

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 692 657**

(51) Int. Cl.:

**C07K 16/28** (2006.01)  
**C07K 16/24** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.05.2014 PCT/US2014/040360**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **04.12.2014 WO14194274**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2014 E 14734671 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.07.2018 EP 3004167**

---

(54) Título: **Proteínas de enlace al antígeno del receptor de oncostatina**

(30) Prioridad:

**30.05.2013 US 201361829082 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**04.12.2018**

(73) Titular/es:

**KINIKSA PHARMACEUTICALS, LTD. (100.0%)**  
Clarendon House, 2 Church Street  
Hamilton HM 11, BM

(72) Inventor/es:

**ARNETT, HEATHER A.;**  
**ESCOBAR, SABINE S.;**  
**KING, CHADWICK T.;**  
**LIM, AI CHING;**  
**NARAYANAN, SARAVANAKUMAR;**  
**WEINREB, PAUL H. y**  
**PEDERSON, NELS E.**

(74) Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**ES 2 692 657 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 enlace al antígeno del receptor de oncostatina

## 5 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0001] La oncostatina M (OSM) y la interleucina-31 (IL-31) son miembros de la superfamilia IL-6 y comparten una subunidad de receptor, oncostatina M receptor-β (OSMR) (Dillon et al., *Nat. Immunol.* 5 (7): 752-60, 2004). Todos los miembros de esta familia, excepto IL-31, comparten la cadena común de la glucoproteína 130 (gp130) en sus complejos de receptores multiméricos. Las señales de OSM a través de un complejo de receptor heterodimérico que contiene OSMR y gp130, mientras que IL-31 utiliza un receptor similar a gp130, IL-31R, en combinación con OSMR (Dillon et al., *Supra*; Dreuw et al., *J. Biol. Chem.* 279 (34): 36112-20, 2004). En general, OSMR y gp130 se expresan de manera bastante ubicua a través de tejidos y tipos de células, y pueden inducirse bajo una variedad de condiciones de estimulación. La expresión de IL-31R parece ser relativamente más restringida y estrictamente regulada. En humanos y ratones por igual, la expresión del ARNm de IL-31R es detectable en niveles bajos en tejidos como la tráquea, el músculo esquelético, el timo y la médula ósea (Dillon et al., *Supra*). Aunque el nivel de expresión es totalmente diferente, tanto la IL-31R como la OSMR se expresan conjuntamente en una multitud de tejidos, incluidas las células epiteliales intestinales y de la piel, lo que sugiere que esos tejidos deben responder a la IL-31 (Dillon et al., *Supra*; Dambacher et al., *Gut* 56 (9): 1257-65, 2007). Mientras que la OSMR se expresa constitutivamente en el pulmón en las células epiteliales, la expresión de IL-31R es insignificante a niveles bajos en el tejido pulmonar, pero está regulada al alza en varios métodos de estimulación de las vías respiratorias (Dillon et al., *Supra*; Jawa et al., *J. Interferon Cytokine Res.* 28 (4): 207-19, 2008).

[0002] Secretados principalmente por linfocitos T, macrófagos y neutrófilos, OSM e IL-31 están ambos regulados al alza en una variedad de estados de enfermedad que involucran inflamación. La OSM se ha implicado en diversas funciones biológicas, incluida la formación de huesos, la degradación del cartílago, la captación de colesterol, el dolor y la inflamación (Cawston y otros, *Arthritis Rheum.* 41 (10): 1760-71, 1998; Hasegawa y otros, *Rheumatology (Oxford)* 38 (7): 612-7, 1999; Levy et al., *J. Hepatol.* 32 (2): 218-26, 2000; Manicourt et al., *Arthritis. Rheum.* 43 (2): 281-8, 2000; de Hooge y otros, *Am J. Pathol.* 160 (5): 1733-43, 2002; Luzina y otros, *Arthritis Rheum* 48 (8): 2262-74, 2003; Morikawa y otros, *J. Neurosci.* 24 (8): 1941-7, 2004; Kong et al., *J. Lipid Res.* 46 (6): 1163-71, 2005). Se ha demostrado que la OSM es un potente modulador de la matriz extracelular (ECM) en una variedad de contextos, lo que sugiere que la OSM puede mediar consecuencias patológicas aparentemente opuestas, incluida la fibrosis (un exceso de ECM) y la degradación del cartílago (una degradación de la ECM). Según el tipo de tejido y el medio ambiente, estos dos efectos se observaron cuando la OSM se sobreexpresó o se administró exógenamente en pulmones o articulaciones de ratones, respectivamente (Richards et al., *Biochem. Soc. Trans.* 30 (2): 107-11, 2002; Hui et al., *Arthritis Rheum.* 48 (12): 3404-18, 2003; Rowan et al., *Am. J. Pathol.* 162 (6): 1975-84, 2003). Además, anteriormente se ha demostrado que la OSM está regulada al alza en las patologías humanas donde existen este tipo de consecuencias (Cawston y otros, *supra*; Hasegawa y otros, *supra*; Levy y otros, *supra*; Manicourt y otros, *supra*; Luzina et al., *Supra*). Predominantemente, una citoquina de acción local, OSM se regula al alza en el líquido sinovial de las articulaciones de pacientes con artritis reumatoide (AR) (Cawston et al., *Supra*; Manicourt et al., *Supra*), en el lavado broncoalevolar (BAL) de pacientes con esclerodermia asociada a enfermedad pulmonar intersticial (Luzina et al., *supra*), fibrosis pulmonar idiopática (FPI) y en los hígados de pacientes con cirrosis (Levy et al., *supra*). El impacto propuesto en la ECM por la OSM se puede atribuir en parte a la capacidad de la OSM para cambiar el equilibrio entre las metaloproteínasas de matriz (MMP) y los inhibidores tisulares de las MMP (TIMP). Los TIMP se unen a las MMP en una proporción de 1:1 con una afinidad alta que resulta en una pérdida de la actividad proteolítica de la MMP. TIMP-1 y TIMP-3 han demostrado previamente estar regulados diferencialmente por OSM, lo que resulta en un aumento en TIMP-1 y una disminución en TIMP-3 (Gatsios et al., *Eur. J. Biochem.* 241 (1): 56-63, 1996). Además de regular la digestión de los componentes de la matriz extracelular, las MMP también están implicadas en la escisión y posterior activación de varias proteínas, incluido el TGF-β, una potente citoquina pro-fibrótica (Leask et al., *FASEB J.* 18, 7): 816-27, 2004). También se ha informado que OSM es capaz de inducir directamente la transcripción de colágeno tipo I *in vitro* (Hasegawa et al., *J. Rheumatol.* 25 (2): 308-13, 1998).

[0003] La expresión de tanto OSM como IL-31 se ha encontrado en la piel de pacientes con psoriasis y dermatitis atópica, y las mutaciones en OSMR y IL-31R se han relacionado con amiloidosis cutánea sistémica. La sobreexpresión transgénica de IL-31 en todo el sistema indujo una respuesta inflamatoria prurítica en la piel de ratones. Tanto OSM como IL-31 señalan a través de OSMR en las neuronas, donde se les ha sugerido que promuevan respuestas nociceptivas y pruríticas.

[0004] En conjunto, estos enlaces a enfermedades humanas y la capacidad de OSM e IL-31 para promover una amplia gama de patologías, que incluyen al menos inflamación, remodelación de la matriz extracelular, dolor y prurito, sugieren que el bloqueo de OSMR es un objetivo útil para intervención terapéutica en muchas enfermedades y trastornos asociados a la OSMR. El documento US2006171951 describe anticuerpos contra el receptor de oncostatina M.

Diveu et al. 2004, *Eur. Cytokine Netw.*, 15 (4): 291-302 describe que la expresión predominante de la isoforma larga del receptor tipo GP130 (GPL) es necesaria para la señalización de interleucina-31.

Jalal et al. 2010, *J Interferon Cytokine Res.*, 30 (12): 865-73 describe el papel de la gp130 en la patogénesis de

enfermedades inflamatorias y otras en las que está implicado el receptor gp130.

Repovic et al. 2003, Oncogene., 22 (50): 8117-24 describe la inducción de oncostatina-M de la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular en células de astroglioma.

Rudikoff et al. 1982, Proc Natl Acad Sci EE.UU., 79(6): 1979-83 describe que las sustituciones de aminoácidos individuales pueden alterar la especificidad de unión a antígeno.

Panka et al., PNAS. 1988, 85 (9): 3080-3084 describe que las diferencias en el marco de la región variable pueden dar como resultado una afinidad disminuida o incrementada de los anticuerpos anti-digoxina variantes.

## SUMARIO DE LA INVENCIÓN

**[0005]** La presente invención proporciona una proteína de unión a antígeno de receptor de oncostatina M (OSMR), en donde la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo, en el que el anticuerpo comprende:

un dominio variable de cadena ligera que comprende una región 1 determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR1) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:31; una región 2 determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR2) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:34; y una región 3 determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR3) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:37; y

un dominio variable de cadena pesada que comprende una región 1 determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR1) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:13; una región 2 determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR2) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:16; y una región 3 determinante de la complementariedad de la cadena pesada (HCDR3) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:19, en donde el anticuerpo inhibe la unión de la oncostatina M humana (OSM) y la interleuquina 31 humana a la OSMR humana, y en donde el anticuerpo reduce la señalización de OSMR mediada por OSM e interleuquina humana 31 en células humanas que expresan OSMR.

**[0006]** La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de la invención.

**[0007]** La presente invención también proporciona un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo de la invención.

**[0008]** La invención también proporciona un vector de expresión que comprende el ácido nucleico aislado de la invención.

**[0009]** La invención también proporciona una célula huésped recombinante que comprende el ácido nucleico aislado de la invención.

**[0010]** La presente invención también proporciona un método para hacer un anticuerpo que se une al receptor de oncostatina M (OSMR), comprendiendo el método:

a) cultivar la célula huésped recombinante de la invención; y

b) aislar el anticuerpo de dicho cultivo.

**[0011]** La presente divulgación proporciona proteínas de unión al antígeno anti-OSMR, por ejemplo, anticuerpos y fragmentos funcionales de los mismos, que tienen propiedades susceptibles a la producción comercial y el uso terapéutico en seres humanos. Las proteínas de unión al antígeno anti-OSMR son útiles en los métodos de tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con OSMR y, en particular, los asociados con la unión de OSM o IL-31 a OSMR. En este documento se proporcionan los anticuerpos de unión a OSMR que se unen a OSMR con alta afinidad y bloquean de manera efectiva la unión de OSM y/o IL-31 a OSMR, reduciendo así la señalización mediada por OSMR en la célula.

**[0012]** La presente descripción también proporciona una proteína de unión a antígeno OSMR que comprende a) un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos 90% de identidad, al menos 95% de identidad, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, o SEQ ID NO:29; b) un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos 90% de identidad, al menos 95% de identidad, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, o SEQ ID NO:11; o c) el dominio variable de la cadena ligera de a) y el dominio variable de la cadena pesada de b).

**[0013]** Las proteínas de unión a antígeno preferidas de la divulgación incluyen las que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos 90%, al menos 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:27 y un dominio de variable de cadena pesada que tiene al menos el 90%, al menos el 95%, o es idéntica a las secuencias de aminoácidos expuestas en la SEQ ID NO:9; aquellas que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos un 90%, al menos un 95%, o es idéntica a la secuencia de

aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:28 y un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos un 90%, al menos un 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:10; y aquellas que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos 90%, al menos 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:29 y un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos 90%, al menos 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:11. Las proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden un dominio variable de cadena pesada que tiene una relación de secuencia definida anteriormente con la SEQ ID NO:9 pueden contener opcionalmente un aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en la SEQ ID NO:9. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:53.

Las proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden un dominio variable de cadena pesada que tiene una relación de secuencia definida anteriormente con la SEQ ID NO:10 pueden contener opcionalmente un aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en la SEQ ID NO:10. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:54.

**[0014]** La presente descripción también proporciona una proteína de unión a antígeno OSMR que comprende a) un dominio variable de cadena ligera que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, o SEQ ID NO:29; b) un dominio variable de cadena pesada que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, o SEQ ID NO:11; o c) el dominio variable de la cadena ligera de a) y el dominio variable de la cadena pesada de b).

**[0015]** Las proteínas de unión a antígeno preferidas de la divulgación incluyen las que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:27 y un dominio variable de cadena pesada que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:9; aquellas que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:28 y un dominio variable de cadena pesada que no tiene más de diez o ningún más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:10; y aquellos que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:29 y un dominio variable de cadena pesada que no tiene más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:11.

Las proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden un dominio variable de cadena pesada que tiene una relación de secuencia definida anteriormente con la SEQ ID NO:9 pueden contener opcionalmente un aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en la SEQ ID NO:9. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:53.

Las proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden un dominio variable de cadena pesada que tiene una relación de secuencia definida anteriormente con la SEQ ID NO:10 pueden contener opcionalmente un aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en la SEQ ID NO:10. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:54.

**[0016]** La presente descripción también proporciona una proteína de unión a antígeno OSMR que contiene un dominio variable de cadena ligera que comprende a) un LCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:30; un LCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de LCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:33; y un LCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:36; b) un LCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:31; un LCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:34; y un LCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de LCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:37; o c) un LCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:32; un LCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:35; y un LCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:38; y un dominio variable de cadena pesada que comprende d) un HCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:12; un HCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:15; y un HCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:18; e) un HCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia

HCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:13; un HCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:16; y un HCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:19; o f) un HCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia

5 HCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:14; un HCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:17; y un HCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:20.

10 [0017] Proteínas de unión a antígeno de OSMR preferidas de la descripción anteriormente mencionada incluyen las que comprenden la cadena ligera del dominio variable de a) y la cadena pesada del dominio variable de d); aquellas que comprenden el dominio variable de cadena ligera de b) y el dominio variable de cadena pesada de e); y aquellas que comprenden el dominio variable de la cadena ligera de c) y el dominio variable de la cadena pesada de f).

15 Las proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden el dominio variable de la cadena ligera de a) y el dominio variable de la cadena pesada de d) pueden opcionalmente contener un dominio variable de la cadena pesada que comprende un aminoácido distinto de la asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a posición 73 en SEQ ID NO:9. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:53.

20 Proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden el dominio variable de la cadena ligera de b) y el dominio variable de la cadena pesada de e) puede contener opcionalmente un dominio variable de cadena pesada que comprende un aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en la SEQ ID NO:10. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:54.

25 [0018] La proteína de unión a antígeno OSMR de la presente descripción se une a OSMR humana con una afinidad de menor o igual que  $1 \times 10^{-10}$  M.

[0019] La proteína de unión a antígeno OSMR de la presente invención inhibe la unión de la OSM humana a OSMR humana e/o IL-31 humana a OSMR humana.

30 [0020] La proteína de unión a antígeno OSMR de la presente invención reduce señalización OSMR humana mediada por OSM y/o mediada por IL-31 humana en las células que expresan OSMR humana.

35 [0021] La proteína de unión a antígeno OSMR de la presente descripción reduce señalización OSMR mediada por mono cynomolgus OSM y/o mediada por IL-31 en células que expresan mono cynomolgus OSMR.

40 [0022] La proteína de unión a antígeno OSMR de la presente invención de unión es un anticuerpo, tal como un anticuerpo humano. Los anticuerpos preferidos de la divulgación incluyen aquellos anticuerpos que comprenden una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:24 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:6; aquellos que comprenden una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID: 25 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:7; y aquellos que comprenden una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID: 26 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:8.

45 Los anticuerpos adicionales incluyen aquellos anticuerpos que comprenden una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:24 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:50; aquellos que comprenden una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID: 25 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:51; y aquellos que comprenden una cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID: 26 y una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:52.

50 [0023] La presente descripción proporciona ácidos nucleicos o ácidos nucleicos aislados que codifican uno o más componentes de polipéptido de una proteína de unión a antígeno OSMR, por ejemplo, una cadena ligera de anticuerpo o una cadena pesada de anticuerpo. En realizaciones preferidas, el ácido nucleico codifica un polipéptido que comprende:

55 a) un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos un 95% de identidad con la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:27, la SEQ ID NO:28 o la SEQ ID NO:29;

60 b) un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos un 95% de identidad con la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:9, la SEQ ID NO:10, o la SEQ ID NO:11;

c) un dominio variable de cadena ligera que tiene no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:27, la SEQ ID NO:28 o la SEQ ID NO:29;

65 d) un dominio variable de cadena pesada que no tiene más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de

aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, o SEQ ID NO:11;

e) un dominio variable de cadena ligera que comprende:

5 i) un LCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:30; un LCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de LCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:33; y un LCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:36;

10 ii) un LCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:31; un LCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:34; y un LCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:37; o

15 iii) un LCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:32; un LCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:35; y un LCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:38; o

f) un dominio variable de cadena pesada que comprende:

20 i) un HCDR1 que no tenga más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:12; un HCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:15; y un HCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:18;

25 ii) un HCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:13; un HCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:16; y un HCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:19; o

30 iii) un HCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:14; un HCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:17; y un HCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:20.

40 En ciertas realizaciones, el ácido nucleico o ácido nucleico aislado codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:53 o la SEQ ID NO:54.

45 En ciertas realizaciones, el ácido nucleico o ácido nucleico aislado codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:50, la SEQ ID NO:51, o la SEQ ID NO:52.

50 [0024] En ciertas realizaciones de la descripción, el ácido nucleico o el ácido nucleico aislado que codifica una cadena ligera de anticuerpo y es al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, o es 100% idéntica a la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:22 o SEQ ID NO:23. En otras realizaciones del noveno aspecto, el ácido nucleico o el ácido nucleico aislado codifica una cadena pesada de anticuerpo y es al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 95%, o es 100% idéntica a la secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4, o SEQ ID NO:5.

55 En ciertas realizaciones, la cadena pesada está codificada por un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO:47, la SEQ ID NO:48 o la SEQ ID NO:49.

60 [0025] La presente invención proporciona un vector de expresión que comprende uno o más ácidos nucleicos o ácidos nucleicos aislados de la invención. En ciertas realizaciones, el vector de expresión codifica una cadena ligera de anticuerpo, una cadena pesada de anticuerpo, o tanto una cadena ligera de anticuerpo como una cadena pesada.

65 [0026] La presente invención también proporciona una célula huésped recombinante que comprende uno o más ácidos nucleicos o ácidos nucleicos aislados de la invención unidos operativamente a un promotor, incluyendo las células huésped recombinantes que comprenden uno o más vectores de expresión de la invención. En realizaciones preferidas, la célula huésped recombinante secreta un anticuerpo que se une a OSMR. Las células huésped preferidas son células huésped de mamífero, que incluyen líneas celulares CHO.

[0027] La presente descripción proporciona métodos de tratamiento de un trastorno autoinmune, un trastorno inflamatorio, o un trastorno asociado con la deposición de matriz extracelular o remodelación, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína unida a antígeno OSMR de una descripción cualquiera de un paciente que lo necesite. En realizaciones preferidas, la proteína de unión a antígeno

5 OSMR es un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera como se indica en la SEQ ID NO:27 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada como se establece en la SEQ ID NO:9 (por ejemplo, Ab1), un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena ligera como se establece en la SEQ ID NO:28 y una secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada como se establece en la SEQ ID NO:10 (por ejemplo, Ab2), o anticuerpo que 10 comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO:29 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO:11 (por ejemplo, Ab3). En algunas realizaciones, la proteína de unión al antígeno OSMR es un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena ligera como se establece en la SEQ ID NO:27 y una secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada como se establece en la SEQ ID NO:53, o un anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera como 15 se expone en la SEQ ID NO:28 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO:54. En realizaciones preferidas, la proteína de unión a antígeno OSMR inhibe la unión de OSM a OSMR o IL-31 a OSMR. En realizaciones particularmente preferidas, el trastorno autoinmune, el trastorno inflamatorio o el trastorno asociado con el depósito o remodelación de la matriz extracelular es fibrosis, degradación 20 del cartílago, artritis, artritis reumatoide, esclerodermia, enfermedad pulmonar intersticial asociada a la esclerodermia, fibrosis pulmonar idiopática, cirrosis, psoriasis, dermatitis atópica, amiloidosis cutánea sistémica, amiloidosis cutánea primaria, inflamación del prurito, prurigo nodular y dolor.

25 [0028] La presente invención proporciona un método de fabricación de una proteína unida a antígeno OSMR de la invención de unión mediante el cultivo de una célula huésped recombinante de la invención y aislar la proteína de unión a antígeno OSMR a partir de dicho cultivo.

30 [0029] La presente descripción también proporciona proteínas de unión a antígeno OSMR de la divulgación que compiten cruzadamente con un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en:

- 30 a) un anticuerpo que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID: 24 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:6;
- 35 b) un anticuerpo que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID: 25 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:7; y
- c) un anticuerpo que comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID: 26 y una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:8.

