Os-189m, Ir-192, Dy-152, At-211, Bi-212, Ra-223, Rn-219, Po-215, Bi-211, Ac-225, Fr-221, At-217, Bi-213, Fm-255, <sup>11</sup>C, <sup>13</sup>N, <sup>15</sup>O, <sup>75</sup>Br, <sup>198</sup>Au, <sup>224</sup>Ac, <sup>126</sup>I, <sup>133</sup>I, <sup>77</sup>Br, <sup>113m</sup>In, <sup>95</sup>Ru, <sup>97</sup>Ru, <sup>103</sup>Ru, <sup>105</sup>Ru, <sup>107</sup>Hg, <sup>203</sup>Hg, <sup>121m</sup>Te, <sup>122m</sup>Te, <sup>125m</sup>Te, <sup>165</sup>Tm, <sup>167</sup>Tm, <sup>168</sup>Tm, <sup>197</sup>Pt, <sup>109</sup>Pd, <sup>105</sup>Rh, <sup>142</sup>Pr, <sup>143</sup>Pr, <sup>161</sup>Tb, <sup>166</sup>Ho, <sup>199</sup>Au, <sup>57</sup>Co, <sup>58</sup>Co, <sup>51</sup>Cr, <sup>59</sup>Fe, <sup>75</sup>Se, <sup>201</sup>Tl, <sup>225</sup>Ac, <sup>76</sup>Br, <sup>169</sup>Yb, taxano, cisplatino, metronidazol, misonidazol, desmetilmisonidazol, pimonidazol, etanidazol, nimorazol, mitomicina C, RSU 1069, SR 4233, E09, RB 6145, nicotinamida, 5-bromodesoxiuridina (BUdR), 5-yododesoxiuridina (IUdR), bromodesoxicetidina, fluorodesoxiuridina (FUdR), hidroxiiurea, derivados de hematoporfirina, Photofrin(r), derivados de benzoporfirina, NPe6, etioporfirina de estaño (SnET2), feoborbida a, bacterioclorofila a, naftalocianinas, ftalocianinas, ftalocianina de cinc, camptotecinas, irinotecán, topotecán, amsacrina, daunorubicina, doxorubicina, epipodofilotoxinas, elipticinas, epirubicina, etopósido, razoxano, tenipósido, Axitinib, Bosutinib, Cediranib, Dasatinib, Erlotinib, Gefitinib, Imatinib, Lapatinib, Lestaurtinib, Nilotinib, Semaxanib, Sunitinib, Vandetanib, abrina, cadena A de abrina, toxina alfa, proteínas de *Aleurites fordii*, amatoxina, crotina, curcina, proteínas de diantina, toxina diftérica, cadena A de la difteria, fragmentos activos no de unión de toxina diftérica, desoxirribonucleasa (DNasa), gelonina, mitogelina, cadena A de modecina, inhibidor de *Momordica charantia*, neomicina, onconasa, fenomicina, proteínas de *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), proteína antiviral de hierba carmín, endotoxina de *Pseudomonas*, exotoxina de *Pseudomonas*, cadena A de exotoxina de *Pseudomonas aeruginosa*, restrictocina, ricina, cadena A de ricina, ribonucleasa (Rnasa), inhibidor de *Saponaria officinalis*, saporina, alfa-sarcina, enterotoxina-A estafilocócica, toxina tetánica, cisplatino, carboplatino y oxaliplatino (Eloxatin, Sanofi Aventis), inhibidores del proteasoma, PS-341, inhibidores de HDAC, vorinostat, belinostat, eutinostat, mocetinostat, panobinostat, inhibidores de COX-2, ureas sustituidas, inhibidores de proteínas de choque térmico, geldanamicina, supresores adrenocorticales, tricotecenos, A12, 19D12, Cp751-871, H7C10, alfar3, ScFV/FC, EM/164, Matuzumab, Erbitux, Vectibix, mAb 806, Nimotuxumab, AVEO, AMG102, 5D5 (OA-5d5), H244G11, Ab #14 (MM 121-14), Herceptin, 1B4C3; 2D1D12, NVP-AEW541-A, BMS-536,924 (1H-benzoimidazol-2-il)-1H-piridin-2-ona), BMS-554.417, Cycloligan, TAE226, PQ401, Iressa, CI-1033 (PD 183805), Lapatinib (GW-572016), Tykerb, Tarceva, PKI-166, PD-158780, EKB-569, Tyrphostin AG 1478 (4-(3-cloroanilino)-6,7-dimetoxiquinazolina), PHA665752, ARQ 197, capecitabina, 5-trifluorometil-2'-desoxiuridina, metotrexato sódico, Raltitrexed, Pemetrexed, Tegafur, citosina arabinósido (citarabina), 5-azacitidina, 6-mercaptopurina (Mercaptopurine, 6-MP), azatioprina, 6-tioguanina, pentostatina, fosfato de fludarabina, cladribina (2-CdA, 2-clorodesoxiadenosina), inhibidor de la reductasa de ribonucleótido, ciclofosfamida, Neosar, ifosfamida, Tiotepa, BCNU→ 1,3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, CCNU→ 1, -(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosourea (metil CCNU), hexametilmelamina, busulfán, HCl de procarbazona, dacarbazina (DTIC), clorambucilo, melfalán, carboplatino, oxaliplatino, HCl de doxorubicina, citrato de daunorubicina, HCl de mitoxantrona, actinomicina D, etopósido, HCl de topotecán, tenipósido, HCl de irinotecán (CPT-11), vincristina, sulfato de vinblastina, tartrato de vinorelbina, sulfato de vindesina, paclitaxel, docetaxel, abraxano, ixabepilona, mesilato de imatinib, malato de sunitinib, tosilato de sorafenib, clorhidrato de nilotinib monohidratado, L-asparaginasa, alfa interferón, Avastin, IL-2, aldesleucina, proleucina, IL-12, citrato de toremifeno, fulvestrant, HCl de raloxifeno, anastrozol, letrozol, fadrozol (CGS 16949A), exemestano, acetato de leuprolida, Lupron, acetato de goserelina, pamoato de triptorelina, buserelina, nafarelina, cetorelix, bicalutamida, nilutamida, acetato de megestrol, análogos de somatostatina, prednisolona, dexametasona, ketoconazol, sirolimus, temsirolimus (CCI-779), deforolimus (AP23573) y everolimus (RAD001).