#### 40 DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0030] Los encabezados de sección usados en este documento son sólo para fines de organización y no deben interpretarse como limitantes del objeto descrito.

45 [0031] Las técnicas estándar se pueden utilizar para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos, cultivo de tejidos y la transformación, purificación de proteínas, etc. Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación se pueden realizar según las especificaciones del fabricante o comúnmente lograrse en la técnica o como se describe aquí. Los siguientes procedimientos y técnicas pueden realizarse generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en varias referencias generales y más específicas 50 que se citan y discuten a lo largo de la memoria descriptiva. Véase, por ejemplo, Sambrook et al., 2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3<sup>a</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura utilizada y los procedimientos de laboratorio, y las técnicas de química analítica, química orgánica y química médica y farmacéutica descritas en este documento son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica. Se pueden usar técnicas estándar para la síntesis 55 química, análisis químico, preparación farmacéutica, formulación y administración y tratamiento de pacientes.

#### OSMR

60 [0032] Las proteínas de unión a antígeno descritas en el presente documento se unen a OSMR. La señal OSM e IL-31 a través de OSMR. OSMR es un miembro de la familia de receptores de citoquinas tipo I. El OSMR heterodimeriza con la glucoproteína 130 (también conocida como gp130, transductor de señal de interleucina 6 (IL6ST), IL6-beta o CD130) para formar el OSMR tipo II. OSMR también se heterodimeriza con el receptor A de IL-31 (IL31RA) para formar el receptor de IL-31 y, por lo tanto, transduce los eventos de señalización inducidos por OSM e IL-31. En realizaciones ejemplares, una proteína de unión a antígeno OSMR se une a OSMR y evita la señalización mediada por OSM e/o IL-31 en células que expresan OSMR.

**[0033]** Las secuencias de OSMR humana son conocidas en la técnica. En diversos aspectos, las secuencias de la proteína OSMR humana se proporcionan en los números de acceso de GenBank AAI25210, AAI25211, NP\_003990 y EAW55976. En la Tabla 1 se proporciona una secuencia de aminoácidos de OSMR humana ejemplar (SEQ ID NO:1). La proteína está formada por varios dominios: Los aminoácidos 1-27 corresponden a la secuencia señal que

5 puede escindirse durante el procesamiento de la proteína en células de mamíferos; los aminoácidos 28-740 corresponden al dominio extracelular; y los aminoácidos 741-761 corresponden al dominio transmembrana. En realizaciones preferidas, las proteínas de unión a antígeno descritas en este documento se unen al dominio extracelular de OSMR y evitan la interacción de OSM e/o IL-31 con OSMR.

10 **[0034]** Las secuencias de OSM humana se conocen en la técnica. En varios aspectos, las secuencias de la proteína OSM humana se proporcionan en los números de acceso de GenBank CAG30420, CAG46504, NP\_065391, P13725, AAC05173, EAW59864 y AAH11589. En la Tabla 1 se proporciona una secuencia de aminoácidos de OSM humana ejemplar (SEQ ID NO:39). Los aminoácidos 1-25 corresponden a la secuencia señal; los aminoácidos 26-220 corresponden a la proteína madura; y los aminoácidos 221-252 corresponden a la secuencia del propéptido.

15 **[0035]** Las secuencias de IL-31 son conocidas en la técnica. En varios aspectos, las secuencias de la proteína IL-31 humana se proporcionan en los números de acceso de GenBank NP\_001014358, AAS86448, AAI32999, AAI33001, Q6EBC2 y EAW98310. Una secuencia de aminoácidos de IL-31 humana ejemplar (SEQ ID NO:41) se proporciona en la Tabla 1. Los aminoácidos 1-23 corresponden a la secuencia de señal putativa.

20 **[0036]** Las secuencias de IL31RA humana son conocidas en la técnica. En varios aspectos, las secuencias de la proteína IL31RA humana se proporcionan en los números de acceso de GenBank AAS86447, NP\_001229567 y CBL94051. En la Tabla 1 se proporciona una secuencia de aminoácidos de IL31RA (v4, isoforma 3) ejemplar (SEQ ID NO:43). Los aminoácidos 1-32 corresponden a la secuencia señal; y los aminoácidos 533-553 corresponden a la secuencia transmembrana.

25 **[0037]** Las secuencias gp130 humanas son conocidas en la técnica. En varios aspectos, las secuencias de la proteína gp130 humana se proporcionan en los números de acceso de GenBank AAI17403, AAI17405, EAW54936, NP\_002175, ABK41905 y AAA59155. Una secuencia de aminoácidos de gp130 humana ejemplar (SEQ ID NO:45) se proporciona en la Tabla 1. La proteína está formada por varios dominios: los aminoácidos 1-22 corresponden a la secuencia señal; los aminoácidos 23-619 corresponden al dominio extracelular; los aminoácidos 620-641 corresponden al dominio transmembrana; y los aminoácidos 642-918 corresponden al dominio citoplásmico.

**Tabla 1**

30 **Secuencia de aminoácidos de OSMR humana (SEQ ID NO: 1)**  
 MALFAVFQTTFFLTLLSLRTYQSEVLAERLPLTPVSLKVSTNSTRQLHLQWTVHNLP  
 YHQELKMFQIQISRIETSVIIVGVNSTTVKWNQVLHWSWESELPLECATHFVRIKS  
 40 LVDDAKFPEPNFWSNWSSWEEVSVQDSTGQDILFVFPDKLVEEGTNVTICYVSRNIQ  
 NNVSCYLEGKQIHGEQLDPHVTAFNLNSVPFIRNKGTNIYCEASQGNVSEGMKGIVLF  
 VSKVLEEPKDFSCETEDFKTLHCTWDPGTDTALGWSKQPSQSYTLFESFSGEKKLCTH  
 KNWCNWQITQDSQETYNTLIAENYLKRKRSVNILFNLTHERVYLMNPFSVNFENVNAT  
 NAIMTWKVHSIRNNFTYLCQIELHGEKGMMQYNVIKVNGEYFLSELEPATEYMARV  
 45 RCADASHFWKWSEWSGQNFTTLEAAPSEAPDVWRIVSLEPGNHTVTLFWKPLSKLHA  
 NGKILFYNVVVENLDKPSSELHSIPAPANSTKLILDRCSYQICVIANNVGASPASVIVI  
 SADPENKEVEEERIAGTEGGFSLSWKPQPGDVIGYVVDWCDHTQDVLGDFQWKNVG  
 PNTTSTVISTDAFRPGVRYDFRIYGLSTKRIACLLEKKTGYSQELAPSDNPHVLVDTLTS  
 50 HSFTLSWKDYSTESQPGFIQGYHVYLKSARQCHPRFEKAVLSDGSECCKYKIDNPEE  
 KALIVDNLKPESFYEFFITPFTSAGEGPSATFTKVTTPDEHSSMLIHILLPMVFCVLLIMV  
 MCYLKSQLWIKECTYPDIPDPYKSSILSLIKFKENPHLIIMNVSDCIPDAIEVVSKPEGTKI  
 55 QFLGTRKSLTETELTKPNYLYLLPTEKNHSGPGPCICFENLTYNQAASDGSCHGPVPS  
 PKAPSMGLMTSPENVLKALEKNYMNSLGEIPAGETSLNYVSQLASPMFGDKDSLPTN

**Secuencia de aminoácidos de OSM humana (SEQ ID NO: 39)**

60 MGVLLTQRITLLSLVLALLFPMASMAAIGSCSKEYRVLLGQLQKQTDLMQDTSRLLD  
 PYIRIQGLDVKLREHCRERPGAFPSEETLRGLGRGFLQTLNATLGCVLHRLADLEQE  
 LPKAQDLEERSGLNIEDLEKLQMARPNILGRNNIYCMAQLLDNSDTAEPTKAGRGA  
 PPTPTPASDAFQRKLEGCRFLHYHRFMHSVGRVFSKGESPNSRRHSPHQALRK  
 VRRTRPSRKGKRLMTRGQLPR

**Secuencia de aminoácidos de IL-31 humana (SEQ ID NO: 41)**

MASHSGPSTSVLFLFCLGGWLASHTLPVRLLRPSDDVQKIVEELQSLSKMLLKDV  
 EKGVLVSQNYTLPCLSPDAQPPNNIHSPAIRAYLKTIRQLDNKSVIDEIIHLDKLIFQDA  
 PETNISVPTDTHECKRFLITISQQFSECMDLALKSLTSGAQQATT

**Secuencia de aminoácidos de IL31RA humana (SEQ ID NO: 43)**

MKLSPQPSCVNLMWALWMLPSLCKFSLAAPAKPENISCVYYYRKNLCTWS  
 PGKETSYTQYTVKRTYAFGEKHDNCNTNSSTSENRASCSSFLPRITIPDNYTIEVEAENC  
 DGVIKSHMTYWRLENIAKTEPPKIFRVKPVLGKRMIQIEWIKPELAPVSSDLKYTLRFR  
 TVNSTSWMEVNFAKNRKDNQTYNLGLQPFTEYVIALRCAVKESKFWSDWQSKEKM  
 GMTEEEAPCGLELWRVLKPAAEADGRRPVRLWKARGAVPYLEKTLGYNIWYYPESN  
 TNLTETMNTTNQQLEHLHGGESFWVSMISYNLSGKSPVATLRIPAIQEKSFCQCIEVMQA  
 CVAEDQLVVWKWQSSALDVNTWMIWFDPVDSEPTTLSWESVSQATNWTIQQDKLKP  
 FWCYNISVYPMMLHDKVGEPYSIQAYAKEGPSEGEPETKVENIGVKTVTITWKEIPKSEF  
 KGIICNYTIFYQAEGGKGFSKTVNSSLQYGLSLLRKRTSYIVQVMASTSAGGTNGTSIN  
 FKTLTSFSVFEJILITSLIGGLLILILTVA YGLKKPNKLTHLCWPTVPNPAESSIAWHGD  
 DFKDKLNLKESDDSVNTEDRILKPCSTPSDKLVIDKLVVNFGNVLQEIFTDEARTGQEN  
 NLGGEKNGTRILSSCPTI

**Secuencia de aminoácidos de gp130 humana (SEQ ID NO: 45)**

MLTLQTWLVQALFIFLTTESTGELLDPCGYISPESPVQLHSNFTAVCVLKEKCMDYF  
 HVNANYIVWKTNHFTIPKEQYTIINRTASSVTFTDIASLNIQLTCNLTGQLEQNRYGI  
 TIISGLPPEKPKNLSCIVNEGKKMRCEWDGGRETHLETNFTLKSEWATHKFADCKAKR  
 DTPTSCTVDYSTVYFVNIEVWVEAENALGKVTSDHINFDPVYKVKPNNPHNLSVINSE  
 ELSSILKLTWTNPSIKSVIILKYNIQYRTKDASTWSQIPPEDTASTRSSFTVQDLKPFTEY  
 VFRIRCMKEDGKGYWSDWSEEASGITYEDRPSKAPSFWYKIDPSHTQGYRTVQLVWK  
 TLPPFEANGKILDYEVTLTRWKSHLQNYTVNATKLTVNLTNDRYLATLTVRNLVGKS  
 DAAVLTIACDFQATHPVMDLKAFPKDNMLWVEWTTIPRESVKYILEWCVLSDKAP  
 CITDWQQEDGTVHRTYLRGNLAESKCYLITVTPVYADGPGSPESIKAYLKQAPPSSKG  
 TVRTKKVVGKNEAVLEWDQLPVDVQNGFIRNYTIFYRTIIGNETAVNVDSHTEYTLSS  
 LTSDTLYMVRMAAYTDEGGKDGPEFTTTPKFAQGEIEAVVPVCLAFLTTLLGVLF  
 CFNKRDLIKKHIWPNPDPDKSHIAQWSPHTPPRHNFSKDQMYSDSNFTDVSVVEIV  
 ANDKKPFPEDLKSLDLFKEKINTEGHSSGIGGSSCMSSSRPSISSSDENESSQNTSSTV  
 QYSTVVHSGYRHQVPSVQVFSSRESTQPLLDSEERPEDLQLVDHVDDGGDGILPRQQYF  
 KQNCSQHESSPDISHFERSKQVSSVNEEDFVRLKQQISDHISQSCGSGQMCKMFQEVS  
 ADAFGPGTEGOVERFETVGMEAATDEGMPKSYLPOTVROGGYMP

45 [0038] En realizaciones particulares de la presente descripción, las proteínas de unión a antígeno aquí descritas se unen tanto OSMR humana y mono cynomolgus con alta afinidad, incluyendo los que se unen con alta afinidad y bloquear la interacción de OSM de mono cynomolgus e/o IL-31 a OSMR mono cynomolgus. Estas características permiten estudios de toxicología informativa en primates no humanos.

50 [0039] Una secuencia de proteína OSMR de macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) se conoce en la técnica y se proporciona en GenBank nº de acceso XP\_001083745. En la Tabla 2 se proporciona un ejemplo de secuencia de aminoácidos OSMR de mono cinomolgo (*Macaca fascicularis*) (SEQ ID NO:2). La proteína está formada por varios dominios: los aminoácidos 1-27 corresponden a la secuencia de señal que se puede escindir durante el procesamiento de la proteína en células de mamíferos; los aminoácidos 28-737 corresponden al dominio extracelular; y los aminoácidos 738-757 corresponden al dominio transmembrana. En realizaciones preferidas, las proteínas de unión a antígeno descritas en este documento se unen al dominio extracelular de OSMR y evitan la interacción de OSM e/o IL-31 con OSMR.

60 [0040] Una secuencia de la proteína OSM de macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) se conoce en la técnica y se proporciona en GenBank nº de acceso NP\_001181403. En la Tabla 2 se proporciona una secuencia de aminoácidos OSM ejemplar de mono cynomolgus (*Macaca fascicularis*) (SEQ ID NO:40). Los aminoácidos 1-196 corresponden a la OSM cinomolgus madura.

65 [0041] Una secuencia de proteína IL-31 de macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) se conoce en la técnica y se proporciona en GenBank nº de acceso XP\_001096743. En la Tabla 2 se proporciona una secuencia de aminoácidos IL-31 ejemplar de mono cynomolgus (*Macaca fascicularis*) (SEQ ID NO:42). Esta secuencia representa el IL-31 de

mono cynomolgus maduro.

**[0042]** Una secuencia de aminoácido IL31RA mono cynomolgus ejemplar (*Macaca fascicularis*) (SEQ ID NO:44) se proporciona en la Tabla 2. Los aminoácidos 1-19 corresponden a la secuencia señal; y los aminoácidos 520-540 corresponden al dominio transmembrana.

**[0043]** Una secuencia de la proteína gp130 de macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) se conoce en la técnica y se proporciona en GenBank nº de acceso NP\_001252920. En la Tabla 2 se proporciona un ejemplo de secuencia de aminoácidos de gp130 de mono cynomolgus (*Macaca fascicularis*) (SEQ ID NO:46). La proteína está formada por varios dominios: los aminoácidos 1-22 corresponden a la secuencia señal; los aminoácidos 23-619 corresponden al dominio extracelular; los aminoácidos 620-641 corresponden al dominio transmembrana; y los aminoácidos 642-918 corresponden al dominio citoplásmico.

**Tabla 2**

15	<b>Secuencia de aminoácidos OSMR de mono cynomolgus (SEQ ID NO: 2)</b> MALFVVFQTFFLILLSLRTYQSEVLAERLPLTPVSLKVSTNSIHQLHLQWTVHNLPY
20	HQUELMVFQIQISRIETSNVVVVGNYSTPVKWNQVLHWSWESELPLECATHFVRINK VIDDASFPEPNFWSNWSSWEEVSVDYDGLGRGTLFVFPKDKLVEEGSNVTICYVSRNIQ
25	NNVSCYLEGKQIHGEQLDPHVTAFLNLSVPFIRNRGTNIYCEASQGNVSKGIEGIVLFV SKVLEEPKDFSCESQDFKTLHCTWDPGTDTALGWSKQPSQSYTLFESFSGEKKLCTHK NWCNWQITQDSQEMYNFTLIAENYLRKRSVNILFNLTHERVYLMNPFSVNFENVNATN AIMTWKVHSMRNNFTYLCQIELHGEKGMMQYDVSINVNGEYFLSELEPATEYMARV
30	RCADASHFWKWTEWSGQNFTTLEAAPSEAPDVWRSVNSEPGNHTVTLFWKPLSKLH ANGKILFYNVVVENLDKPSRSELRSIPAPANSTKLILDRCSYQICVTANNSVGASPASII VISADPENKEVEEERIAGTEGGFSLSWKPQPGDVIGYVVDWCDHPQDVLQWKNVGPN TTSTVISTDAFRPGVRYDFRIYGLSTKRIACLLEKKTGYSQELAPSNDNPHVLVDMLTSW SFTLSWKDYSTESQPGFIQGYHVLKSKARQCHPRFQKAVLSDGSECCRYKIDNPEEK
35	ALIVDNLKPESFYEFFVTPFTSAGEGPNATFTKVTTPDEHSSMLIRILLPMVFCVLLIMIV CYLKSQLWIKEETCYPDIPDPYKSSILSIKFENPHLTIMVSDCIPDAIEVVKPEGTKIQ LLGTRKSLTETELTKPNLYLLPTEKNHSGPGPCICFENFTYNQAASDAGSCGHVPVPP KAPPMLGLMTSPENVLKALEKNYMNSLGEVPAGETSLNYVSQLASPMMSGDKDSLPT NPVEPPHCSEYKMQMAVPLRLALPPPTENSSLSSITLLDPGEHYR
40	<b>Secuencia de aminoácidos OSM de mono cynomolgus (SEQ ID NO: 40)</b> AAMGSCSKEYRMLLGQLQKQTDLMQDTSRLLDPYIRIQGLDIPKLREHCRESPGAFPS
45	EETLRLGLRRGFLQTLNATLGRILHRLADLEQHLPKAQDLERSGLNIEDLEKLQMARI NVLGLRNNVYCMAQLLDNSDMTEPTKAGRGTQPPTPTSDVFQRKLEGCSFLRGY HRFMHSVGRVFSKGESPNSR
50	<b>Secuencia de aminoácidos de IL-31 de mono cynomolgus (SEQ ID NO: 42)</b> TLPVHFLQPSDIQKIVEELQSLSKMLLKDVKEDKGVLVSQNYTLPCLTPDAQPPNIIHSI AIRAYLKTIRQLDNKSVIDEIIEHLDKLIFQDAPETNISVPTDTHECKRFILTISQQFSECIN DLALKSLTSGAQQTATT
55	
60	
65	

**Secuencia de aminoácidos de IL31RA del mono cynomolgus (SEQ ID NO: 44)**

5 MMWTWALWMFPLLCKFGAALPAK PENISCVYYYRKNLCTWSPGKETSYTQYTA  
 RTYAFGKKHDNC TTSSTSEN RASC SFFL PRITIPDNYTIEVAENG DGVIKSDMT CWR  
 LEDIAKTEPPEIFS VPKV LGIKR MIRIE WIKPELAPVSSDL KYALRFRTVN STSWMEVN  
 F AKNRKDTN QTYN LMGLQAFTEYVVALRC AVKESKFWS DWSQ EKMG MTEE EAPC GL  
 ELW RVLKPT EVDGRRPV RLW KKARGAPVLE KTLG YNIWYFP ENNT NL TETV NTT  
 10 QQ LEHLHG GESYW VVSM ISYNSLGKSPV TL RIPAIQ EKS FRC IEV MQAC LAED QLV VK  
 WQ SSAL DVNT WMIEWF PDMD SEHPT LSWES VSQAT NW TIQQ DKL KP FW CYN ISV YP  
 ML HDKV GE PYSIQAYAKEGIPSKGPETKVENIGVKT VITWKEIPKSERKG IICNYTIFY  
 15 QAE GG TGFS KTVN SSI LQYGL ESLKR KT SYTV RVMA STSAGG ING TSINF KTLS FSV FEI  
 IL IT SLIGG GLL LII ILTV AYGL KKP NKL THLCW PSVP NPAESSI AT WRGDD FKDKLN K  
 ESDDS VNTED RILK PCSTPS DKL VIDK SVV NFGN VLQEMFT DEART GQEN NLG GEK NE  
 NRILSSCPTSI

**Secuencia de aminoácidos de gp130 de mono cynomolgus (SEQ ID NO: 46)**

20 ML TLQTWV VQAL FIFLT ESI GEL LDPCGYI SPESP VVQL HSNFT A CVL KEK CMDY FF  
 VN ANYIVW KTNHFT IPKE QYTI INRT ASSVT FTDISSL NIQLTCN ILT FGQ LEQN VY GITI  
 25 SGLPPEKPKNLSCIVNEGKKMRCEWN RGR ETHE LTNTLKSEWA THKFADCKAKR DT  
 PTSCTVDY STVYFVNIEVWVEAEN ALGKV TS DHIN FDPV YKV KPNPPH NLSV INSEEL S  
 SILK LTWTN PSIK SVIRL KYNIQY RTKD AST WSQIP PEDT ASTR SSFTV QDLKP FTEY VF  
 RICCMK EDG KGYW SDWSEE AANGITYE DRPSKAPS FWYKIDPSHAQGYRTV QLMWKT  
 LPPFEANGKILDYEVTLTRWKSHLQNYTVNDTKLTVNLDRYVATLTARNLVGKSD  
 30 AAVLTIPACDFQATHP VMDLK AFPKDNMLW VEW TPPRESVKY ILEWC VLS DKAPCI  
 ADWQQEDGT VHRTHL RG NLAESKCYL ITVTPVYADGPGSPESIKA YLKQ APPSKG PT  
 RTKKVGKNEA VLEWDQ LPDVQNGF IRNYTIFYRTIIGNETAVNVDSSH EYTLSSLT  
 35 DTLYMVRM AAYTDEGGKDGPEFTFTPKFAQGEIEAIVV PVCLAFL TLLGVLF CN  
 KRDLIKKHIWP VPDP SKSHIAQWSPHT PPRHN FSSKDQMYSDGNFTDVS VVEIE AND  
 KKPF PEDLKSL DLFKKE KINTEGHSSGIGGSSCMSSSRPSI SSSDENESSQ NT S TVQ YST  
 VVHS GYRH QVPSVQ VFSR SESTQPLLDSEER PEDLQLV DHD GSDDI LPRQQYFK QNC  
 SQHESSPDISH FERSKQVSSVNEEDF VRLKQQISDHISQSCSGEMKMFQE VSAADPFG  
 40 PGTEGQVERFETIGMEA AIDE GMPK SYLP QT VRQGGY MPQ

**Proteínas de unión al antígeno OSMR**

45 [0044] La presente descripción proporciona proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente OSMR. Las realizaciones de proteínas de unión a antígeno comprenden péptidos y/o polipéptidos que se unen específicamente a OSMR. Dichos péptidos o polipéptidos pueden incluir opcionalmente una o más modificaciones de la traducción de puertos. Las realizaciones de proteínas de unión a antígeno incluyen anticuerpos y fragmentos de los mismos, como se define aquí de manera diversa, que se unen específicamente a OSMR. Estos incluyen anticuerpos que se unen específicamente a OSMR humana, incluidos aquellos que inhiben a OSM e/ o IL-31 de unirse y/o activar OSMR.

50 [0045] Las proteínas de la invención de unión al antígeno se unen específicamente a OSMR. "Se une específicamente" como se usa en este documento significa que la proteína de unión a antígeno se une preferentemente a OSMR sobre otras proteínas. En algunas realizaciones, "se une específicamente" significa que la proteína de unión al antígeno OSMR tiene una afinidad más alta por OSMR que por otras proteínas. Las proteínas de unión a antígeno OSMR que se unen específicamente a OSMR pueden tener una afinidad de unión por OSMR humana menor o igual que  $1 \times 10^{-7}$  M, menor o igual que  $2 \times 10^{-7}$  M, menor o igual que  $3 \times 10^{-7}$  M, menor o igual que  $4 \times 10^{-7}$  M, menor o igual que  $5 \times 10^{-7}$  M, menor o igual que  $6 \times 10^{-7}$  M, menor o igual que  $7 \times 10^{-7}$  M, menor o igual que  $8 \times 10^{-7}$  M, menor o igual que  $9 \times 10^{-7}$  M, menor o igual que  $1 \times 10^{-8}$  M, menor o igual que  $2 \times 10^{-8}$  M, menor o igual que  $3 \times 10^{-8}$  M, menor o igual que  $4 \times 10^{-8}$  M, menor o igual que  $5 \times 10^{-8}$  M, menor o igual que  $6 \times 10^{-8}$  M, menor o igual que  $7 \times 10^{-8}$  M, menor o igual que  $8 \times 10^{-8}$  M, menor o igual que  $9 \times 10^{-8}$  M, menor o igual que  $1 \times 10^{-9}$  M, menor o igual que  $2 \times 10^{-9}$  M, menor o igual que  $3 \times 10^{-9}$  M, menor o igual que  $4 \times 10^{-9}$  M, menor o igual que  $5 \times 10^{-9}$  M, menor o igual que  $6 \times 10^{-9}$  M, menor o igual que  $7 \times 10^{-9}$  M, menor o igual que  $8 \times 10^{-9}$  M, menor o igual que  $9 \times 10^{-9}$  M, menor o igual que  $1 \times 10^{-10}$  M, menor o igual que  $2 \times 10^{-10}$  M, menor o igual que  $3 \times 10^{-10}$  M, menor o igual que  $4 \times 10^{-10}$  M, menor o igual que  $5 \times 10^{-10}$  M, menor o igual que  $6 \times 10^{-10}$  M, menor o igual que  $7 \times 10^{-10}$  M, menor o igual que  $8 \times 10^{-10}$  M, menor o igual que  $9 \times 10^{-10}$  M, menor o igual que  $1 \times 10^{-11}$  M, menor o igual que  $2 \times 10^{-11}$  M, menor o igual que  $3 \times 10^{-11}$  M, de menor o igual que  $4 \times 10^{-11}$  M, menor o igual que  $5 \times 10^{-11}$  M, menor o igual que  $6 \times$

10<sup>-11</sup> M, menor o igual que 7 x 10<sup>-11</sup> M, menor o igual que 8 x 10<sup>-11</sup> M, menor o igual que 9 x 10<sup>-11</sup> M, menor o igual que 1 x 10<sup>-12</sup> M, menor o igual que 2 x 10<sup>-12</sup> M, menor o igual que 3 x 10<sup>-12</sup> M, menor o igual que 4 x 10<sup>-12</sup> M, menor o igual que 5 x 10<sup>-12</sup> M, menor o igual que 6 x 10<sup>-12</sup> M, menor o igual que 7 x 10<sup>-12</sup> M, menor o igual que 8 x 10<sup>-12</sup> M, o menor o igual que 9 x 10<sup>-12</sup> M.

5 [0046] Los métodos para medir la afinidad de unión de una proteína de unión a antígeno son bien conocidos en la técnica. Los métodos de uso común para la determinación de afinidad incluyen la Resonancia de Plasmón de Superficie (SPR) (Morton y Myszka "Kinetic analysis of macromolecular interactions using surface plasmon resonance biosensors" Methods in Enzymology (1998) 295, 268-294), Bio-Layer Interferometry, (Abdiche et al "Determining Kinetics and Affinities of Protein Interactions Using a Parallel Real-time Label-free Biosensor, the Octet" Analytical Biochemistry (2008) 377, 209-217), Kinetic Exclusion Assay (KinExA) (Darling y Brault "Kinetic exclusion assay technology: characterization of molecular interactions" Assay and Drug Dev Tech (2004) 2, 647-657), calorimetría isotérmica (Pierce et al "Isothermal Titration Calorimetry of Protein-Protein Interactions" Methods (1999) 19, 213-221) y ultracentrifugación analítica (Lebowitz et al. "Modern analytical ultracentrifugation in protein science: A tutorial review" Protein Science (2002), 11: 2067-2079). El ejemplo 5 proporciona métodos ejemplares de determinación de afinidad.

10 [0047] Se entiende que cuando se hace referencia a las diversas realizaciones de los anticuerpos de unión a OSMR en el presente documento, que también abarca fragmentos de unión a OSMR de los mismos. Un fragmento de unión a OSMR comprende cualquiera de los fragmentos o dominios de anticuerpos descritos en el presente documento que conserva la capacidad de unirse específicamente a OSMR. El fragmento de unión a OSMR puede estar en cualquiera de los armazones descritos en este documento.

15 [0048] En ciertas realizaciones terapéuticas, una proteína de unión a antígeno OSMR inhibe la unión de OSM e/o IL-31 a OSMR e/o inhibe una o más actividades biológicas asociadas con la unión de OSM e/o IL-31 a OSMR, por ejemplo, señalización mediada por OSM e/o IL-31. Se dice que tales proteínas de unión a antígeno son "neutralizantes". En ciertas realizaciones, la proteína de unión a antígeno OSMR neutralizante se une específicamente a OSMR e inhibe la unión de OSM e/o IL-31 a OSMR desde cualquier lugar entre el 10% y el 100%, tal como en al menos aproximadamente 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% o más. Por ejemplo, las proteínas de unión a antígeno OSMR pueden probarse para determinar su capacidad neutralizante mediante la determinación de la capacidad de la proteína de unión a antígeno para bloquear la unión de OSM e/o IL-31 a OSMR, véase, por ejemplo, la OSMR humana y los ensayos de bloqueo OSMR de cynomolgus de los Ejemplos 2 y 3, respectivamente. Alternativamente, las proteínas de unión al antígeno OSMR pueden analizarse para determinar su capacidad neutralizadora en un ensayo que mide el efecto de la presencia de la proteína de unión al antígeno OSMR en un ensayo que mide la función biológica mediada por OSM e/o IL-31. Por ejemplo, la capacidad de la OSM para inducir una respuesta biológica, como la estimulación de la actividad del activador del plasminógeno en células endoteliales aórticas bovinas cultivadas, la regulación de la expresión de IL-6 en células endoteliales humanas y la estimulación de la captación de LDL y la regulación positiva de receptores de LDL de superficie celular en células HepG2. Alternativamente, la capacidad de IL-31 para inducir inflamación en la piel.

20 [0049] Las realizaciones de proteínas de unión a antígeno comprenden una estructura de armazón, como se define aquí de manera diversa, con una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR). Las realizaciones incluyen además proteínas de unión a antígeno que comprenden una estructura de armazón con uno o más dominios variables de anticuerpo, pesados o ligeros. Las realizaciones incluyen anticuerpos que comprenden un dominio variable de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en el dominio variable de cadena ligera (LCv) de Ab1, LCv de Ab2 y LCv de Ab3 (SEQ ID NO:27-29, respectivamente) y/o un dominio variable de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en el dominio variable de cadena pesada (HCv), Ab2 HCv y Ab3 HCv (SEQ ID NOS: 9-11, respectivamente), y fragmentos, derivados, muteínas y variantes de los mismos. Una variante ejemplar del dominio variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO:9 contiene un aminoácido distinto de la asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en la SEQ ID NO:9. La secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:53 es un ejemplo de una variante de dominio variable de cadena pesada de la SEQ ID NO:9.

25 Una variante ejemplar del dominio variable de la cadena pesada de SEQ ID NO:10 contiene un aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en SEQ ID NO:10. La secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:54 es un ejemplo de una variante de dominio variable de cadena pesada de la SEQ ID NO:10.

30 [0050] Una cadena ligera ejemplar que comprende Ab1 LCv es una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:24.

35 [0051] Una cadena ligera ejemplar que comprende Ab2 LCv es una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:25.

60

65

[0052] Una cadena ligera ejemplar que comprende Ab3 LCv es una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:26.

5 [0053] Una cadena pesada ejemplar que comprende Ab1 VHC es una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:6.

Una cadena pesada ejemplar que comprende una variante de Ab1 HCv es una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:50.

10 [0054] Una cadena pesada ejemplar que comprende Ab2 VHC es una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:7.

[0055] Una cadena pesada ejemplar que comprende una variante de Ab2 VHC es una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:51.

15 [0056] Una cadena pesada ejemplar que comprende Ab3 HCv es una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:8.

20 [0057] Una cadena pesada ejemplar que comprende una variante de Ab3 HCv es una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:52.

25 [0058] Los ejemplos adicionales de los andamios que se contemplan incluyen, pero no están limitados a: fibronectina, neocarzinostatina CBM4-2, lipocalinas, receptor de células T, proteína dominio -A (proteína Z), Im9, proteínas TPR, dominios de dedos de zinc, pVIII, polipéptido pancreático aviar, GCN4, dominio WW homología Src dominio 3, dominios PDZ, TEM-1 beta-lactamasa, tiorredoxina, nucleasa estafilocócica, dominios de dedo PHD, CL-2, BPTI, APPI, HPSTI, ecotina, LACI-D1, LDTI, MTI-II, toxinas de escorpión, péptido de insecto defensina-A, EETI-II, Min-23, CBD, PBP, citocromo b-562, dominios del receptor Ld1, gamma-cristalina, ubiquitina, transferrina y dominios de tipo lectina de tipo C. Los andamios sin anticuerpos y su uso como terapéuticos se revisan en Gebauer y Skerra, Curr. Opin. Chem. Biol., 13: 245-255 (2009) y Binz et al., Nat. Biotech., 23 (10): 1257-68 (2005).

30 [0059] Los aspectos de la divulgación incluyen anticuerpos que comprenden los siguientes dominios variables: Ab1 LCv/Ab1 HCv (SEQ ID NO:27/SEQ ID NO:9), Ab2 LCv/Ab2 HCv (SEQ ID NO:28/SEQ ID NO:10), Ab3 LCv/Ab3 HCv (SEQ ID NO:29/SEQ ID NO:11), y combinaciones de los mismos, así como fragmentos, derivados, muteínas y variantes de los mismos. También se incluyen los anticuerpos que comprenden los siguientes dominios variables: SEQ ID NO:27/SEQ ID NO:53; y SEQ ID NO:28/SEQ ID NO:54.

35 [0060] Los anticuerpos ejemplares de la divulgación incluyen Ab1 (SEQ ID NO:24/SEQ ID NO:6), Ab2 (SEQ ID NO:25/SEQ ID NO:7) y Ab3 (SEQ ID NO:26/SEQ ID NO:8).

Los anticuerpos ejemplares adicionales incluyen: SEQ ID NO:24/SEQ ID NO:50; SEQ ID NO:25/SEQ ID NO:51; y SEQ ID NO:26/SEQ ID NO:52.

40 [0061] Típicamente, cada dominio variable de un anticuerpo de cadena ligera o pesada comprende tres CDR. El dominio variable de cadena pesada comprende una cadena pesada CDR1 (HCDR1), una cadena pesada CDR2 (HCDR2) y una cadena pesada CDR3 (HCDR3). El dominio variable de la cadena ligera comprende una cadena ligera CDR1 (LCDR1), una cadena ligera CDR2 (LCDR2) y una cadena ligera CDR3 (LCDR3). En ciertas realizaciones, una proteína de unión a antígeno comprende una o más CDR contenidas dentro de los dominios variables preferidos descritos en este documento.

45 [0062] Los ejemplos de dichas CDR incluyen, pero no se limitan a:

50 las CDR de Ab1 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:30), LCDR2 (SEQ ID NO:33) y LCDR3 (SEQ ID NO:36);

las CDR de Ab2 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:31), LCDR2 (SEQ ID NO:34) y LCDR3 (SEQ ID NO:37);

las CDR de Ab3 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:32), LCDR2 (SEQ ID NO:35) y LCDR3 (SEQ ID NO:38);

55 las CDR de Ab1 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:12), HCDR2 (SEQ ID NO:15) y HCDR3 (SEQ ID NO:18);

las CDR de Ab2 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:13), HCDR2 (SEQ ID NO:16) y HCDR3 (SEQ ID NO:19); y

60 las CDR de Ab3 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:14), HCDR2 (SEQ ID NO:17) y HCDR3 (SEQ ID NO:20).

[0063] En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno comprende: a) un polipéptido, por ejemplo, una cadena ligera, que comprende una LCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 30, 31, y 32; un LCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:33, 34 y 35; y/o un LCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:36, 37 y 38; y/o B) un polipéptido, por ejemplo, una cadena pesada, que

comprende un HCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:12, 13 y 14; un HCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:15, 16 y 17; y/o un HCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:18, 19 y 20.

5 [0064] En realizaciones adicionales, la proteína de unión a antígeno comprenden A) una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que comprende una LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de cualquiera de Ab1 LCV, Ab2 LCV, y Ab3 LCv y B) una secuencia de aminoácidos de la cadena pesada que comprende un HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de cualquiera de Ab1 HCv, Ab2 HCv y Ab3 HCv.

10 [0065] En ciertas realizaciones, las CDR incluyen no más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco, o sin adiciones de ácido más de seis amino, delecciones, o sustituciones de una CDR ejemplar establecida en el presente documento.

15 [0066] Los aspectos de la divulgación incluyen anticuerpos que comprenden un dominio variable de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 27, 28 y 29. Los aspectos de la divulgación incluyen anticuerpos que comprenden un dominio variable de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 9, 10 y 11. Otros aspectos de la divulgación incluyen anticuerpos que comprenden A) un dominio variable de cadena ligera seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NO:27, 28 y 29, y B) un dominio variable de cadena pesada seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 9, 10 y 11.

20 [0067] Los anticuerpos de la invención pueden comprender cualquier región constante conocida en la técnica. La región constante de la cadena ligera puede ser, por ejemplo, una región constante de la cadena ligera de tipo kappa o lambda, por ejemplo, una región constante de la cadena ligera de tipo kappa o lambda. La región constante de la cadena pesada puede ser, por ejemplo, una región constante de la cadena pesada de tipo alfa, delta, épsilon, gamma o mu, por ejemplo, una región humana constante de tipo alfa, delta, épsilon, gamma o mu de la cadena pesada. En una realización, la región constante de la cadena ligera o pesada es un fragmento, derivado, variante o muteína de una región constante natural.

30 [0068] Los aspectos de la divulgación incluyen anticuerpos que comprenden una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 27, 28 y 29 que tienen no más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco, no más de seis, no más de siete, no más de ocho, no más de nueve, o no más de diez adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos. Los aspectos de la divulgación incluyen anticuerpos que comprenden una región variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:9, 10 y 11 que tienen no más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco, no más de seis, no más de siete, no más de ocho, no más de nueve, o no más de diez adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos. Otros aspectos de la divulgación incluyen anticuerpos que comprenden A) que comprenden una región variable de cadena ligera seleccionada del grupo que consta de SEQ ID NO:27, 28 y 29 que tienen no más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco, no más de seis, no más de siete, no más de ocho, no más de nueve, o no más de diez adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos, y B) una región variable de cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 9, 10 y 11 que tienen no más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco, no más de seis, no más de siete, no más de ocho, no más de nueve, o no más de diez adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos.

45 [0069] En una variación, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 80%, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntico a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO:27, 28 y 29. En otra variación, la proteína de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 80%, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos el 88%, al menos el 89%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, o al menos el 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:9, 10, y 11. En otra realización adicional, la proteína de unión a antígeno comprende A) una secuencia de aminoácidos que es al menos 80%, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos el 86%, al menos el 87%, al menos el 88%, al menos el 89%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:27, 28 y 29, y B) una secuencia de aminoácidos que es al menos 80%, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos el 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:9, 10 y 11. Las proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden un dominio variable de cadena pesada que tiene una

relación de secuencia definida anteriormente con la SEQ ID NO:9 pueden contener opcionalmente un aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en la SEQ ID NO:9. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:53.

5 Las proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden un dominio variable de cadena pesada que tiene una relación de secuencia definida anteriormente con la SEQ ID NO:10 pueden contener opcionalmente un aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en la SEQ ID NO:10. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:54.

10 **[0070]** En ciertas realizaciones, la proteína de unión a antígeno comprende una cadena ligera y/o CDR3 de cadena pesada. En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de secuencias expuestas en las SEQ ID NO:36, 37, 38, 18, 19 y 20. En ciertas realizaciones, la secuencia de aminoácidos no incluye más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco, o no más de seis adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia exemplar establecida en la SEQ ID NO:36, 37, 38, 18, 19 y 20. Así, las realizaciones de la presente divulgación incluyen una proteína de unión a antígeno que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 80%, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de secuencias expuestas en las SEQ ID NO:36, 37, 38, 18, 19 y 20.

15 **[0071]** En ciertas realizaciones, la proteína de unión a antígeno comprende una cadena ligera y/o CDR2 de cadena pesada. En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de secuencias expuestas en las SEQ ID NO:33, 34, 35, 15, 16 y 17. En ciertas realizaciones, la secuencia de aminoácidos no incluye más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco, o no más de seis adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia exemplar establecida en la SEQ ID NO:33, 34, 35, 15, 16 y 17. Por lo tanto, las realizaciones de la presente divulgación incluyen una proteína de unión a antígeno que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 80%, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de secuencias expuestas en las SEQ ID NO:33, 34, 35, 15, 16 y 17.