33. Una composición farmacéutica que comprende el ADC de una cualquiera de las reivindicaciones 28-32.

34. El ADC de una cualquiera de las reivindicaciones 28-33 para su uso en el tratamiento de cáncer en un sujeto en necesidad del mismo, opcionalmente en el que el cáncer está seleccionado del grupo que consiste en melanoma, cáncer endometrial, linfoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, carcinoma renal, cáncer gastrointestinal, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer pancreático y cáncer de próstata.

5

Alineamiento de VH de PRLR

	FR1	FR2	FR3	FR4
	1	2	3	4
	2	3	4	5
	3	4	5	6
Ab5 VH	12345678901234567890	12345a	67890123456789	012a3456789012345
Ab13 VH	QVQLQQPGAELVRP	GVTSVKLSCKASGY	TFTSFWMH-	VVKQRPQGLEWIG
Ab7 VH	QVQLQQPGAELVRP	GVTSVKLSCKASGY	TFTSFWMH-	VVKQRPQGLEWIG
Ab6 VH	QVQLQQPGAELVMP	GVTSVKLSCKASGY	TFTSYWIH-	VVKQRPQGLEWIG
Ab8 VH	QVQLQQPGAELVMP	GVTSVKLSCKASGY	TFTTTYWMH-	VVKQRPQGLEWIG
Ab9 VH	EVQLQQSGPELVK	PGASVKISCKASGY	TFTDYNIH-	VVKQSHGKSLEWIG
Ab10 VH	EVQLQQSGPELVK	PGASVKISCKASGY	TFTDYNMH-	VVKQSHGKSLEWIG
Ab11 VH	EVQLHQSGLVQPG	GSVKISCKASGY	TFTDYNMH-	WMKQSHGKSLEWIG
Ab12 VH	EVKLVESGGGLVQ	PGGSLKLSCAASG	TFTSDYYMF-	WVRQTPEKSLEWVA
	DVQLQESGPGLVK	PSQSLSLTCTVTG	YSITSDYAWN	WIRQFPGNKLEWVG
				YIG--YSGRTSFNPSLKS
	FR3	FR4	FR3	FR4
	7	8	9	1
	8	9	0	1
Ab5 VH	67890123456789012abc345678901234	567890abcde12	34567890123	
Ab13 VH	KATLTPVDTSSSTAYMQLS	SLTSEDSAVYYCAR	GDYSNWF----	TYWGQGTTLVTVSA (IGHJ3*01)
Ab7 VH	KATLTPVNTSSSTAYMHL	SLSLTSSEDSAVYYCAR	GDYSNWF----	TYWGQGTTLVTVSA (IGHJ3*01)
Ab6 VH	KATLTPDRSSSTAYMQL	SLSLTSSEDSAVYYCGR	SFFTNWF----	AYWGQGTTLVTVSA (IGHJ3*01)
Ab8 VH	KATLTPVDKSSSTAYMQL	SLSLTSSEDSAVYYCAR	NGGLGPAWF----	SYWGQGTTLVTVSA (IGHJ3*01)
Ab9 VH	KATLTPVDNSSSTAYME	VRSLTSEDSAVYYCAR	GDGNYVGD	M--DYWGQGTSLVTVSS (IGHJ4*01)
Ab10 VH	KATMNVGISSSTAYME	LRSLTSEDSAVYYCAR	GDGNYVGD	M--DYWGQGTSLVTVSS (IGHJ4*01)
Ab11 VH	KATLTPVDISSSTAYME	LRRLTSEDSAVYYCAR	GGWGIYYAM	--DYWGQGTSLVTVSS (IGHJ4*01)
Ab12 VH	RFTISRDNAKNTLYLQ	MRLKSEDTAMY	YCSRQLFYIYGS	RGAMGYWGQGTSLVTVSS (IGHJ4*01)
	RISITRDTSKNQFFLQ	LNSVTTEDTAT	YYICARGGFAM	-----DYWGQGTSLVTVSS (IGHJ4*01)