20 **[0072]** En ciertas realizaciones, la proteína de unión a antígeno comprende una cadena ligera y/o cadena pesada de CDR1. En algunas realizaciones, la proteína de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de secuencias expuestas en las SEQ ID NO:30, 31, 32, 12, 13 y 14. En ciertas realizaciones, la secuencia de aminoácidos no incluye más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco, o no más de seis adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de ejemplo establecida en la SEQ ID NO:30, 31, 32, 12, 13 y 14. Por lo tanto, las realizaciones de la presente divulgación incluyen una proteína de unión a antígeno que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 80%, al menos 81%, al menos 82%, al menos 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo de secuencias expuestas en las SEQ ID NO:30, 31, 32, 12, 13 y 14.

25 **[0073]** Las proteínas de la divulgación comprenden los andamios de anticuerpos tradicionales, incluyendo anticuerpos humanos y monoclonales, anticuerpos biespecíficos, diacuerpos, minicuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos sintéticos de unión a antígeno (algunas veces se hace referencia en esta memoria como "miméticos de anticuerpo"), químicos Anticuerpos, fusiones de anticuerpos (a veces denominados "conjugados de anticuerpos") y fragmentos de cada uno, respectivamente. Las CDR descritas anteriormente, incluidas varias combinaciones de las CDR, pueden ser injetadas en cualquiera de los siguientes andamios.

30 **[0074]** Tal como se utiliza aquí, el término "anticuerpo" se refiere a las diversas formas de proteínas monoméricas o multiméricas que comprenden una o más cadenas polipeptídicas que se une específicamente a un antígeno, tal como se describe diversamente en la presente memoria. En ciertas realizaciones, los anticuerpos se producen mediante técnicas de ADN recombinante. En realizaciones adicionales, los anticuerpos se producen por escisión enzimática o química de anticuerpos naturales. En otro aspecto, el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en: a) un anticuerpo humano; b) un anticuerpo humanizado; c) un anticuerpo químico; d) un anticuerpo monoclonal; e) un anticuerpo policlonal; f) un anticuerpo recombinante; g) un fragmento de unión a antígeno; h) un anticuerpo de cadena sencilla; i) un diacuerpo; j) un triacuerpo, k) un tetracuerpo, l) un fragmento Fab; m) un fragmento F(ab')<sub>2</sub>; n) un anticuerpo IgA, o) un anticuerpo IgD, p) un anticuerpo IgE, q) un anticuerpo IgG1, r) un anticuerpo IgG2, s) un anticuerpo IgG3, t) un anticuerpo IgG4, y u) un anticuerpo IgM.

35 **[0075]** Una región variable o dominio comprende al menos tres CDRs de cadena pesada o ligera incrustados dentro de una región marco (regiones marco designadas FR1, FR2, FR3, y FR4). Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins

of Immuno-logical Interest, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD. Las unidades estructurales de anticuerpos tradicionales típicamente comprenden un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto típicamente de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, cada par tiene una cadena "ligera" y una "pesada". La porción amino-terminal de cada cadena incluye una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento de antígenos. La porción carboxi-terminal de cada cadena define una región constante responsable principalmente de la función efectora. Las cadenas ligeras humanas se clasifican como cadenas ligeras kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como mu, delta, gamma, alfa o épsilon, y definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, respectivamente. IgG tiene varias subclases, incluidas, entre otras, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. IgM tiene subclases, incluidas, entre otras, IgM1 e IgM2. Las realizaciones de la invención incluyen todas estas clases y subclases de anticuerpos que incorporan un dominio variable o CDR de las proteínas de unión a antígeno de la invención.

**[0076]** Algunos anticuerpos de origen natural, tales como los encontrados en camellos y llamas, son dímeros que consisten en dos cadenas pesadas y no incluyen cadenas ligeras. La invención abarca anticuerpos diméricos de dos cadenas pesadas, o fragmentos de los mismos, que pueden unirse a OSMR.

**[0077]** Las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras típicamente exhiben la misma estructura general de regiones marco relativamente conservadas (FR) unidas por tres regiones hipervariables, es decir, regiones determinantes de complementariedad o CDR. Las CDR son las principales responsables del reconocimiento y la unión del antígeno. Las CDR de las dos cadenas de cada par están alineadas por las regiones marco, permitiendo la unión a un epítope específico. Desde el extremo N al terminal C, tanto las cadenas ligeras como las pesadas comprenden los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La asignación de aminoácidos a cada dominio está de acuerdo con las definiciones de Kabat.

**[0078]** Las CDR constituyen los principales puntos de contacto de la superficie para la unión al antígeno. La CDR3 o la cadena ligera y, en particular, la CDR3 de la cadena pesada pueden constituir los determinantes más importantes en la unión del antígeno dentro de las regiones variables de la cadena ligera y pesada. En algunos anticuerpos, la CDR3 de cadena pesada parece constituir el área principal de contacto entre el antígeno y el anticuerpo. Los esquemas de selección in vitro en los que se varía CDR3 solo se pueden usar para variar las propiedades de unión de un anticuerpo o determinar qué residuos contribuyen a la unión de un antígeno.

**[0079]** Los anticuerpos de origen natural incluyen típicamente una secuencia señal, que dirige el anticuerpo en la vía celular para la secreción de proteínas y que normalmente no está presente en el anticuerpo maduro. Un polinucleótido que codifica un anticuerpo de la invención puede codificar una secuencia de señal natural o una secuencia de señal heteróloga como se describe a continuación.

**[0080]** En una realización, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo que comprende de una a seis de las CDRs de ejemplo descritas en el presente documento. Los anticuerpos de la invención pueden ser de cualquier tipo, incluyendo IgM, IgG (incluyendo anticuerpos IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgD, IgA o IgE. En una realización específica, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo de tipo IgG, por ejemplo, un anticuerpo IgG1.

**[0081]** En algunas realizaciones, por ejemplo cuando la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo con cadenas pesadas y ligeras completas, las CDRs son todas de la misma especie, por ejemplo, humana. Alternativamente, por ejemplo, en realizaciones en las que la proteína de unión a antígeno contiene menos de seis CDR de las secuencias descritas anteriormente, las CDR adicionales pueden ser de otras especies o pueden ser CDR humanas diferentes de las representadas en las secuencias ejemplares. Por ejemplo, las regiones HCDR3 y LCDR3 de las secuencias apropiadas identificadas en el presente documento pueden usarse con HCDR1, HCDR2, LCDR1 y LCDR2 que se seleccionan opcionalmente de especies alternativas o diferentes secuencias de anticuerpos humanos, o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, las CDR de la invención pueden reemplazar las regiones CDR de anticuerpos químicos o humanizados comercialmente relevantes.

**[0082]** Las realizaciones específicas utilizan componentes de andamio de las proteínas que son componentes humanos de unión a antígeno. En algunas realizaciones, sin embargo, los componentes del andamio pueden ser una mezcla de diferentes especies. Como tal, si la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo, dicho anticuerpo puede ser un anticuerpo químico y/o un anticuerpo humanizado. En general, tanto "anticuerpos químicos" como anticuerpos humanizados "se refieren a anticuerpos que combinan regiones de más de una especie. Por ejemplo, "anticuerpos químicos" tradicionalmente comprenden regiones variables de un ratón (o rata, en algunos casos) y la(s) región(es) constante(s) de un humano.

**[0083]** "Anticuerpos humanizados" generalmente se refieren a anticuerpos no humanos que han intercambiado las regiones marco de dominio variable por secuencias encontradas en anticuerpos humanos. En general, en un anticuerpo humanizado, el anticuerpo completo, excepto una o más CDR, está codificado por un polinucleótido de origen humano o es idéntico a dicho anticuerpo, excepto dentro de una o más CDR. Las CDR, algunas o todas codificadas por ácidos nucleicos que se originan en un organismo no humano, se injertan en el marco de la lámina beta de una región variable de anticuerpo humano para crear un anticuerpo, cuya especificidad está determinada por las CDR injertadas. La creación de tales anticuerpos se describe, por ejemplo, en WO 92/11018, Jones 1986,

Nature 321: 522-525, Verhoeyen et al., 1988, Science 239: 1534-1536. Los anticuerpos humanizados también se pueden generar utilizando ratones con un sistema inmune creado por ingeniería genética (Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20: 639-654). En las realizaciones ejemplares descritas en el presente documento, las CDR identificadas son humanas, y por tanto los anticuerpos tanto humanizados como quiméricos en este contexto incluyen algunas CDR no humanas; por ejemplo, se pueden generar anticuerpos humanizados que comprenden las regiones HCDR3 y LCDR3, con una o más de las otras regiones CDR que son de un origen de especie diferente.

**[0084]** En una realización, la proteína de unión a antígeno OSMR es un anticuerpo multiespecífico, y en particular un anticuerpo bioespecífico, también denominado a veces como "diacuerpos". Estos son anticuerpos que se unen a dos o más抗igenos diferentes o epítopes diferentes en un solo antígeno. En ciertas realizaciones, un anticuerpo biespecífico se une a OSMR y un antígeno en una célula efectora humana (por ejemplo, una célula T). Dichos anticuerpos son útiles para dirigir una respuesta de células efectoras contra células que expresan OSMR, tales como una célula tumoral que expresa OSMR. En realizaciones preferidas, el antígeno de células efectoras humanas es CD3. Patente de EE.UU. Nº 7.235.641. Los métodos para producir anticuerpos biespecíficos son conocidos en la técnica. Uno de estos métodos involucra la ingeniería de la porción Fc de las cadenas pesadas para crear "mandos" y "orificios" que facilitan la formación de heterodímeros de las cadenas pesadas cuando se expresan conjuntamente en una célula. US 7.695.963. Otro método también involucra la ingeniería de la parte Fc de la cadena pesada, pero utiliza la dirección electrostática para fomentar la formación de heterodímeros al tiempo que desalienta la formación de las cadenas pesadas cuando se coexpresa en una célula. WO 09/089.004.

**[0085]** En una realización, La proteína de unión a antígeno OSMR de unión es un minicuerpo. Los minicuerpos son proteínas similares a anticuerpos minimizadas que comprenden un scFv unido a un dominio CH3 (Hu et al., 1996, Cancer Res. 56: 3055-3061).

**[0086]** En una realización, la proteína de unión a antígeno OSMR de unión es un anticuerpo de dominio; véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. nº 6.248.516. Los anticuerpos de dominio (dAbs) son dominios de unión funcional de anticuerpos, correspondientes a las regiones variables de las cadenas pesada (VH) o ligera (VL) de anticuerpos humanos. Los dAB tienen un peso molecular de aproximadamente 13 kDa, o menos de una décima parte del tamaño de un anticuerpo completo. Los dAB se expresan bien en una variedad de hospedadores que incluyen sistemas de células bacterianas, de levadura y de mamíferos. Además, los dAb son altamente estables y retienen la actividad incluso después de ser sometidos a condiciones severas, como la liofilización o la desnaturización por calor. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos 6.291.158; 6.582.915; 6.593.081; 6.172.197; Número de serie de Estados Unidos 2004/0110941; Patente europea 0368684; Patente de Estados Unidos 6.696.245, WO04/058821, WO04/003019 y WO03/002609.

**[0087]** En una realización, La proteína de unión a antígeno OSMR de unión es un fragmento de anticuerpo, que es un fragmento de cualquiera de los anticuerpos descritos en este documento que retienen la especificidad de unión a OSMR. En diversas realizaciones, las proteínas de unión al anticuerpo comprenden, pero no se limitan a, fragmentos F(ab), F(ab'), F(ab')2, Fv o Fv de una sola cadena. Como mínimo, un anticuerpo, como se entiende en este documento, comprende un polipéptido que puede unirse específicamente a OSMR que comprende la totalidad o parte de una región variable de cadena ligera o pesada, tal como una o más CDR.

**[0088]** Otros ejemplos de fragmentos de anticuerpos de unión OSMR incluyen, pero no se limitan a, (i) el fragmento Fab que consiste en dominios VL, VH, CL y CHI, (ii) el fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CHI, (iii) el fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un único anticuerpo; (iv) el fragmento dAb (Ward et al., 1989, Nature 341: 544-546) que consiste en una sola variable, (v) regiones CDR aisladas, (vi) fragmentos F(ab')<sub>2</sub>, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab enlazados (vii) moléculas Fv de una sola cadena (scFv), en donde un dominio VH y un dominio VL están vinculados por un enlazador peptídico que permite que los dos dominios se asocien para formar un sitio de unión a antígeno (Bird et al., 1988, Science 242: 423-426, Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 85: 5879-5883), (viii) dímeros Fv de cadena sencilla biespecíficos (PCT/US92/09965) y (ix) "diacuerpos" o "triacuerpos", fragmentos multivalentes o multiespecíficos construidos por fusión génica (Tomlinson et al., 2000, Methods Enzymol. 326: 461-479; WO94/13804; Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90: 6444-6448). Los fragmentos de anticuerpos pueden ser modificados. Por ejemplo, las moléculas pueden estabilizarse mediante la incorporación de puentes disulfuro que unen los dominios VH y VL (Reiter et al., 1996, Nature Biotech. 14: 1239-1245). Los aspectos de la invención incluyen realizaciones en las que los componentes no CDR de estos fragmentos son secuencias humanas.

**[0089]** En una realización, la proteína de unión a antígeno OSMR es un anticuerpo completamente humano. En esta realización, tal como se describe anteriormente, las estructuras específicas comprenden cadenas pesadas y ligeras completas representadas que comprenden las regiones CDR. Realizaciones adicionales utilizan una o más de las CDR de la invención, con las otras CDR, regiones marco, regiones J y D, regiones constantes, etc., procedentes de otros anticuerpos humanos. Por ejemplo, las CDR de la invención pueden reemplazar a las CDR de cualquier número de anticuerpos humanos, particularmente anticuerpos comercialmente relevantes.

**[0090]** Los anticuerpos de cadena única pueden formarse mediante la vinculación de cadena pesada y ligera de fragmentos de dominio variable (región Fv) a través de un puente de aminoácidos (péptido enlazador corto),

resultando en una única cadena de polipéptido. Tales Fv de cadena sencilla (scFv) se han preparado mediante la fusión de ADN que codifica un enlazador peptídico entre los ADN que codifican los dos polipéptidos de dominio variable ( $V_L$  y  $V_H$ ). Los polipéptidos resultantes pueden plegarse sobre sí mismos para formar monómeros de unión a antígeno, o pueden formar multímeros (por ejemplo, dímeros, trímeros o tetrámeros), dependiendo de la longitud de un enlazador flexible entre los dos dominios variables (Kortt et al. 1997, Prot. Eng. 10: 423; Kortt et al., 2001, Biomol. Eng. 18: 95-108). Al combinar diferentes polipéptidos que comprenden  $V_L$  y  $V_H$ , se pueden formar scFv multiméricos que se unen a diferentes epítopes (Kriangkum et al., 2001, Biomol. Eng. 18: 31-40). Las técnicas desarrolladas para la producción de anticuerpos de cadena única incluyen las descritas en la Patente de EE.UU. nº 4.946.778; Bird, 1988, Science 242: 423; Huston y otros, 1988, Proc. Natl Acad Sci. EE.UU. 85: 5879; Ward et al., 1989, Nature 334: 544, de Graaf et al., 2002, Methods Mol Biol. 178: 379-87. Anticuerpos de cadena única derivados de los anticuerpos proporcionados en el presente documento (incluidos, entre otros, scFv que comprenden las combinaciones de dominios variables de Ab1 LCv/Ab1 HCv (SEQ ID NO:27/SEQ ID NO:9), Ab2 LCv/Ab2 HCv (SEQ ID NO:28/SEQ ID NO:10), y Ab3 LCv/Ab3 HCv (SEQ ID NO:29/SEQ ID NO:11), y sus combinaciones están abarcadas por la presente divulgación. Los anticuerpos de cadena única ejemplares incluyen las siguientes combinaciones de dominio variable: SEQ ID NO:27/SEQ ID NO:53 y SEQ ID NO:28/SEQ ID NO:54.

**[0091]** En una realización, La proteína de unión a antígeno OSMR de unión es una proteína de fusión de anticuerpo (a veces denominado en este documento como un "conjugado de anticuerpo"). El compañero conjugado puede ser proteináceo o no proteico; esta última se genera generalmente usando grupos funcionales en la proteína de unión al antígeno y en el compañero conjugado. En ciertas realizaciones, el anticuerpo se conjuga con un producto químico no proteico (fármaco) para formar un conjugado farmacológico de anticuerpo.

**[0092]** En una realización, la proteína de unión a antígeno OSMR es un análogo de anticuerpo, a veces denominado "anticuerpos sintéticos." Por ejemplo, una variedad de trabajos utilizan andamios alternativos de proteínas o andamios artificiales con CDR injertadas. Tales andamiajes incluyen, pero no se limitan a, mutaciones introducidas para estabilizar la estructura tridimensional de la proteína de unión, así como andamios totalmente sintéticos que consisten, por ejemplo, en polímeros biocompatibles. Véase, por ejemplo, Korndorfer et al., 2003, Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, Volume 53, Issue 1: 121-129. Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20: 639-654. Además, se pueden utilizar los miméticos de anticuerpos peptídicos ("PAM"), así como el trabajo basado en miméticos de anticuerpos que utilizan componentes de fibronección como un andamio.

**[0093]** Por "proteína", como se usa en el presente documento, se entiende al menos dos aminoácidos unidos covalentemente, que incluyen proteínas, polipéptidos, oligopéptidos y péptidos. En algunas realizaciones, los dos o más aminoácidos unidos covalentemente están unidos por un enlace peptídico. La proteína puede estar formada por aminoácidos naturales y enlaces peptídicos, por ejemplo, cuando la proteína se elabora de forma recombinante utilizando sistemas de expresión y células huésped, como se describe a continuación. Alternativamente, la proteína puede incluir aminoácidos sintéticos (por ejemplo, homofenilalanina, citrulina, ornitina y norleucina), o estructuras peptidomiméticas, es decir, "análogos de péptidos o proteínas", tales como peptoides (véase, Simon et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 89: 9367), que puede ser resistente a las proteasas u otras condiciones fisiológicas y/o de almacenamiento. Dichos aminoácidos sintéticos pueden incorporarse en particular cuando la proteína de unión a antígeno se sintetiza *in vitro* mediante métodos convencionales bien conocidos en la técnica. Además, se puede usar cualquier combinación de estructuras/residuos peptidomiméticos, sintéticos y naturales. "Aminoácido" también incluye residuos de iminoácidos tales como prolina e hidroxiprolina. El aminoácido "grupo R" o "cadena lateral" puede estar en la configuración (L) o en la configuración (S). En una realización específica, los aminoácidos están en la configuración (L) o (S).

**[0094]** En ciertos aspectos, la invención proporciona proteínas de unión a antígeno recombinante, en donde la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo, que une OSMR y, en algunas realizaciones, una OSMR humana recombinante o porción de la misma. En este contexto, una "proteína recombinante" es una proteína elaborada utilizando técnicas recombinantes que utilizan cualquier técnica y método conocido en la técnica, es decir, a través de la expresión de un ácido nucleico recombinante como se describe en el presente documento. Los métodos y técnicas para la producción de proteínas recombinantes son bien conocidos en la técnica. Las realizaciones de la invención incluyen proteínas de unión a antígeno recombinantes, en las que la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo, que se une a OSMR de tipo salvaje y variantes del mismo.

**[0095]** "Que consiste esencialmente en" significa que la secuencia de aminoácidos puede variar de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o 15% con respecto a la secuencia recitada SEQ ID NO:y todavía retienen la actividad biológica, como se describe en la presente memoria.

**[0096]** En algunas realizaciones, las proteínas de la divulgación de unión al antígeno son proteínas aisladas o sustancialmente proteínas puras. Una proteína "aislada" no está acompañada por al menos parte del material con el que normalmente se asocia en su estado natural, por ejemplo, constituye al menos aproximadamente el 5%, o al menos aproximadamente el 50% en peso de la proteína total en una muestra dada. Se entiende que la proteína aislada puede constituir del 5 al 99,9% en peso del contenido total de proteínas, dependiendo de las circunstancias. Por ejemplo, la proteína se puede preparar a una concentración significativamente mayor mediante el uso de un promotor inducible o un promotor de alta expresión, de manera que la proteína se elabora en niveles de

concentración incrementados. La definición incluye la producción de una proteína de unión a antígeno en una amplia variedad de organismos y/o células huésped que se conocen en la técnica.