Figura 1



Alineamiento de VL de PRLR

	FR1	CDR1	FR2	CDR2
	1	2	3	4
	123456789012345678901234	45678901234	567890123456789	0123456
Ab5 VL	DVVMTQTPLSLPSVSLGDAQASIS	RSSQRLVHSNGNTYLH	WYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS
Ab13 VL	DVVMTQTPFSLPSVSLGDAQASIS	RSSQSLVHSNGNTYLH	WYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS
Ab7 VL	DVVMTQTPLSLPSVSLGDAQASIS	RSSQSLVHSNGNTYLH	WYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS
Ab11 VL	DVLMTQTPLSLPSVSLGDAQASIS	RSSQSLVHSNGNTYLE	WYLQKPGQSPKLLIY	KVSNRFS
Ab8 VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASE-----NIYSYLA	WYQQKQKPPQPLLVI	NAKTLAE
Ab9 VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASE-----NIYSYLA	WYQQKQKSPQPLLVI	NAKTLAE
Ab10 VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITC	RASE-----NIYSYLT	WYQQKQKSPQPLLVI	NAKTLAE
Ab6 VL	DIVMTQSQKFMSTIVGDRVSIITC	KASQ-----YVGTAVA	WYQQKPGQSPKLLIY	SASNRYT
Ab12 VL	QIVLTQSPGIMSASPGEKVTITC	SASS-----SVTYMY	WYQQKPRSSPKPWIY	LTSNLAS

	FR3	CDR3	FR4
	6	7	8
	78901234567890123456789012345678	9012345a67	8901234567
Ab5 VL	GVPDRFSGSGSCTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	SQSTHVP-WT	FCGGTKLEIK (IGKJ1*01)
Ab13 VL	GVPDRFSGSGSCTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	SQSTHVP-WT	FCGGTKLEIK (IGKJ1*01)
Ab7 VL	GVPDRFSGSGSCTDFTLKINRVEAEDLGVYFC	SQSTHVP-FT	FCGGTKLEIK (IGKJ4*01)
Ab11 VL	GVPDRFSGSGSCTDFTLKISRVEAEDLGVYFC	FQGSHPV-FT	FCGGTKLEIK (IGKJ4*01)
Ab8 VL	GVPDRFSGSGSCTQFSLKINSLQPEDFGSYIC	QHHYATP-FT	FCGGTKLEIK (IGKJ4*01)
Ab9 VL	GVPDRFSGSGSCTQFSLKINSLQPEDFGSYIC	QHHSGTP-FT	FCGGTKLEIK (IGKJ4*01)
Ab10 VL	GVPDRFSGSGSCTQFSLKINSLQPEDFGSYIC	QHHSVTP-LT	FCGGTKLEIK (IGKJ5*01)
Ab6 VL	GVPDRFTDSGSGSCTDFTLTISNLQSEDLADYFC	QQYSSYP-WT	FCGGTKLEIK (IGKJ1*01)
Ab12 VL	GVPDRFSGSGSCTSYSLTISSMEAEDGATYYC	QQWSSTPPLT	FCGGTKLELN (IGKJ1/5*01)