**[0097]** Para las secuencias de aminoácidos, identidad de secuencia y/o similitud se determina mediante el uso de técnicas estándar conocidas en la técnica, incluyendo, pero no limitado al algoritmo de identidad de secuencia local de Smith y Waterman, 1981, Adv. Appl. Maths. 2: 482, el algoritmo de alineamiento de identidad de secuencia de Needleman y Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443, el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 85: 2444, implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TASTA en el Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin), el programa de secuencia Best Fit descrito por Devereux et al., 1984, Nucl. Acid Res. 12: 387-395, preferiblemente usando la configuración predeterminada, o por inspección. Preferiblemente, el porcentaje de identidad se calcula mediante FastDB en base a los siguientes parámetros: penalización de falta de coincidencia de 1; penalización de hueco de 1; penalización por tamaño de hueco de 0,33; y una penalización de unión de 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis ", Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

**[0098]** Un ejemplo de un algoritmo útil es PILEUP. PILEUP crea una alineación de secuencias múltiples a partir de un grupo de secuencias relacionadas que utilizan alineaciones progresivas, por pares. También puede trazar un árbol que muestra las relaciones de agrupamiento usadas para crear la alineación. PILEUP utiliza una simplificación del método de alineación progresiva de Feng & Doolittle, 1987, J. Mol. Evol. 35: 351-360; el método es similar al descrito por Higgins y Sharp, 1989, CABIOS 5: 151-153. Parámetros útiles de PILEUP que incluyen un peso de espacio predeterminado de 3,00, un peso de longitud de espacio predeterminado de 0,10 y espacios finales ponderados.

**[0099]** Otro ejemplo de un algoritmo útil es el algoritmo BLAST, descrito en: Altschul et al, 1990, J. Mol.. Biol. 215: 403-410; Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402; y Karin et al., 1993, Proc. Natl Acad Sci. EE.UU. 90: 5873-5787. Un programa BLAST particularmente útil es el programa WU-BLAST-2 que se obtuvo de Altschul et al., 1996, Methods in Enzymology 266: 460-480. WU-BLAST-2 usa varios parámetros de búsqueda, la mayoría de los cuales están configurados en los valores predeterminados. Los parámetros ajustables se configuran con los siguientes valores: intervalo de superposición = 1, fracción de superposición = 0,125, umbral de palabra (T) = II. Los parámetros HSP S y HSP S2 son valores dinámicos y los establece el propio programa dependiendo de la composición de la secuencia particular y la composición de la base de datos en particular en la que se busca la secuencia de interés; sin embargo, los valores pueden ser ajustados para aumentar la sensibilidad.

**[0100]** Un algoritmo útil adicional es el BLAST con huecos, según lo informado por Altschul et al., 1993, Nucl. Acidos Res. 25: 3389-3402. BLAST con gap usa puntuaciones de sustitución BLOSUM-62; parámetro umbral T establecido en 9; el método de dos aciertos para desencadenar extensiones sin espacios, cobra longitudes de brecha de k un costo de 10+k;  $X_u$  se establece en 16 y  $X_g$  se establece en 40 para la etapa de búsqueda de la base de datos y en 67 para la etapa de salida de los algoritmos. Las alineaciones con espacios se activan mediante una puntuación correspondiente a aproximadamente 22 bits.

**[0101]** En general, la homología de aminoácidos, la similitud o la identidad entre las CDR variantes individuales son al menos el 80% de las secuencias representadas en el presente documento, y más típicamente con homologías o identidades cada vez más preferidas de al menos el 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% y casi el 100%. De manera similar, el "porcentaje de identidad de secuencia de ácido nucleico (%) con respecto a la secuencia de ácido nucleico de las proteínas de unión identificadas en este documento se define como el porcentaje de residuos de nucleótidos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos de nucleótidos en la secuencia de codificación de la proteína de unión al antígeno. Un método específico utiliza el módulo BLASTN de WU-BLAST-2 establecido en los parámetros predeterminados, con el intervalo de superposición y la fracción de solapamiento establecidos en 1 y 0,125, respectivamente.

**[0102]** En general, la secuencia de ácido nucleico de homología, similitud o identidad entre las secuencias de nucleótidos codificando CDR variantes individuales y las secuencias de nucleótidos representadas en el presente documento son al menos 80%, y más típicamente con homologías preferiblemente crecientes o identidades de al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99%, y casi el 100%.

**[0103]** Por lo tanto, una "variante CDR" es una con la homología especificada, similitud o identidad a la CDR padre de la invención, y comparte función biológica, incluyendo, pero no limitado a, al menos 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o el 99% de la especificidad y/o actividad de la CDR principal.

**[0104]** Mientras que el sitio o región para introducir una variación de secuencia de aminoácidos está predeterminado, la mutación *per se* no necesita estar predeterminada. Por ejemplo, con el fin de optimizar el rendimiento de una mutación en un sitio dado, se puede llevar a cabo una mutagénesis aleatoria en el codón o región diana y las variantes de CDR de la proteína de unión al antígeno expresadas pueden analizarse para la

combinación óptima de actividad deseada. Las técnicas para realizar mutaciones de sustitución en sitios predeterminados en el ADN que tiene una secuencia conocida son bien conocidas, por ejemplo, mutagénesis del cebador M13 y mutagénesis por PCR. La selección de los mutantes se realiza mediante ensayos de las actividades de la proteína de unión al antígeno, como la unión a OSMR.

**[0105]** Las sustituciones de aminoácidos son típicamente de residuos individuales; las inserciones generalmente serán del orden de aproximadamente uno (1) a aproximadamente veinte (20) residuos de aminoácidos, aunque se pueden tolerar inserciones considerablemente más grandes. Las eliminaciones varían de aproximadamente uno (1) a aproximadamente veinte (20) residuos de aminoácidos, aunque en algunos casos las eliminaciones pueden ser mucho más grandes.

**[0106]** Las sustituciones, eliminaciones, inserciones o cualquier combinación de las mismas se pueden usar para llegar a un derivado o variante final. Generalmente, estos cambios se realizan en unos pocos aminoácidos para minimizar la alteración de la molécula, particularmente la inmunogenicidad y especificidad de la proteína de unión al antígeno. Sin embargo, cambios mayores pueden ser tolerados en ciertas circunstancias. Las sustituciones conservativas generalmente se realizan de acuerdo con la siguiente tabla que se muestra en la Tabla 3.

**Tabla 3**

Residuo Original	Sustituciones ejemplares
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

**[0107]** Los cambios sustanciales en la función o identidad inmunológica se realizan seleccionando sustituciones que son menos conservadoras que las que se muestran en la Tabla 3. Por ejemplo, pueden hacerse sustituciones que afectan más significativamente: la estructura del esqueleto del polipéptido en el área de la alteración, por ejemplo la estructura alfa-helicoidal o de hoja beta; la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana; o la mayor parte de la cadena lateral. Las sustituciones que en general se espera que produzcan los mayores cambios en las propiedades del polipéptido son aquellas en las que (a) un residuo hidrofílico, por ejemplo, serilo o treonilo, se sustituye por un residuo hidrofóbico, por ejemplo, leucilo, isoleucilo, fenilalanilo, valilo o alanilo; (b) una cisteína o prolina se sustituye por cualquier otro residuo; (c) un residuo que tiene una cadena lateral electropositiva, por ejemplo, lisilo, arginilo o histidilo, se sustituye por un residuo electronegativo, por ejemplo, glutamilo o aspartilo; o (d) un residuo que tiene una cadena lateral voluminosa, por ejemplo, fenilalanina, se sustituye por uno que no tiene una cadena lateral, por ejemplo, glicina.

**[0108]** Las variantes exhiben típicamente la misma actividad biológica cualitativa y provocarán la misma respuesta inmune que el análogo de origen natural, aunque las variantes también se seleccionan para modificar las características de las proteínas de la proteína de unión según sea necesario antígeno. Alternativamente, la variante puede diseñarse de manera que se altera la actividad biológica de la proteína de unión al antígeno. Por ejemplo, los sitios de glicosilación pueden alterarse o eliminarse como se explica en el presente documento.

**[0109]** Otros derivados de anticuerpos OSMR dentro del alcance de esta invención incluyen conjugados covalentes o agregativos de anticuerpos OSMR, o sus fragmentos, con otras proteínas o polipéptidos, tales como mediante la expresión de proteínas de fusión recombinantes que comprenden polipéptidos heterólogos fusionados al término N o al término C de un polipéptido de anticuerpo OSMR. Por ejemplo, el péptido conjugado puede ser un polipéptido de señal heteróloga (o líder), por ejemplo, el líder del factor alfa de la levadura, o un péptido tal como una etiqueta de epítopo. Las proteínas de fusión que contienen anticuerpos OSMR pueden comprender péptidos añadidos para facilitar la purificación o identificación del anticuerpo OSMR (por ejemplo, poli-His). Un polipéptido de anticuerpo OSMR también se puede unir al péptido FLAG como se describe en Hopp et al., Bio/Technology 6: 1204, 1988, y en

la patente de EE.UU. 5.011.912. El péptido FLAG es altamente antigenico y proporciona un epítopo unido de manera reversible por un anticuerpo monoclonal específico (mAb), que permite un ensayo rápido y una purificación fácil de la proteína recombinante expresada. Los reactivos útiles para preparar proteínas de fusión en los que el péptido FLAG se fusiona con un polipéptido dado están disponibles comercialmente (Sigma, St. Louis, MO).

5 [0110] En una realización, un oligómero se prepara utilizando polipéptidos derivados de inmunoglobulinas. La preparación de proteínas de fusión que comprenden ciertos polipéptidos heterólogos fusionados a varias porciones de polipéptidos derivados de anticuerpos (incluido el dominio Fc) se ha descrito, por ejemplo, por Ashkenazi et al., 1991, PNAS EE.UU. 88: 10535; Byrn et al., 1990, Nature 344: 677; y Hollenbaugh et al., 1992 "Construction of 10 Immunoglobulin Fusion Proteins", en Current Protocols in Immunology, Suppl. 4, páginas 10.19.1 - 10.19.11.

15 [0111] Una realización de la presente disclosure está dirigida a un dímero que comprende dos proteínas de fusión creadas fusionando un fragmento de unión de OSMR de un anticuerpo OSMR a la región Fc de un anticuerpo. El dímero puede ser hecho, por ejemplo, mediante la inserción de una fusión génica que codifica la proteína de fusión en un vector de expresión apropiado, expresando la fusión génica en células huésped transformadas con el vector de expresión recombinante, y permitiendo que la proteína de fusión expresada se junte de manera muy similar a las moléculas de anticuerpos, con lo cual se forman enlaces de disulfuro entre cadenas entre restos Fc para dar el dímero.

20 [0112] El término "polipéptido Fc" como se usa en este documento incluye formas nativas y de muteína de los polipéptidos derivados de la región Fc de un anticuerpo. También se incluyen formas truncadas de tales polipéptidos que contienen la región bisagra que promueve la dimerización. Las proteínas de fusión que comprenden restos Fc (y oligómeros formados a partir de ellos) ofrecen la ventaja de una purificación fácil mediante cromatografía de afinidad sobre columnas de Proteína A o Proteína G.

25 [0113] Un polipéptido Fc adecuado, descrito en la solicitud PCT WO 93/10151, es un polipéptido de cadena sencilla que se extiende desde la región bisagra N-terminal al C-terminal nativo de la región Fc de un anticuerpo IgG humano. Otro polipéptido de Fc útil es la muteína de Fc descrita en la patente de EE.UU. 5.457.035 y en Baum et al., 1994, EMBO J. 13: 3992-4001. La secuencia de aminoácidos de esta muteína es idéntica a la de la secuencia Fc nativa presentada en el documento WO 93/10151, excepto que el aminoácido 19 se ha cambiado de Leu a Ala, el aminoácido 20 se ha cambiado de Leu a Glu, y el aminoácido 22 se ha cambiado de Gly a Ala. La muteína muestra una afinidad reducida por los receptores Fc.

30 [0114] En otras realizaciones, la porción variable de las cadenas pesada y/o ligera de un anticuerpo OSMR se 35 puede sustituir por la porción variable de una cadena pesada y/o ligera de anticuerpo.

35 [0115] Otro método para preparar derivados de anticuerpos OSMR oligoméricos implica el uso de una cremallera de leucina. Los dominios de cremallera de leucina son péptidos que promueven la oligomerización de las proteínas en las que se encuentran. Las cremalleras de leucina se identificaron originalmente en varias proteínas de unión al ADN (Landschulz et al., Science 240: 1759-64, 1988), y desde entonces se han encontrado en una variedad de proteínas diferentes. Entre las cremalleras de leucina conocidas se encuentran los péptidos naturales y sus derivados que dimerizan o trimerizan. Ejemplos de dominios de cremallera de leucina adecuados para producir proteínas oligéricas solubles se describen en la solicitud PCT WO 94/10308, y la cremallera de leucina derivada de la proteína D del surfactante de pulmón (SPD) descrita en Hoppe et al., 1994, FEBS Letters 344: 191. El uso de una cremallera de 40 leucina modificada que permite la trimerización estable de una proteína heteróloga fusionada a la misma se describe en Fanslow et al., 1994, Semin. Immunol. 6: 267-78. En un enfoque, las proteínas de fusión recombinantes que 45 comprenden el fragmento de anticuerpo OSMR o el derivado fusionado con un péptido de cremallera de leucina se expresan en células hospedadoras adecuadas, y los fragmentos o derivados de anticuerpo OSMR oligoméricos solubles que se forman se recuperan del sobrenadante del cultivo.

50 [0116] Las modificaciones covalentes de las proteínas de unión a antígeno se incluyen dentro del alcance de esta invención, y generalmente, pero no siempre, se realizan después de la traducción. Por ejemplo, varios tipos de 55 modificaciones covalentes de la proteína de unión al antígeno se introducen en la molécula haciendo reaccionar residuos de aminoácidos específicos de la proteína de unión al antígeno con un agente de derivatización orgánico que es capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o con los residuos terminales N o C.

60 [0117] Los residuos de cisteinilo se hacen reaccionar más comúnmente con α-haloacetatos (y las aminas correspondientes), tales como ácido cloroacético o cloroacetamida, para dar derivados de carboximetilo o carboxiamidometilo. Los residuos de cisteinilo también se derivan por reacción con bromotrifluoroacetona, ácido α-bromo β-(5-imidozoilo)propiónico, fosfato de cloroacetilo, N-alquilmaleimidas, disulfuro de 3-nitro-2-piridilo, disulfuro de metilo 2-piridilo, p-clorhidrato de carbono, 2-cloromercuri-4-nitrofenol, o cloro-7-nitrobenzo -2-oxa-1,3-diazol.

65 [0118] Los residuos de histidilo se derivan por reacción con dietilpirocárbonato a pH 5,5-7,0 porque este agente es relativamente específico para la cadena lateral de histidilo. El bromuro de para-bromofenacilo también es útil; la reacción se realiza preferiblemente en cacodilato de sodio 0,1 M a pH 6,0.

- 5 [0119] Los residuos del terminal lisinilo y amino se hacen reaccionar con anhídridos succínicos u otros anhídridos de ácido carboxílico. La derivación con estos agentes tiene el efecto de revertir la carga de los residuos lisinilo. Otros reactivos adecuados para derivar residuos que contienen alfa-amino incluyen imidoésteres tales como picolinimidato de metilo; fosfato de piridoxal; piridoxal; cloroborohidruro; ácido trinitrobencenosulfónico; O-metilisourea; 2,4-pentanodiona; y reacción catalizada con transaminasa con glioxilato.
- 10 [0120] Los residuos de arginilo se modifican mediante reacción con uno o varios reactivos convencionales, entre ellos fenilglioxal, 2,3-butanodiona, 1,2-ciclohexanodiona, y ninhidrina. La derivación de residuos de arginina requiere que la reacción se realice en condiciones alcalinas debido a la alta  $pK_a$  del grupo funcional guanidina. Además, estos reactivos pueden reaccionar con los grupos de lisina y con el grupo arginina epsilon-amino.
- 15 [0121] La modificación específica de los residuos de tirosilo puede realizarse, con interés particular en la introducción de marcadores espectrales en los residuos de tirosilo por reacción con compuestos de diazonio aromáticos o tetranitrometano. Más comúnmente, se usan N-acetilo-midizol y tetranitrometano para formar especies de tirosilo de O-acetilo y derivados de 3-nitro, respectivamente. Los residuos de tirosilo se yodian utilizando  $^{125}I$  o  $^{131}I$  para preparar proteínas marcadas para su uso en radioinmunoensayo, siendo adecuado el método de clorammina T descrito anteriormente.
- 20 [0122] Los grupos laterales de carboxilo (aspartilo o glutamilo) se modifican selectivamente mediante reacción con carbodiimidas ( $R'-N=C=N--R'$ ), donde R y R' son, opcionalmente, grupos de alquilo diferentes, tales como 1-ciclohexilo-3-(2-morfolinilo-4-etilo) carbodiimida o 1-etilo-3-(4-azonia-4,4-dimetilpentilo) carbodiimida. Además, los residuos de aspartilo y glutamilo se convierten en residuos de asguinilo y glutaminilo por reacción con iones de amonio.
- 25 [0123] La derivación con agentes bifuncionales es útil para reticular proteínas de unión a antígeno a una matriz de soporte insoluble en agua o superficie para uso en una variedad de métodos. Los agentes de reticulación usados comúnmente incluyen, por ejemplo, 1,1-bis(di-azoacetilo)-2-feniletano, glutaraldehído, ésteres de N-hidroxisuccinimida, por ejemplo, ésteres con ácido 4-azidosalicílico, imidoésteres homobifuncionales, incluyendo ésteres disuccinimídicos tales como 3,3'-ditriobis(succinimidilpropionato) y maleimidas bifuncionales tales como bis-N-maleimido-1,8-octano. Los agentes derivados como el metilo-3-[(p-azidofenilo)dítio]propioimidato producen intermedios fotoactivables que son capaces de formar enlaces cruzados en presencia de luz. Alternativamente, matrices reactivas insolubles en agua tales como carbohidratos activados con bromuro de cianógeno y los sustratos reactivos descritos en la patente de EE.UU. Nº 3.969.287; 3.691.016; 4.195.128; 4.247.642; 4.229.537; y 4.330.440 se emplean para la inmovilización de proteínas.
- 30 [0124] Los residuos de glutaminilo y asparaginilo se desmitifican con frecuencia a los residuos de glutamilo y aspartilo correspondientes, respectivamente. Alternativamente, estos residuos son desamidados en condiciones ligeramente ácidas. Cualquiera de las formas de estos residuos cae dentro del alcance de esta invención.
- 35 [0125] Otras modificaciones incluyen hidroxilación de prolina y lisina, fosforilación de grupos hidroxilo de residuos serilo o treonilo, metilación de los grupos amino  $\alpha$  de lisina, arginina y cadenas laterales de histidina (TE Creighton, Proteins: Structure and Molecular Properties, WH Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79-86), acetilación de la amina N-terminal y la amidación de cualquier grupo carboxilo C-terminal.
- 40 [0126] Otro tipo de modificación covalente de la proteína de unión a antígeno incluida dentro del alcance de esta invención comprende la alteración del patrón de glicosilación de la proteína. Como se conoce en la técnica, los patrones de glicosilación pueden depender tanto de la secuencia de la proteína (por ejemplo, la presencia o ausencia de residuos de aminoácidos de glicosilación particulares, como se discute más adelante), o la célula u organismo huésped en el que se produce la proteína. Sistemas de expresión particulares se discuten a continuación.
- 45 [0127] La glicosilación de polipéptidos está típicamente ligada en N o ligada en O. Ligada en N se refiere a la unión del resto de carbohidrato a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias de tri-péptidos asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática del resto de carbohidrato a la cadena lateral de asparagina. Por lo tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias de tres péptidos en un polipéptido crea un sitio potencial de glicosilación. La glicosilación ligada a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetylgalactosamina, galactosa o xilosa, a un hidroxiaminoácido, más comúnmente serina o treonina, aunque también se puede usar 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.
- 50 [0128] La adición de sitios de glicosilación a la proteína de unión a antígeno se realiza convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de modo que contenga una o más de las secuencias de tri-péptidos descritas anteriormente (para los sitios de glicosilación unidos a N). La alteración también se puede hacer mediante la adición o la sustitución de uno o más residuos de serina o treonina en la secuencia de inicio (para los sitios de glicosilación unidos a O). Para mayor facilidad, la secuencia de aminoácidos de la proteína de unión a antígeno se altera preferiblemente a través de cambios en el nivel de ADN, particularmente mutando el ADN que codifica el polipéptido diana en bases preseleccionadas de manera que se generen codones que se traducirán en los aminoácidos

deseados.

**[0129]** Otros medios para aumentar el número de grupos carbohidrato en la proteína de unión a antígeno es mediante acoplamiento químico o enzimático de glicósidos a la proteína. Estos procedimientos son ventajosos ya que no requieren la producción de la proteína en una célula huésped que tiene capacidades de glicosilación para la glicosilación ligada a N y O. Dependiendo del modo de acoplamiento utilizado, los azúcares se pueden unir a (a) arginina e histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfidrilo libres tales como los de cisteína, (d) grupos hidroxilo libres tales como los de serina, treonina o hidroxiprolina, (e) residuos aromáticos como los de fenilalanina, tirosina o triptófano, o (f) el grupo amida de la glutamina. Estos métodos se describen en el documento WO 87/05330 publicado el 11 de septiembre de 1987 y en Aplin y Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., Pp. 259-306.