Figura 2





Ensayo de inhibición del crecimiento de tumor de xenoinjerto

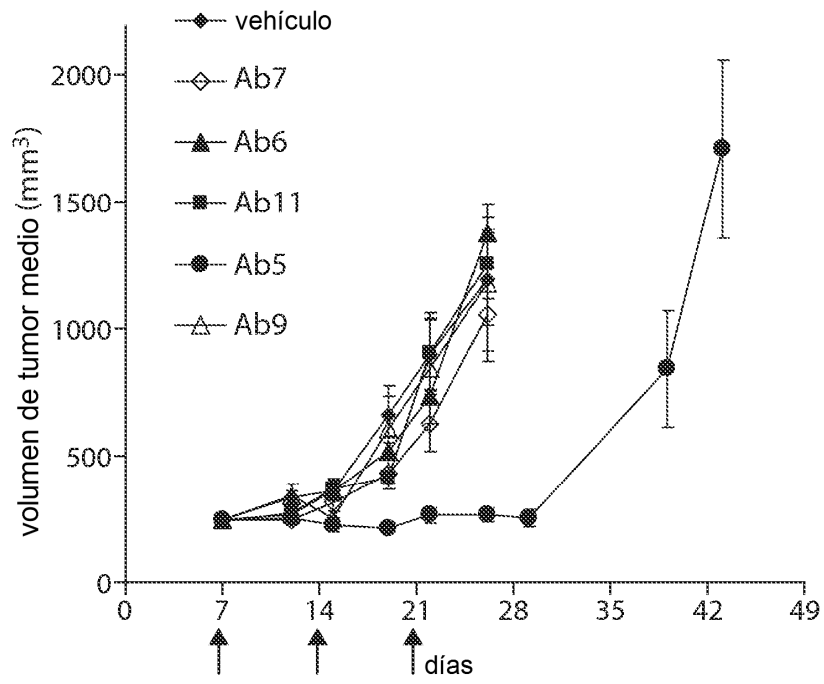


Figura 5

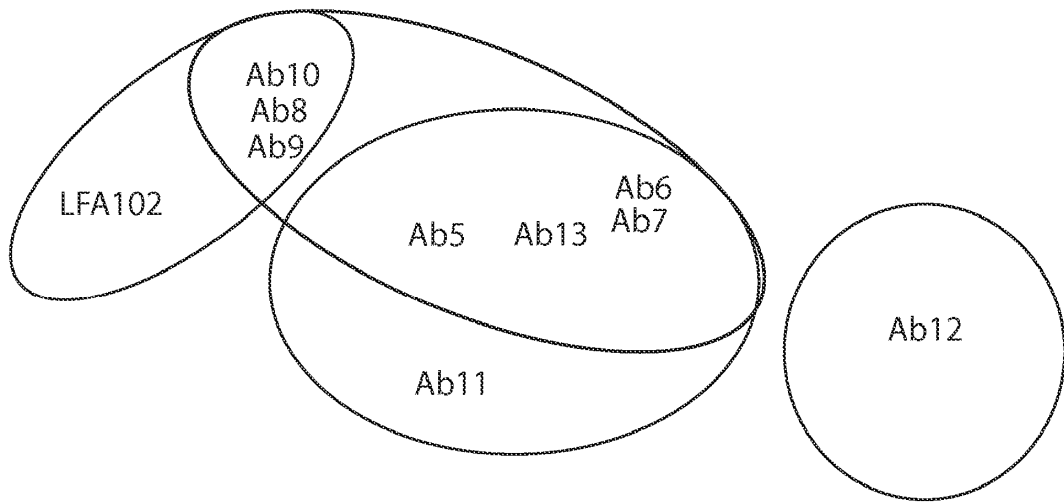


Figura 6

resultados del ensayo de unión simultánea

		N.º de mAb en disolución											
		01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
chAb7	01 - chAb7	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	39
Ab39	02 - Ab39	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	36
Ab40	03 - Ab40	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-3	40
chAb5	04 - chAb5	-1	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0	32
Ab30	05 - Ab30	-1	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	35
chAb6	06 - chAb6	-1	0	-1	-1	-1	-1	0	-1	-1	-2	-2	26
Ab19	07 - Ab19	-1	-1	-1	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	19
Ab21	08 - Ab21	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	21
chAb8	09 - chAb8	2	1	0	7	6	0	0	0	-1	-1	-1	1
Ab48	10 - Ab48	1	2	0	8	6	0	0	1	-1	-1	0	-1
Ab49	11 - Ab49	2	2	0	7	6	0	1	0	-1	-2	-1	1
LFA102	12 - LFA102	48	92	35	102	103	90	122	104	-2	-2	-2	-2