**[0130]** La eliminación de restos de carbohidratos presentes en la proteína de unión al antígeno de partida se puede realizar de manera química o enzimática. La desglicosilación química requiere la exposición de la proteína al compuesto ácido trifluorometanosulfónico o un compuesto equivalente. Este tratamiento da como resultado la escisión de la mayoría o todos los azúcares, excepto el azúcar de enlace (N-acetilglucosamina o N-acetylgalactosamina), mientras se deja el polipéptido intacto. La desglicosilación química está descrita por Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biofis 259: 52 y por Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118: 131. La escisión enzimática de restos de carbohidratos en polipéptidos se puede lograr mediante el uso de una variedad de endo y exo-glicosidasas como se describe por Thotakura et al., 1987, Meth. Enzymol. 138: 350. La glicosilación en los sitios potenciales de glucosilación se puede prevenir mediante el uso del compuesto tunicamicina como lo describen Duskin et al., 1982, J. Biol. Chem. 257: 3105. La tunicamicina bloquea la formación de enlaces proteína-N-glucósido.

**[0131]** Otro tipo de modificación covalente de la proteína de unión a antígeno comprende la unión del antígeno de la proteína de unión a diversos polímeros no proteicos, incluyendo, pero no limitado a, diversos polioles tales como polietilenglicol, polipropilenglicol o polioxialquilenos, de la manera establecida en la patente de EE.UU. N°s 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192 o 4.179.337. Además, como se conoce en la técnica, las sustituciones de aminoácidos pueden realizarse en diversas posiciones dentro de la proteína de unión a antígeno para facilitar la adición de polímeros tales como PEG.

**[0132]** En algunas realizaciones, la modificación covalente de las proteínas de la invención de unión a antígeno comprende la adición de una o más etiquetas.

**[0133]** El término "grupo de etiquetado" significa cualquier etiqueta detectable. Los ejemplos de grupos de etiquetado adecuados incluyen, entre otros, los siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>35</sup>S, <sup>90</sup>Y, <sup>99</sup>Tc, <sup>111</sup>In, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I), grupos fluorescentes (p. ej., FITC, rodamina, lantánidos fosfóricos), grupos enzimáticos (p. ej., peroxidasa de rábano picante, β-galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), grupos quimioluminiscentes, grupos de biotinilo o epítopenos polipeptídicos predeterminados reconocidos por un reportero secundario (p. ej., cremallera de leucina) secuencias de pares, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metales, etiquetas de epítopo). En algunas realizaciones, el grupo de marcaje está acoplado a la proteína de unión a antígeno mediante brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el potencial impedimento estérico. Se conocen diversos métodos para marcar proteínas en la técnica y se pueden usar para realizar la presente invención.

**[0134]** En general, los marcadores se clasifican en una variedad de clases, según el ensayo en el que se detectarán: a) marcadores isotópicos, que pueden ser isótopos radiactivos o pesados; b) etiquetas magnéticas (por ejemplo, partículas magnéticas); c) restos activos redox; d) colorantes ópticos; grupos enzimáticos (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, β-galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina); e) grupos biotinilados; y f) epítopenos de polipéptidos predeterminados reconocidos por un informador secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremalleras de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metales, etiquetas de epítopos, etc.). En algunas realizaciones, el grupo de marcaje está acoplado a la proteína de unión a antígeno mediante brazos espaciadores de varias longitudes para reducir el potencial impedimento estérico. Se conocen diversos métodos para marcar proteínas en la técnica y se pueden usar para realizar la presente invención.

**[0135]** Etiquetas específicas incluyen tintes ópticos, incluyendo, pero no limitado a, cromóforos, fósforos y fluoróforos, siendo estos últimos específicos en muchos casos. Los fluoróforos pueden ser fluorescentes de "molécula pequeña" o fluorescentes proteicos.

**[0136]** Por "etiqueta fluorescente" se entiende cualquier molécula que puede detectarse a través de sus propiedades fluorescentes inherentes. Los marcadores fluorescentes adecuados incluyen, pero no se limitan a, fluoresceína, rodamina, tetrametilrodamina, eosina, eritrosina, cumarina, metilo-cumarinas, pireno, malacita verde, estilbeno, Lucifer Yellow, Cascade BlueJ, Texas Red, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, LC Red 640, Cy 5, Cy 5.5, LC Red 705, Oregon Green, los colorantes Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633 Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), Cascade Blue, Cascade Yellow y R-fierieririna (PE) (Molecular Probes, Eugene, OR), FITC, Rhodamine y Texas Red (Pierce, Rockford, IL), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Pittsburgh, PA). Los colorantes ópticos adecuados, incluidos los fluoróforos, se describen en Molecular Probes Handbook de Richard P. Haugland.

5 [0137] Marcadores fluorescentes proteínicos adecuados también incluyen, pero no se limitan a, proteína verde fluorescente, incluyendo Renilla, Ptilosarcus, o especies de Aequorea de GFP (Chalfie et al, 1994, Science 263: 802-805), EGFP (Clontech Laboratorios, Inc., Número de Acceso Genbank U55762), proteína azul fluorescente (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8º piso, Montreal, Quebec, Canadá H3H 1J9; Stauber, 1998, Biotechniques 24: 462 -471; Heim et al., 1996, Curr. Biol. 6: 178-182), proteína fluorescente amarilla mejorada (EYFP, Clontech Laboratories, Inc.), luciferasa (Ichiki et al., 1993, J. Immunol. 150: 5408-5417), β galactosidasa (Nolan et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 85: 2603-2607) y Renilla (WO92/15673, WO95/07463, WO98/14605, WO98/26277, WO99/49019, patentes de EE.UU. N°s 5292658, 5418155, 5683888, 5741668, 5777079, 5804387, 5874304, 5876995, 5925558).

10 15 [0138] Las proteínas de unión a antígeno ejemplares descritas en el presente documento tienen propiedades basadas en el epítopo distinto en OSMR enlazado por la proteína de unión a antígeno. El término "epítopo" significa los aminoácidos de una molécula diana que se ponen en contacto con una proteína de unión a antígeno, por ejemplo, un anticuerpo, cuando la proteína de unión a antígeno está unida a la molécula diana. Un epítopo puede ser contiguo o no contiguo (por ejemplo, (i) en un polipéptido de cadena única, los residuos de aminoácidos que no son contiguos entre sí en la secuencia del polipéptido pero que dentro del contexto de la molécula diana están unidos por la proteína de unión a antígeno, o (ii) en un receptor multimérico que comprende dos o más componentes individuales, por ejemplo, OSMR y gp130 o OSMR y el receptor A de IL-31, los residuos de aminoácidos están presentes en uno o más de los componentes individuales pero aún están unidos por la proteína de unión al antígeno. Los determinantes del epítopo pueden incluir grupos de moléculas químicamente activas en la superficie, tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, grupos fosforilo o sulfonilo, y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características de carga específicas. Generalmente, proteínas de unión a antígeno específicas para una molécula diana particular reconocerán preferentemente un epítopo en la molécula diana en una mezcla compleja de proteínas y/o macromoléculas.

20 25 30 35 [0139] Los métodos para caracterizar el epítopo unido por una proteína de unión a antígeno son bien conocidos en la técnica, incluidos, entre otros, binning (competición cruzada) (Miller et al "Epitope binning of murine monoclonal antibodies by a multi-plexed pairing assay" J Immunol Methods (2011) 365, 118-25), mapeo de péptidos (p. ej., PEPSPOT™) (Albert et al "The B-cell Epitope of the Monoclonal Anti-Factor VIII Antibody ESH8 Characterized by Peptide Array Analysis" 2008 Thromb. Hemost. 99, 634-7), métodos de mutagénesis como quimeras (Song et al "Epitope Mapping of Ibalizumab, a Humanized Anti-CD4 Monoclonal Antibody with Anti-HIV-1 Activity in Infected Patients" J. Virol. (2010) 84, 6935-6942), escaneo de alanina (Cunningham and Wells "High-resolution epitope mapping of HGH-receptor interactions by alanine-scanning mutagenesis" Science (1989) 244, 1081-1085), escaneo de arginina (Lim et al "A diversity of antibody epitopes can induce signaling through the erythropoietin receptor" Biochemistry (2010) 49, 3797-3804), métodos de intercambio de HD (Coates et al "Epitope mapping by amide hydrogen/deuterium exchange coupled with immobilization of antibody, on-line proteolysis, liquid chromatography and mass spectrometry" Rapid Commun. Mass Spectrom. (2009) 23 639-647), métodos de saturación cruzada de RMN (Morgan et al "Precise epitope mapping of malaria parasite inhibitory antibodies by TROSY NMR cross-saturation" Biochemistry (2005) 44, 518-23) y cristalográfica (Gerhardt et al "Structure of IL-17A in complex with a potent, fully human neutralizing antibody" J. Mol. Biol (2009) 394, 905-21). Los métodos varían en el nivel de detalle que proporcionan en cuanto a los aminoácidos que comprenden el epítopo. El Ejemplo 4 proporciona un método ejemplar de agrupamiento de epítopos.

40 45 [0140] Las proteínas de unión al antígeno de la presente divulgación incluyen las que tienen un epítopo de solapamiento con una proteína de unión a antígeno ejemplar descrito en el presente documento, por ejemplo, Ab1, Ab2, o Ab3. En ciertas realizaciones, la proteína de unión a antígeno tiene un epítopo idéntico en cuanto a las proteínas de unión a antígeno ejemplares. En otras realizaciones, la proteína de unión a antígeno se une solo a un subconjunto de los mismos aminoácidos que la proteína de unión a antígeno ejemplar.

50 55 [0141] En ciertas realizaciones, la proteína de unión a antígeno OSMR tiene un epítopo idéntico o superposición como Ab1, Ab2, o Ab3, y comprende a) un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos 90% de identidad, una identidad de al menos el 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, o SEQ ID NO:29; b) un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos 90% de identidad, al menos 95% de identidad, o es idéntico a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, o SEQ ID NO:11; o c) el dominio variable de la cadena ligera de a) y el dominio variable de la cadena pesada de b).

60 65 [0142] En ciertas realizaciones, la proteína de unión al antígeno OSMR tiene un epítopo idéntico o superpuesto como Ab1, Ab2 o Ab3, y comprende un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos el 90%, al menos el 95%, o es idéntica al amino la secuencia ácida expuesta en la SEQ ID NO:27 y un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos el 90%, al menos el 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:9; aquellos que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos un 90%, al menos un 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:28 y un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos un 90%, al menos un 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:10; y aquellos que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos 90%, al menos 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:29 y un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos 90%, al menos 95%, o es idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ

ID NO:11.

**[0143]** En ciertas realizaciones, la proteína de unión al antígeno OSMR tiene un epítopo idéntico o superpuesto como Ab1, Ab2 o Ab3, y comprende a) un dominio variable de cadena ligera que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:28, o SEQ ID NO:29; b) un dominio variable de cadena pesada que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, o SEQ ID NO:11; o c) el dominio variable de la cadena ligera de a) y el dominio variable de la cadena pesada de b).

**[0144]** En ciertas realizaciones, la proteína de unión al antígeno OSMR tiene un epítopo idéntico o superpuesto como Ab1, Ab2 o Ab3, y comprende un dominio variable de cadena ligera que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:27 y un dominio variable de cadena pesada que no tiene más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:9; aquellos que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:28 y un dominio variable de cadena pesada que no tiene más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:10; y aquellos que comprenden un dominio variable de cadena ligera que tiene no más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:29 y un dominio variable de cadena pesada que no tiene más de diez o no más de cinco adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:11. Una variante ejemplar del dominio variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO:9 contiene un aminoácido distinto de la asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en la SEQ ID NO:9. La secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:53 es un ejemplo de una variante de dominio variable de cadena pesada de la SEQ ID NO:9. Una variante ejemplar del dominio variable de la cadena pesada de SEQ ID NO:10 contiene un aminoácido distinto de asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a la posición 73 en SEQ ID NO:10. La secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:54 es un ejemplo de una variante de dominio variable de cadena pesada de la SEQ ID NO:10.

**[0145]** En ciertas realizaciones, la proteína de unión al antígeno OSMR tiene un epítopo idéntico o superpuesto como Ab1, Ab2 o Ab3, y comprende un dominio variable de cadena ligera que comprende a) un LCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de la secuencia LCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:30; un LCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de LCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:33; y un LCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:36; b) un LCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:31; un LCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:34; y un LCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia de LCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:37; o c) un LCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia LCDR1 indicada en la SEQ ID NO:12; un HCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:18; e) un HCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:13; un HCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:16; y un HCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:19; o f) un HCDR1 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR1 expuesta en la SEQ ID NO:14; un HCDR2 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR2 expuesta en la SEQ ID NO:17; y un HCDR3 que no tiene más de tres adiciones, eliminaciones o sustituciones de aminoácidos de la secuencia HCDR3 expuesta en la SEQ ID NO:20.

**[0146]** Proteínas de unión a antígeno OSMR preferidas anteriormente descritas incluyen las que comprenden la cadena ligera del dominio variable de a) y la cadena pesada del dominio variable de d); aquellas que comprenden el dominio variable de cadena ligera de b) y el dominio variable de cadena pesada de e); y aquellas que comprenden el dominio variable de la cadena ligera de c) y el dominio variable de la cadena pesada de f). Las proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden el dominio variable de la cadena ligera de a) y el dominio variable de la cadena pesada de d) pueden opcionalmente contener un dominio variable de la cadena

pesada que comprende un aminoácido distinto de la asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a posición 73 en SEQ ID NO:9. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:53.

Las proteínas de unión al antígeno OSMR que comprenden el dominio variable de la cadena ligera de b) y el dominio variable de la cadena pesada de e) pueden contener opcionalmente un dominio variable de la cadena pesada que comprende un aminoácido distinto de la asparagina (por ejemplo, ácido aspártico) en la posición correspondiente a posición 73 en SEQ ID NO:10. En tales realizaciones, el dominio variable de cadena pesada comprende opcionalmente la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:54.

- 10 [0147] Las proteínas de unión a antígeno que tienen un epítopo idéntico o epítopo solapado a menudo competirán cruzadamente por la unión al antígeno. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, una proteína de unión a antígeno de la presente divulgación compite de forma cruzada con Ab1, Ab2 o Ab3. "Competencia cruzada" o "competir cruzadamente" significa que las proteínas de unión a antígeno compiten por el mismo epítopo o sitio de unión en un objetivo. Dicha competencia se puede determinar mediante un ensayo en el que la proteína de unión al antígeno de referencia (por ejemplo, el anticuerpo o su porción de unión al antígeno) previene o inhibe la unión específica de una proteína de unión al antígeno de prueba, y viceversa. Se pueden usar numerosos tipos de ensayos de unión competitiva para determinar si una molécula de prueba compite con una molécula de referencia para la unión. Los ejemplos de ensayos que pueden emplearse incluyen radioinmunoensayo directo o indirecto en fase sólida (RIA), inmunoensayo enzimático directo o indirecto en fase sólida (EIA), ensayo de competición en sándwich (véase, por ejemplo, Stahli et al. (1983) Methods in Enzymology 9: 242 -253), EIA de biotina-avidina directa en fase sólida (véase, por ejemplo, Kirkland et al., (1986) J. Immunol. 137: 3614-9), ensayo marcado directo en fase sólida, ensayo sándwich marcado directo en fase sólida, Luminex (Jia et al. "A novel method of Multiplexed Competitive Antibody Binning for the characterization of monoclonal antibodies" J. Immunological Methods (2004) 288, 91-98) y resonancia de plasmón de superficie (Song et al. "Epitope Mapping of Ibalizumab, a Humanized Anti-CD4 Monoclonal Antibody with Anti-HIV-1 Activity in Infected Patients" J. Virol. (2010) 84, 6935-42). En el Ejemplo 5 se describe un método exemplar para determinar la competencia cruzada. Generalmente, cuando una proteína de unión a antígeno competidor está presente en exceso, inhibirá la unión de una proteína de unión a antígeno de referencia a un antígeno común en al menos el 50%, 55%, 60%, 65%, 70% o 75%. En algunos casos, la unión se inhibe en al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o más.

#### Polinucleótidos que codifican las proteínas de unión al antígeno OSMR

[0148] En la presente descripción se incluyen ácidos nucleicos o ácidos nucleicos aislados que codifican proteínas de unión a antígeno OSMR, incluyendo anticuerpos, como se define en el presente documento. Los ácidos nucleicos preferidos incluyen aquellos que codifican las cadenas ligeras y pesadas ejemplares descritas en el presente documento.

[0149] Un ácido nucleico ejemplar que codifica Ab1 LC es un ácido nucleico que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:21.

[0150] Un ácido nucleico ejemplar que codifica Ab2 LC es un ácido nucleico que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:22.

[0151] Un ácido nucleico ejemplar que codifica Ab3 LC es un ácido nucleico que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:23.

[0152] Un ácido nucleico ejemplar que codifica Ab1 HC es un ácido nucleico que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:3.

[0153] Un ácido nucleico ejemplar que codifica Ab2 HC es un ácido nucleico que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:4.

[0154] Un ácido nucleico ejemplar que codifica Ab3 HC es un ácido nucleico que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:5. Un ejemplo de ácido nucleico que codifica una variante Ab1 HC es un ácido nucleico que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:47. Un ejemplo de ácido nucleico que codifica una variante Ab2 HC es un ácido nucleico que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:48. Un ejemplo de ácido nucleico que codifica una variante Ab3 HC es un ácido nucleico que comprende la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:49.

[0155] Los aspectos de la presente divulgación incluyen variantes de polinucleótidos (por ejemplo, debido a la degeneración) que codifican las secuencias de aminoácidos descritas en el presente documento.

[0156] Los aspectos de la presente divulgación incluyen una variedad de realizaciones que incluyen, pero no se limitan a, las siguientes realizaciones ejemplares.

- 65 [0157] Un ácido nucleico aislado que comprende un polinucleótido, en el que dicho polinucleótido codifica uno o más polipéptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:

A.

5 1. una secuencia de dominio variable de cadena ligera que es al menos un 90% idéntica a una secuencia de dominio variable de cadena ligera establecida en la SEQ ID NO:27-29;

10 2. una secuencia de dominio variable de cadena pesada que es al menos un 90% idéntica a una secuencia de dominio variable de cadena pesada establecida en la SEQ ID NO:9-11;

15 3. un dominio variable de cadena ligera de (1) y un dominio variable de cadena pesada de (2);

10 B. un dominio variable de cadena ligera que comprende un CDR1, CDR2, CDR3 y/o un dominio variable de cadena pesada que comprende un CDR1, CDR2, CDR3 que son iguales o difieren en no más de un total de tres adiciones, sustituciones y/o eliminaciones de aminoácidos en cada CDR de las siguientes secuencias:

15 1. una cadena ligera CDR1 (SEQ ID NO:30), CDR2 (SEQ ID NO:33), CDR3 (SEQ ID NO:36) o una cadena pesada CDR1 (SEQ ID NO:12), CDR2 (SEQ ID NO:15), CDR3 (SEQ ID NO:18) de Ab1;

20 2. una cadena ligera CDR1 (SEQ ID NO:31), CDR2 (SEQ ID NO:34), CDR3 (SEQ ID NO:37) o una cadena pesada CDR1 (SEQ ID NO:13), CDR2 (SEQ ID NO:16), CDR3 (SEQ ID NO:19) de Ab2; y

25 3. una cadena ligera CDR1 (SEQ ID NO:32), CDR2 (SEQ ID NO:35), CDR3 (SEQ ID NO:38) o una cadena pesada CDR1 (SEQ ID NO:14), CDR2 (SEQ ID NO:17), CDR3 (SEQ ID NO:20) de Ab3.

25 En algunas realizaciones, el ácido nucleico codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:53 o la SEQ ID NO:54.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico codifica un polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:50, la SEQ ID NO:51 o la SEQ ID NO:52.

30 [0158] En realizaciones preferidas, el polipéptido codificado por el ácido nucleico o el ácido nucleico aislado es un componente de una proteína de unión a antígeno que se une OSMR.