Los valores mostrados son magnitudes de la unión de mAb en disolución expresadas como el porcentaje de las magnitudes de unión de PRLR respectivas.




-  unión simultánea (diferentes epítopes)
-  unión no simultánea (epítopes que se solapan)
-  unión simultánea no recíproca pequeña

Figura 7

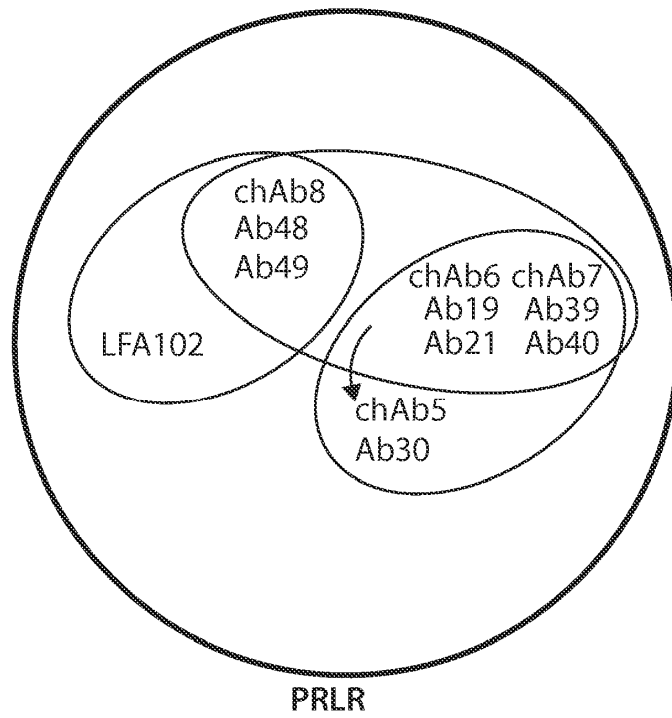


Figura 8

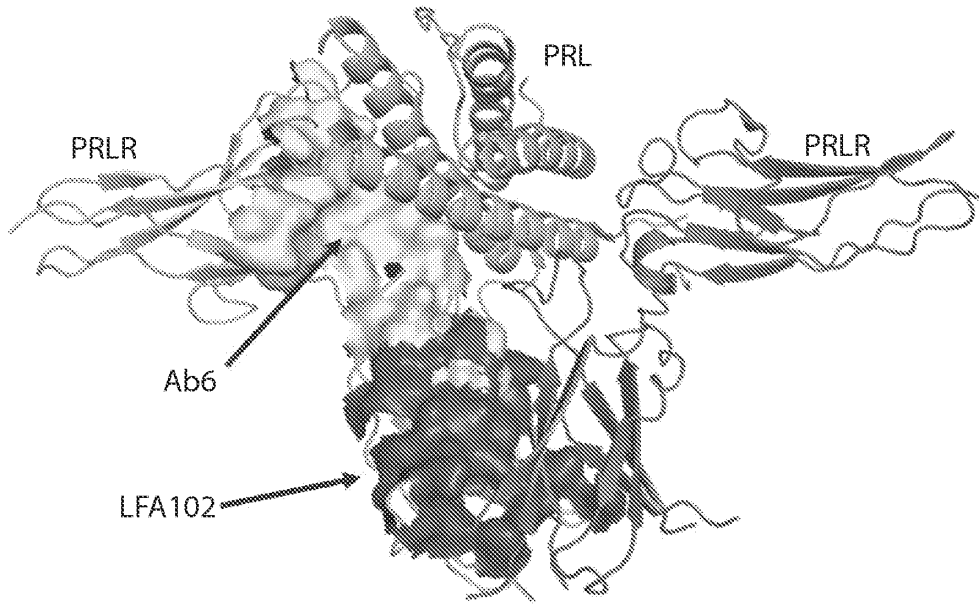


Figura 9



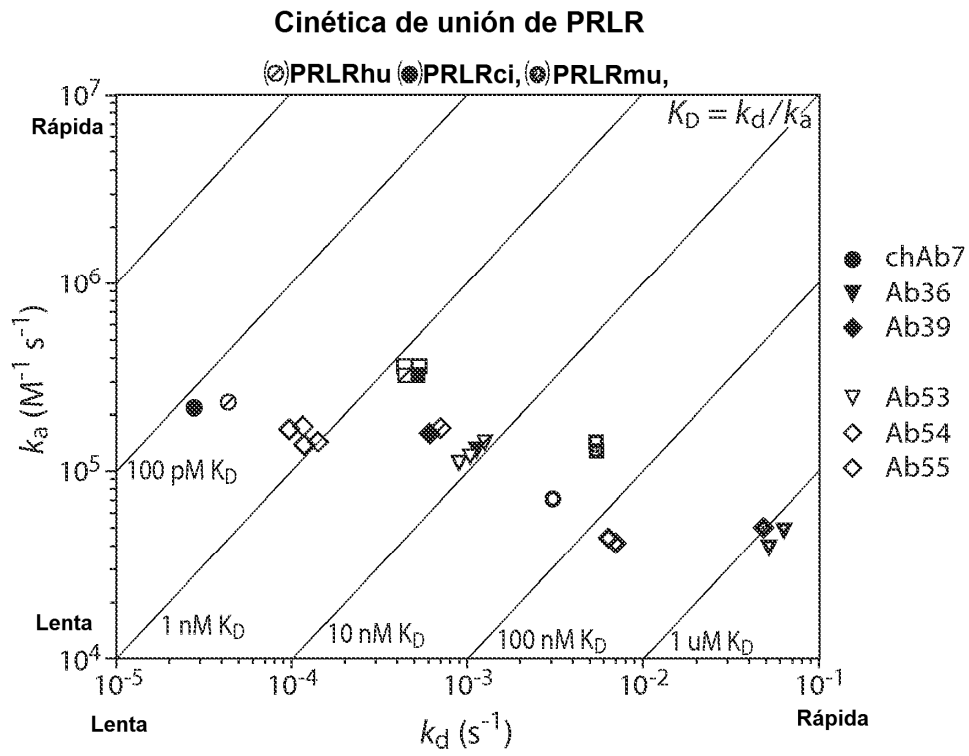


Figura 10

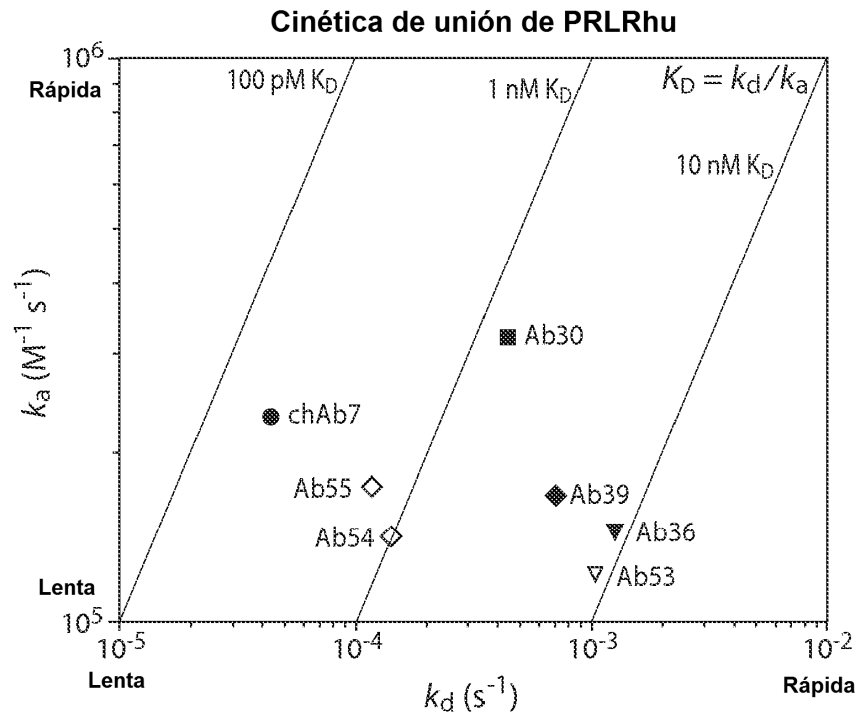


Figura 11