35 [0159] Las secuencias de nucleótidos correspondientes a las secuencias de aminoácidos descritas en el presente documento, para ser utilizadas como sondas o cebadores para el aislamiento de ácidos nucleicos o como secuencias de consulta para búsquedas en bases de datos, pueden obtenerse mediante una "traducción inversa" de las secuencias de aminoácidos o por identificación de regiones de identidad de aminoácidos con polipéptidos para los cuales se ha identificado la secuencia de ADN codificador. El procedimiento bien conocido de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se puede emplear para aislar y amplificar una secuencia de ADN que codifica proteínas de unión a antígeno OSMR o una combinación deseada de fragmentos de polipéptido de proteína de unión a antígeno OSMR. Los oligonucleótidos que definen los términos deseados de la combinación de fragmentos de ADN se emplean como cebadores 5' y 3'. Los oligonucleótidos pueden contener adicionalmente sitios de reconocimiento para endonucleasas de restricción, para facilitar la inserción de la combinación amplificada de fragmentos de ADN en un vector de expresión. Las técnicas de PCR se describen en Saiki et al., Science 239: 487 (1988); Metodología del ADN recombinante, Wu et al., Eds., Academic Press, Inc., San Diego (1989), pp. 189-196; y PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis et. al., eds., Academic Press, Inc. (1990).

45 [0160] Las moléculas de ácido nucleico de la invención incluyen ADN y ARN tanto en forma de cadena única como de doble cadena, así como las correspondientes secuencias complementarias. El ADN incluye, por ejemplo, ADNc, ADN genómico, ADN sintetizado químicamente, ADN amplificado por PCR y combinaciones de los mismos. Las moléculas de ácido nucleico de la invención incluyen genes de longitud completa o moléculas de ADNc, así como una combinación de fragmentos de los mismos. Los ácidos nucleicos de la invención se derivan preferentemente de fuentes humanas, pero la invención incluye también los derivados de especies no humanas.

55 [0161] En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos de la invención son ácidos nucleicos aislados. Un "ácido nucleico aislado" es un ácido nucleico que se ha separado de las secuencias genéticas adyacentes presentes en el genoma del organismo a partir del cual se aisló el ácido nucleico, en el caso de ácidos nucleicos aislados de fuentes naturales. En el caso de ácidos nucleicos sintetizados enzimáticamente a partir de una plantilla o químicamente, tales como productos de PCR, moléculas de ADNc u oligonucleótidos, por ejemplo, se entiende que los ácidos nucleicos resultantes de tales procesos son ácidos nucleicos aislados. Una molécula de ácido nucleico aislada se refiere a una molécula de ácido nucleico en forma de un fragmento separado o como un componente de una construcción de ácido nucleico más grande. En una realización preferida, los ácidos nucleicos están sustancialmente libres de material endógeno contaminante. La molécula de ácido nucleico se ha derivado preferiblemente de ADN o ARN aislado al menos una vez en forma sustancialmente pura y en una cantidad o concentración que permite la identificación, manipulación y recuperación de sus secuencias de nucleótidos componentes mediante métodos bioquímicos estándar (como los descritos en Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2<sup>a</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989)). Dichas secuencias se proporcionan y/o construyen preferiblemente en forma de un marco de lectura abierto no interrumpido por secuencias internas no traducidas, o

intrones, que típicamente están presentes en los genes eucarióticos. Las secuencias de ADN no traducido pueden estar presentes en 5' o 3' desde un marco de lectura abierto, donde las mismas no interfieren con la manipulación o la expresión de la región de codificación.

5 [0162] La presente descripción también incluye ácidos nucleicos o ácidos nucleicos aislados que hibridan en condiciones moderadamente rigurosas, y más preferiblemente condiciones altamente rigurosas, a los ácidos nucleicos que codifican proteínas de unión al antígeno OSMR como se describe aquí. Sambrook, Fritsch y Maniatis (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, capítulos 9 y 11, y Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., secciones 2.10 y 6.3-6.4), y pueden determinarse fácilmente por los expertos en la técnica. En, por ejemplo, la longitud y/o composición de la base del ADN. Una forma de lograr condiciones moderadamente estrictas implica el uso de una solución de prelavado que contenga 5 x SSC, 0,5% SDS, 1,0 mM EDTA (pH 8,0), tampón de hibridación de aproximadamente 50% de formamida, 6 x SSC y una temperatura de hibridación de aproximadamente 55 grados C (u otras soluciones de hibridación similares, como una que contiene aproximadamente 50% de formamida, con una temperatura de hibridación de alrededor de 42 grados C) y condiciones de lavado de alrededor de 60 grados C, en 0,5 x SSC, 0,1% SDS. En general, las condiciones altamente rigurosas se definen como condiciones de hibridación como las anteriores, pero con un lavado a aproximadamente 68 grados C, 0,2 x SSC, SDS al 0,1%. SSPE (1xSSPE es 0,15 M NaCl, 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y 1,25 mM EDTA, pH 7,4) puede ser sustituido por SSC (1xSSC es 0,15 M NaCl y 15 mM citrato sódico) en la hibridación y lavar los tampones; los lavados se realizan durante 15 minutos después de que se completa la hibridación. Debe entenderse que la temperatura de lavado y la concentración de la sal de lavado se pueden ajustar según sea necesario para lograr un grado de rigurosidad deseado aplicando los principios básicos que gobiernan las reacciones de hibridación y la estabilidad dúplex, tal como conocen los expertos en la técnica y se describen más adelante (véase, por ejemplo, Sambrook et al., 1989). Cuando se hibrida un ácido nucleico con un ácido nucleico diana de secuencia desconocida, se supone que la longitud del híbrido es la del ácido nucleico hibridante. Cuando se hibridan ácidos nucleicos de secuencia conocida, la longitud del híbrido se puede determinar alineando las secuencias de los ácidos nucleicos e identificando la región o regiones de complementariedad de secuencia óptima. La temperatura de hibridación para los híbridos que se anticipa que tendrá menos de 50 pares de bases de longitud debe ser de 5 a 10°C menos que la temperatura de fusión (T<sub>m</sub>) del híbrido, donde la T<sub>m</sub> se determina de acuerdo con las siguientes ecuaciones. Para híbridos de menos de 18 pares de bases de longitud, T<sub>m</sub> (grados C) = 2(# de bases A + T) + 4 (# de bases #G + C). Para híbridos de más de 18 pares de bases de longitud, T<sub>m</sub> (grados C) = 81,5 + 16,6 (log<sub>10</sub> [Na<sup>+</sup>]) + 0,41 (% G + C) - (600/N), donde N es el número de bases en el híbrido, y [Na<sup>+</sup>] es la concentración de iones de sodio en el tampón de hibridación ([Na<sup>+</sup>] para 1xSSC = 0,165M). Preferiblemente, cada uno de dichos ácidos nucleicos hibridantes tiene una longitud de al menos 15 Nucleótidos (o más preferiblemente al menos 18 nucleótidos, o al menos 20 nucleótidos, o al menos 25 nucleótidos, o al menos 30 nucleótidos, o al menos 40 nucleótidos, o lo más preferiblemente al menos 50 nucleótidos), o al menos el 25% (más preferiblemente al menos el 50%, o al menos el 60%, o al menos el 70%, y lo más preferiblemente al menos el 80%) de la longitud del ácido nucleico de la presente divulgación a la que hibrida, y tiene al menos un 60% de identidad de secuencia (más preferiblemente al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 81%, al menos un 82%, al menos un 83%, al menos 84%, al menos 85%, al menos 86%, al menos 87%, al menos 88%, al menos 89%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos el 99%, y lo más preferiblemente al menos el 99,5% con el ácido nucleico de la presente invención con el que hibrida, donde la identidad de secuencia se determina al comparar las secuencias de los ácidos nucleicos que se hibridan cuando se alinean para maximizar la superposición y la identidad, al tiempo que se minimizan las brechas de secuencia como se describe con más detalle anteriormente.

50 [0163] Las variantes de acuerdo con la invención se preparan normalmente por mutagénesis específica de sitio de nucleótidos en el ADN que codifica la proteína de unión al antígeno, el uso de cassette o mutagénesis por PCR u otras técnicas bien conocidas en la técnica, para producir ADN que codifica la variante, y a partir de entonces expresando el ADN recombinante en cultivo celular como se describe aquí. Sin embargo, los fragmentos de proteínas de unión a antígeno que comprenden CDR variantes que tienen hasta aproximadamente 100-150 residuos pueden prepararse por síntesis *in vitro* utilizando técnicas establecidas. Las variantes exhiben típicamente la misma actividad biológica cualitativa que el análogo natural, por ejemplo, la unión a OSMR, aunque también se pueden seleccionar variantes que tengan características modificadas, como se describirá más detalladamente a continuación.

60 [0164] Como se apreciará por aquellos en la técnica, debido a la degeneración del código genético, un número extremadamente grande de ácidos nucleicos puede estar hecho, todos los cuales codifican las CDR (y las cadenas pesadas y ligeras u otros componentes de la proteína de unión al antígeno) de la presente invención. Por lo tanto, habiendo identificado una secuencia de aminoácidos particular, los expertos en la técnica podrían producir cualquier número de ácidos nucleicos diferentes, simplemente modificando la secuencia de uno o más codones de una manera que no cambie la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada.

65 [0165] La presente invención también proporciona sistemas de expresión y las construcciones en forma de plásmidos, vectores de expresión, de la transcripción o cassetes de expresión que comprenden al menos un polinucleótido como anteriormente. Además, la invención proporciona células huésped que comprenden tales

sistemas de expresión o construcciones.

**[0166]** Típicamente, los vectores de expresión usados en cualquiera de las células huésped contendrán secuencias para el mantenimiento del plásmido y para la clonación y expresión de secuencias de nucleótidos exógenas. Dichas secuencias, denominadas colectivamente como "secuencias flanqueantes" en ciertas realizaciones, incluirán típicamente una o más de las siguientes secuencias de nucleótidos: un promotor, una o más secuencias potenciadoras, un origen de replicación, una secuencia de terminación transcripcional, una secuencia completa de intrones que contiene un sitio de empalme donador y aceptor, una secuencia que codifica una secuencia líder para la secreción de polipéptidos, un sitio de unión a ribosoma, una secuencia de poliadenilación, una región de poliligador para insertar el ácido nucleico que codifica el polipéptido a expresar y un elemento marcador seleccionable. Cada una de estas secuencias se discute a continuación.

**[0167]** Opcionalmente, el vector puede contener una secuencia codificante de "etiqueta", es decir, una molécula de oligonucleótido ubicada en el extremo 5' o 3' de la secuencia de codificación de proteína de unión a antígeno OSMR; la secuencia de oligonucleótidos codifica poliHis (como hexaHis), u otra "etiqueta" como FLAG, HA (virus de la influenza hemaglutinina) o myc, para la cual existen anticuerpos disponibles comercialmente. Esta etiqueta se fusiona típicamente con el polipéptido tras la expresión del polipéptido, y puede servir como un medio para la purificación por afinidad o la detección de la proteína de unión al antígeno OSMR de la célula huésped. La purificación por afinidad se puede lograr, por ejemplo, mediante cromatografía en columna usando anticuerpos contra la etiqueta como una matriz de afinidad. Opcionalmente, la etiqueta puede eliminarse posteriormente de la proteína de unión al antígeno OSMR purificada por diversos medios, como el uso de ciertas peptidasas para la escisión.

**[0168]** Las secuencias flanqueantes pueden ser homólogas (es decir, de la misma especie y/o cepa que la célula huésped), heterólogas (es decir, de una especie distinta de la especie o cepa de la célula huésped), híbridas (es decir, una combinación de flancos), secuencias de más de una fuente), sintéticas o nativas. Como tal, la fuente de una secuencia flanqueante puede ser cualquier organismo procariótico o eucariótico, cualquier organismo vertebrado o invertebrado, o cualquier planta, siempre que la secuencia flanqueante sea funcional y pueda ser activada por la maquinaria de la célula huésped.

**[0169]** Las secuencias flanqueantes útiles en los vectores de esta invención pueden obtenerse por cualquiera de varios métodos bien conocidos en la técnica. Típicamente, las secuencias flanqueantes útiles en el presente documento se habrán identificado previamente mediante mapeo y/o mediante digestión con endonucleasas de restricción y, por lo tanto, se pueden aislar de la fuente de tejido adecuada utilizando las endonucleasas de restricción apropiadas. En algunos casos, la secuencia de nucleótidos completa de una secuencia flanqueante puede ser conocida. Aquí, la secuencia de flanqueo se puede sintetizar usando los métodos descritos aquí para la síntesis o clonación de ácidos nucleicos.

**[0170]** Si se conoce toda o sólo una parte de la secuencia flanqueante, puede obtenerse usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y/o mediante el cribado de una biblioteca genómica con una sonda adecuada, tal como un oligonucleótido y/o fragmento de secuencia flanqueante de la misma u otra especie. Cuando la secuencia flanqueante no se conoce, un fragmento de ADN que contiene una secuencia flanqueante puede aislarse de una pieza más grande de ADN que puede contener, por ejemplo, una secuencia codificante o incluso otro gen o genes. El aislamiento se puede lograr mediante digestión con endonucleasas de restricción para producir el fragmento de ADN adecuado, seguido de un aislamiento con purificación en gel de agarosa, cromatografía en columna Qiagen® (Chatsworth, CA), u otros métodos conocidos por los expertos en la técnica. La selección de enzimas adecuadas para lograr este propósito será fácilmente evidente para un experto en la técnica.

**[0171]** Un origen de replicación es típicamente una parte de aquellos vectores de expresión procariotas adquiridos comercialmente, y las ayudas de origen en la amplificación del vector en una célula huésped. Si el vector de elección no contiene un origen de sitio de replicación, uno puede sintetizarse químicamente basándose en una secuencia conocida y ligarse en el vector. Por ejemplo, el origen de la replicación del plásmido pBR322 (New England Biolabs, Beverly, MA) es adecuado para la mayoría de las bacterias gramnegativas y varios orígenes virales (por ejemplo, SV40, poliomavirus, virus de la vesícula estomática (VSV), o los papilomavirus, como el VPH o el VAP, son útiles para clonar vectores en células de mamíferos. En general, el origen del componente de replicación no es necesario para los vectores de expresión de mamíferos (por ejemplo, el origen de SV40 a menudo se usa solo porque también contiene el promotor temprano del virus).

**[0172]** Una secuencia de terminación de la transcripción se localiza típicamente 3' al extremo de una región codificante de polipéptido y sirve para terminar la transcripción. Normalmente, una secuencia de terminación de la transcripción en células procariotas es un fragmento rico en GC seguido de una secuencia poli-T. Si bien la secuencia se puede clonar fácilmente de una biblioteca o incluso comprarse comercialmente como parte de un vector, también se puede sintetizar fácilmente usando métodos para la síntesis de ácidos nucleicos, como los descritos en este documento.

**[0173]** Un gen marcador seleccionable codifica una proteína necesaria para la supervivencia y crecimiento de una

célula huésped cultivada en un medio de cultivo selectivo. Los genes marcadores de selección típicos codifican proteínas que (a) confieren resistencia a los antibióticos u otras toxinas, por ejemplo, ampicilina, tetraciclina o kanamicina para células huésped procariotas; (b) complementar las deficiencias auxotróficas de la célula; o (c) suministrar nutrientes críticos no disponibles en medios complejos o definidos. Los marcadores seleccionables específicos son el gen de resistencia a la kanamicina, el gen de resistencia a la ampicilina y el gen de resistencia a la tetraciclina. Ventajosamente, también se puede usar un gen de resistencia a la neomicina para la selección en células huésped tanto procariotas como eucariotas.

**[0174]** Otros genes seleccionables pueden ser usados para amplificar el gen que será expresado. La amplificación es el proceso en el que los genes que se requieren para la producción de una proteína crítica para el crecimiento o la supervivencia celular se reiteran en tandem dentro de los cromosomas de generaciones sucesivas de células recombinantes. Los ejemplos de marcadores seleccionables adecuados para células de mamífero incluyen reductasa de dihidrofolato (DHFR) y genes de timidina quinasa sin promotor. Los transformantes de células de mamífero se colocan bajo presión de selección, en la que solo los transformantes están adaptados únicamente para sobrevivir en virtud del gen seleccionable presente en el vector. La presión de selección se impone cultivando las células transformadas en condiciones en las que la concentración del agente de selección en el medio aumenta sucesivamente, lo que lleva a la amplificación tanto del gen seleccionable como del ADN que codifica otro gen, como un anticuerpo de proteína de unión a antígeno que se une al polipéptido OSMR. Como resultado, se sintetizan a partir del ADN amplificado mayores cantidades de un polipéptido, como una proteína de unión al antígeno OSMR.

**[0175]** Un sitio de unión a ribosomas es generalmente necesario para la iniciación de traducción de mRNA y se caracteriza por una secuencia Shine-Dalgarno (procariotas) o una secuencia Kozak (eucariotas). El elemento se encuentra típicamente en 3' con respecto al promotor y 5' con respecto a la secuencia de codificación del polipéptido a expresar. En ciertas realizaciones, una o más regiones codificantes pueden estar unidas operativamente a un sitio de unión a ribosoma interno (IRES), permitiendo la traducción de dos marcos de lectura abiertos de una sola transcripción de ARN.

**[0176]** En algunos casos, como cuando se desea la glicosilación en un sistema de expresión de la célula huésped eucariótica, se pueden manipular las diversas presecuencias o prosecuencias para mejorar la glicosilación o el rendimiento. Por ejemplo, uno puede alterar el sitio de escisión de la peptidasa de un péptido señal particular, o agregar secuencias, que también pueden afectar la glicosilación. El producto de proteína final puede tener, en la posición -1 (en relación con el primer aminoácido de la proteína madura) uno o más aminoácidos adicionales relacionados con la expresión, que pueden no haber sido totalmente eliminados. Por ejemplo, el producto proteico final puede tener uno o dos residuos de aminoácidos encontrados en el sitio de escisión de la peptidasa, unido al término amino. Alternativamente, el uso de algunos sitios de escisión enzimática puede resultar en una forma ligeramente truncada del polipéptido deseado, si la enzima corta en dicha área dentro del polipéptido maduro.

**[0177]** Los vectores de expresión y clonación de la invención típicamente contendrán un promotor que es reconocido por el organismo huésped y está unido operativamente a la molécula que codifica la proteína de unión al antígeno OSMR. Los promotores son secuencias no transcritas ubicadas aguas arriba (es decir, 5') al codón de inicio de un gen estructural (generalmente dentro de aproximadamente 100 a 1000 pb) que controlan la transcripción del gen estructural. Los promotores se agrupan convencionalmente en una de dos clases: promotores inducibles y promotores constitutivos. Los promotores inducibles inician mayores niveles de transcripción del ADN bajo su control en respuesta a algún cambio en las condiciones de cultivo, como la presencia o ausencia de un nutriente o un cambio en la temperatura. Los promotores constitutivos, por otro lado, transcriben uniformemente el gen al que están operativamente vinculados, es decir, con poco o ningún control sobre la expresión génica. Un gran número de promotores, reconocidos por una variedad de células hospedadoras potenciales, son bien conocidos. Un promotor adecuado está unido operativamente al ADN que codifica la cadena pesada o ligera que comprende una proteína de unión a antígeno OSMR de la invención eliminando el promotor del ADN fuente mediante digestión con enzimas de restricción e insertando la secuencia promotora deseada en el vector.

**[0178]** Los promotores adecuados para uso con huéspedes de levadura también son bien conocidos en la técnica. Los potenciadores de levadura se usan ventajosamente con promotores de levadura. Los promotores adecuados para uso con células huésped de mamíferos son bien conocidos e incluyen, entre otros, los obtenidos de genomas de virus como el virus del poliomielitis, el virus de la viruela aviar, el adenovirus (como el adenovirus 2), el virus del papiloma bovino y el virus del sarcoma aviar, citomegalovirus, retrovirus, virus de la hepatitis B y, lo más preferible, virus de simio 40 (SV40). Otros promotores de mamíferos adecuados incluyen promotores de mamíferos heterólogos, por ejemplo, promotores de choque térmico y el promotor de actina.

**[0179]** Los promotores adicionales que pueden ser de interés incluyen, pero no se limitan a: promotor temprano de SV40 (Benoist et al., 1981, Nature 290: 304-310); Promotor de CMV (Thomsen et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 81: 659-663); el promotor contenido en la repetición terminal larga 3' del virus del sarcoma de Rous (Yamamoto et al., 1980, Cell 22: 787-797); promotor del herpes timidina quinasa (Wagner et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 78: 1444-1445); promotor y secuencias reguladoras del gen de la metalotionina Prinster et al., 1982, Nature 296: 39-42); y promotores procarióticos tales como el promotor de beta-lactamasa (Villa-Kamaroff et al., 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 75: 3727-3731); o el promotor tac (DeBoer et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 80: 21-

25). También son de interés las siguientes regiones de control de la transcripción animal, que exhiben especificidad de tejido y se han utilizado en animales transgénicos: la región de control del gen de la elastasa I que es activa en células acinares pancreáticas (Swift et al., 1984, Cell 38: 639-646 Ornitz y otros, 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50: 399-409; MacDonald, 1987, Hepatology 7: 425-515); la región de control del gen de la insulina que es activa en las células beta pancreáticas (Hanahan, 1985, Nature 315: 115-122); la región de control del gen de la inmunoglobulina que es activa en las células linfoides (Grosschedl et al., 1984, Cell 38: 647-658; Adames et al., 1985, Nature 318: 533-538; Alexander et al., 1987, Mol. Cell Biol. 7: 1436-1444); la región de control del virus del tumor mamario de ratón que es activa en las células testiculares, mamarias, linfoides y mastocitos (Leder et al., 1986, Cell 45: 485-495); la región de control del gen de la albúmina que es activa en el hígado (Pinkert et al., 1987, Genes and Devel. 1: 268-276); la región de control del gen de la alfa-feto-proteína que está activa en el hígado (Krumlauf et al., 1985, Mol. Cell. Biol. 5: 1639-1648; Hammer et al., 1987, Science 253: 53-58); la región de control del gen de la alfa-1-antitripsina que está activa en el hígado (Kelsey et al., 1987, Genes and Devel. 1: 161-171); la región de control del gen de la beta-globina que está activa en las células mieloides (Mogram et al., 1985, Nature 315: 338-340; Kollias et al., 1986, Cell 46: 89-94); la región de control del gen de la proteína básica de la mielina que es activa en las células de oligodendrocitos en el cerebro (Readhead et al., 1987, Cell 48: 703-712); la región de control del gen de la cadena ligera-2 de la miosina que está activa en el músculo esquelético (Sani, 1985, Nature 314: 283-286); y la región de control del gen de la hormona liberadora gonadotrópica que está activa en el hipotálamo (Mason et al., 1986, Science 234: 1372-1378).

- 20 [0180] Una secuencia de intensificador puede insertarse en el vector para aumentar la transcripción de la cadena ligera de ADN que codifica o de la cadena pesada que comprende una proteína de unión a antígeno OSMR de la invención por eucariotas superiores. Los potenciadores son elementos del ADN que actúan en cis, generalmente de aproximadamente 10-300 pb de longitud, que actúan sobre el promotor para aumentar la transcripción. Los potenciadores son relativamente independientes de la orientación y la posición, y se han encontrado en las posiciones 5' y 3' de la unidad de transcripción. Se conocen varias secuencias potenciadoras disponibles de genes de mamíferos (p. ej., globina, elastasa, albúmina, alfa-feto-proteína e insulina). Típicamente, sin embargo, se usa un potenciador de un virus. El potenciador de SV40, el potenciador del promotor temprano de citomegalovirus, el potenciador de polioma y los potenciadores de adenovirus conocidos en la técnica son elementos potenciadores ejemplares para la activación de promotores eucarióticos. Mientras que un potenciador puede posicionarse en el vector 5' o 3' a una secuencia de codificación, típicamente se ubica en un sitio 5' desde el promotor. Se puede incorporar una secuencia que codifica una secuencia señal nativa o heteróloga apropiada (secuencia líder o péptido señal) en un vector de expresión, para promover la secreción extracelular del anticuerpo. La elección del péptido o líder de señal depende del tipo de células huésped en las que se producirá el anticuerpo, y una secuencia de señal heteróloga puede reemplazar la secuencia de señal nativa. Los ejemplos de péptidos de señal que son funcionales en células huésped de mamíferos incluyen los siguientes: la secuencia de señal para la interleucina-7 (IL-7) descrita en la Patente de EE.UU. Nº 4.965.195; la secuencia señal para el receptor de interleucina-2 descrita en Cosman et al., 1984, Nature 312: 768; el péptido señal del receptor de interleucina-4 descrito en la Patente EP Nº 0367 566; el péptido señal del receptor de interleucina 1 de tipo I descrito en la patente de EE.UU. Nº 4.968.607; el péptido señal del receptor de interleucina-1 tipo II descrito en la Patente EP Nº 0 460 846.
- 40 [0181] El vector puede contener uno o más elementos que facilitan la expresión cuando el vector se integra en el genoma de la célula huésped. Los ejemplos incluyen un elemento EASE (Aldrich et al. 2003 Biotechnol Prog. 19: 1433-38) y una región de unión a la matriz (MAR). Los MAR median la organización estructural de la cromatina y pueden aislar el efecto de "posición" del vector integrado. Por lo tanto, los MAR son particularmente útiles cuando el vector se utiliza para crear transfectantes estables. Se conocen en la técnica varios ácidos nucleicos naturales y sintéticos que contienen MAR, por ejemplo, la patente de EE.UU. Nº 6.239.328; 7.326.567; 6.177.612; 6.388.066; 6.245.974; 7.259.010; 6.037.525; 7.422.874; 7.129.062.
- 50 [0182] Los vectores de expresión de la invención pueden construirse a partir de un vector de inicio tal como un vector disponible comercialmente. Tales vectores pueden o no contener todas las secuencias flanqueantes deseadas. Cuando una o más de las secuencias flanqueantes descritas en el presente documento no están ya presentes en el vector, pueden obtenerse individualmente y ligarse en el vector. Los métodos utilizados para obtener cada una de las secuencias flanqueantes son bien conocidos por los expertos en la técnica.
- 55 [0183] Después de que se haya construido el vector y se haya insertado una molécula de ácido nucleico que codifica una cadena ligera, una cadena pesada o una cadena ligera y una cadena pesada que comprende una secuencia de unión al antígeno OSMR en el sitio apropiado del vector, el vector completado puede insertarse en una célula huésped adecuada para la amplificación y/o expresión de polipéptidos. La transformación de un vector de expresión para una proteína de unión al antígeno OSMR en una célula hospedadora seleccionada se puede realizar mediante métodos bien conocidos que incluyen transfección, infección, coprecipitación con fosfato de calcio, electroporación, microinyección, lipofección, transfección mediada por DEAE-dextrano u otras técnicas conocidas. El método seleccionado será en parte una función del tipo de célula huésped que se utilizará. Estos métodos y otros métodos adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica, y se exponen, por ejemplo, en Sambrook et al., 2001, *supra*.
- 65 [0184] Una célula huésped, cuando se cultiva en condiciones apropiadas, sintetiza una proteína de unión a antígeno

OSMR que puede recogerse posteriormente del medio de cultivo (si la célula huésped lo secreta al medio) o directamente de la célula huésped que la produce (si no se secreta). La selección de una célula huésped apropiada dependerá de varios factores, como los niveles de expresión deseados, las modificaciones de polipéptidos que son deseables o necesarias para la actividad (como la glucosilación o la fosforilación) y la facilidad de plegamiento en una molécula biológicamente activa. Una célula huésped puede ser eucariótica o procariótica.

**[0185]** Líneas celulares de mamífero disponibles como huéspedes para expresión son bien conocidas en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, líneas celulares inmortalizadas disponibles de la American Type Culture Collection (ATCC) y las líneas celulares utilizadas en un sistema de expresión conocido en la técnica se puede usar para hacer los polipéptidos recombinantes de la invención. En general, las células huésped se transforman con un vector de expresión recombinante que comprende ADN que codifica un polipéptido de anticuerpo anti-OSMR deseado. Entre las células huésped que pueden emplearse se encuentran procariotas, levaduras o células eucariotas superiores. Los procariotas incluyen organismos gram negativos o gram positivos, por ejemplo, *E. coli* o bacilos. Las células eucariotas superiores incluyen células de insecto y líneas celulares establecidas de origen mamífero. Los ejemplos de líneas celulares hospedadoras de mamíferos adecuadas incluyen la línea COS-7 de células de riñón de mono (ATCC CRL 1651) (Gluzman et al., 1981, Cell 23: 175), células L, células 293, células C127, células 3T3 (ATCC CCL 163), células de ovario de hámster chino (CHO), o sus derivados como Veggie CHO y líneas celulares relacionadas que crecen en medios sin suero (Rasmussen et al., 1998, Cytotechnology 28: 31), células HeLa, líneas celulares BHK (ATCC CRL 10), y la línea celular CVI/EBNA derivada de la línea celular CVI (ATCC CCL 70) de riñón de mono verde africano como se describe por McMahan et al., 1991, EMBO J. 10: 2821, células de riñón embrionario humano tales como 293, 293 EBNA o MSR 293, células A431 epidérmicas humanas, células Colo205 humanas, otras líneas celulares de primate transformadas, células diploides normales, cepas celulares derivadas de cultivo *in vitro* de tejido primario, explantes primarios, HL-60, U937, HaK o Jurkat Células. Opcionalmente, se pueden usar líneas celulares de mamíferos tales como HepG2/3B, KB, NIH 3T3 o S49, por ejemplo, para la expresión del polipéptido cuando es deseable usar el polipéptido en diversos ensayos de transducción de señales o indicadores. Alternativamente, es posible producir el polipéptido en eucariotas inferiores, como la levadura, o en procariotas, como las bacterias. Las levaduras adecuadas incluyen *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, cepas de *Kluyveromyces*, *Candida*, o cualquier cepa de levadura capaz de expresar polipéptidos heterólogos. Las cepas bacterianas adecuadas incluyen *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, o cualquier cepa bacteriana capaz de expresar polipéptidos heterólogos. Si el polipéptido se fabrica en levaduras o bacterias, puede ser conveniente modificar el polipéptido producido en él, por ejemplo, por fosforilación o glicosilación de los sitios apropiados, con el fin de obtener el polipéptido funcional. Tales uniones covalentes se pueden lograr utilizando métodos químicos o enzimáticos conocidos. El polipéptido también puede producirse uniendo operativamente el ácido nucleico o el ácido nucleico aislado de la invención a secuencias de control adecuadas en uno o más vectores de expresión de insectos, y empleando un sistema de expresión de insectos. Los materiales y métodos para los sistemas de expresión de células de baculovirus/insecto están disponibles comercialmente en forma de kit de, por ejemplo, Invitrogen, San Diego, CA, EE.UU. (el kit MaxBac®), y dichos métodos son bien conocidos en la técnica, como se describe en Summers y Smith, Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555 (1987), y Luckow and Summers, Bio/Technology 6:47 (1988). Los sistemas de traducción libres de células también podrían emplearse para producir polipéptidos utilizando ARN derivados de construcciones de ácido nucleico descritas en el presente documento. Los vectores de clonación y expresión apropiados para uso con huéspedes celulares bacterianas, fúngicas, de levadura y de mamíferos se describen por Pouwels et al. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, Nueva York, 1985). Una célula huésped que comprende un ácido nucleico o un ácido nucleico aislado de la invención, preferiblemente unida operativamente a al menos una secuencia de control de expresión, es una "célula huésped recombinante".

**[0186]** En ciertas realizaciones, las líneas celulares se pueden seleccionar a través de la determinación de qué líneas celulares tienen altos niveles de expresión y constitutivamente producir proteínas de unión a antígenos con propiedades de unión OSMR. En otra realización, puede seleccionarse una línea celular del linaje de células B que no fabrica su propio anticuerpo pero tiene la capacidad de producir y secretar un anticuerpo heterólogo.

#### **Proteínas de unión al antígeno OSMR que agotan las células**

**[0187]** En realizaciones preferidas, la proteína de unión a antígeno OSMR se une OSMR e inhibe la OSM y/o de unión IL-31, lo que reduce OSM- y/o la señalización mediada por IL-31 en células de expresión de OSMR. Sin embargo, en ciertas realizaciones, la proteína de unión a antígeno OSMR se une a OSMR y se dirige a una célula que expresa OSMR para su agotamiento. En diversos aspectos, la proteína de unión al antígeno OSMR inhibe la unión de OSM e/o IL-31 y se dirige a la célula OSMR para su agotamiento.

**[0188]** Las proteínas de unión al antígeno OSMR que agotan las células son particularmente útiles para tratar enfermedades o trastornos asociados con la sobreexpresión de OSMR, por ejemplo, una enfermedad autoinmune, enfermedad inflamatoria, una enfermedad o trastorno asociado con el depósito o remodelación de la matriz extracelular, o tumor que expresa OSMR. Los métodos para dirigirse a células con proteínas de unión a antígeno, por ejemplo, anticuerpos, son bien conocidos en la técnica. Realizaciones ejemplares se discuten a continuación.

#### **Conjugados de anticuerpos**

**[0189]** Las realizaciones de la invención incluyen conjugados de fármaco de anticuerpo (ADC). En general, el ADC comprende un anticuerpo conjugado con un agente quimioterapéutico, por ejemplo, un agente citotóxico, un agente citostático, una toxina o un agente radioactivo. Se puede usar una molécula enlazadora para conjugar el fármaco al anticuerpo. Una amplia variedad de enlazadores y fármacos útiles en tecnología de ADC se conocen en la técnica y se pueden usar en realizaciones de la presente invención. (Véase US20090028856; US2009/0274713; US2007/0031402; WO2005/084390; WO2009/099728; US5208020; US5416064; US5475092; 5585499; 6436931; 6372738; y 6340701).

#### Enlazadores

**[0190]** En ciertas realizaciones, el ADC comprende un enlazador compuesto por uno o más componentes del enlazador. Los componentes enlazadores ejemplares incluyen 6-maleimidocaproilo, maleimidopropanoilo, valinacitrulina, alanina-fenilalanina, p-amino-benziloxicarbonilo, y aquellos resultantes de la conjugación con reactivos enlazadores, incluyendo, entre otros, N-succinimidilo 4-(2-piridiltio) pentanoato ("SPP"), N-succinimidilo 4-(N-maleimidometilo) ciclohexano-1 carboxilato ("SMCC", también denominado en el presente documento "MCC") y N-succinimidilo (4-yodo-acetilo) aminobenzoato ("SIAB").

**[0191]** Los enlazadores pueden ser un enlazador "escindible" o un enlazador "no escindible" (Ducry and Stump, Bioconjugate Chem. 2010, 21, 5-13). Los enlazadores escindibles están diseñados para liberar el fármaco cuando se someten a ciertos factores ambientales, por ejemplo, cuando se internaliza en la célula diana. Los enlazadores escindibles incluyen enlazadores ácidos lábiles, enlazadores sensibles a proteasas, enlazadores fotolábiles, enlazadores dimetilo o enlazadores que contienen disulfuro. Los enlazadores no escindibles tienden a permanecer asociados covalentemente con al menos un aminoácido del anticuerpo y el fármaco tras la internalización y degradación dentro de la célula diana. Un enlazador no escindible ejemplar es MCC.

#### Las drogas

**[0192]** En ciertas realizaciones, el anticuerpo se conjuga con un agente quimioterapéutico. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes, tales como tiotepa y ciclofosfamida (CYTOXAN<sup>TM</sup>); sulfonatos de alquilo tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas, tales como benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilaminas que incluyen altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilenotiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluido el topotecán análogo sintético); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluidos sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluidos los análogos sintéticos, KW-2189 y CBI-TMI); eleuterobia; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas nitrogenadas como clorambucilo, clomafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecholatamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mosto de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina; antibióticos, como los antibióticos enedina (por ejemplo, caliqueamicina, especialmente caliqueamicina .gamma1 y caliqueamicina teta I, véase, por ejemplo, Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 33: 183-186 (1994); dinemicina, incluida la dinemicina A; así como cromóforos de neocarzinostatina y cromomóforos antibióticos de enedina de cromoproteína relacionados), aclacinomisinas, acetinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina; cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, (incluyendo morfolino-doxorubicina, cianomorfolina-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y deoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcelomicina, nitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabolitos, como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como, ancitabina, aza-citidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, 5-FU; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitiostano, testolactona; antiadrenales, tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; relleno de ácido fólico, tal como ácido frolínico; aceglatona; glicósido de aldosfamida; ácido aminolevulínico; bestrabucilo de amsacrina; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina diaziquona; elfomitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglucido; nitrato de galio; hidroxiurea; lentinano; lonidamina; maitansinoides, tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidamol; nitracrina; pentostatina; phenacetin; pirarubicina; ácido podofilílico; 2-ethylhidracida; procarbazina; PSK®; razoxano; rizoxina; sizofuran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazine; manacostina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gactosina; C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL<sup>TM</sup>, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ) y doxetaxel (TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptoperina; metotrexato; análogos del platino como el cisplatino y el carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; fenómeno de la mitomicina; desprendimiento; mitoxantrona; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilomitina (DMFO); ácido retinoico; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. También se incluyen en esta definición agentes antihormonales que actúan para regular o inhibir la acción de la hormona sobre tumores, tales como antiestrógenos que incluyen, por

ejemplo, tamoxifeno, raloxifeno, inhibidores de la aromatasa 4(5)-imidazoles, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, queoxifeno, LY117018, onapristona y toremifeno (Fareston); y antiandrógenos, tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; ARNs y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. Otros agentes quimioterapéuticos que se pueden usar con la presente invención se describen en la publicación de Estados Unidos nº 20080171040 o en la publicación de Estados Unidos nº 20080305044.

**[0193]** Se contempla que un anticuerpo puede conjugarse con dos o más diferentes agentes quimioterapéuticos o una composición farmacéutica puede comprender una mezcla de anticuerpos en la que el componente de anticuerpo es idéntico a excepción de que se conjuga con un agente quimioterapéutico diferente. Dichas realizaciones pueden ser útiles para dirigirse a múltiples rutas biológicas con una célula diana.

**[0194]** En realizaciones preferidas, el ADC comprende un anticuerpo conjugado a una o más moléculas de maitansinoide, que son inhibidores mitóticos que actúan inhibiendo la polimerización de tubulina. Los maitansinoides, que incluyen diversas modificaciones, se describen en la patente de EE.UU. Nº 3896111; 4151042; 4137230; 4248870; 4256746; 4260608; 4265814; 4294757; 4307016; 4308268; 4309428; 4313946; 4315929; 4317821; 4322348; 4331598; 4361650; 4364866; 4424219; 4450254; 4362663; 4371533; y WO 2009/099728. Los restos de fármaco maitansinoide pueden aislarse de fuentes naturales, producirse mediante tecnología recombinante o prepararse sintéticamente. Los ejemplos de maitansinoides incluyen decloro C-19 (Patente de EE.UU. Nº 4256746), hidroxi C-20 (o demetilo C-20) +/- decloro C-19 (Patentes de EE.UU. N°s 4307016 y 4361650), 20-desmetoxi (o C-20-aciloxi (-OCOR), +/- decloro (Patente de EE.UU. Nº 4294757), C-9-SH (Patente de EE.UU. Nº 4.424.219), C-14-alcoximetilo (demetoxi/CH<sub>2</sub>OR) (Patente de EE.UU. Nº 4.331.598), C-14-hidroximetilo o aciloximetilo (CH<sub>2</sub>OH o CH<sub>2</sub>OAc) (Patente de EE.UU. Nº 4.450.254), C-15-hidroxi/aciloxi (Patente de EE.UU. Nº 4.364.866), C- 15-metoxi (Patentes de EE.UU. N°s 4.313.946 y 4.315.929), C-18-N-demetilo (Patentes de EE.UU. N°s 4.362.663 y 4.322.348), y 4.5-deoxi (Patente de EE.UU. Nº 4.371.533).

**[0195]** Se pueden usar varias posiciones en los compuestos de maitansinoide como la posición de enlace, dependiendo del tipo de enlace deseado. Por ejemplo, para formar un enlace éster, la posición C-3 tiene un grupo hidroxilo, la posición C-14 modificada con hidroximetilo, La posición C-15 modificada con un grupo hidroxilo, y la posición C-20 que tiene un grupo hidroxilo son todas adecuadas (Patentes de EE.UU. N°s 5208020, RE39 151, y 6913748; Pub. de Solicitud de Patente de EE.UU. N°s 20060167245 y 20070037972, y WO 2009099728).

**[0196]** Los maitansinoides preferidos incluyen los conocidos en la técnica como DM1, DM3 y DM4 (Sol. de Pub. de Pat. N°s 2009030924 y 20050276812).

**[0197]** Los ADCs que contienen maitansinoides, métodos para hacer tales ADCs, y su uso terapéutico se describen en las Patentes de EE.UU. N°s 5208020 y 5416064, Sol. de Pat. de Patente de EE.UU. Nº 20050276812, y WO 2009099728. Los enlazadores que son útiles para hacer ADCs de maitansinoide son conocidos en la técnica (Patente de EE.UU. 5208020 y Publicación de Patente de EE.UU. N°s 2005016993 y 20090274713). Los ADC de maitansinoides que comprenden un enlazador SMCC pueden prepararse como se describe en la Pub. de patente de EE.UU. Nº 2005/0276812.

#### Anticuerpos mejorados de la función efectora

**[0198]** Una de las funciones de la porción Fc de un anticuerpo es para comunicarse con el sistema inmune cuando el anticuerpo se une a su diana. Esto se considera "función efectora". La comunicación conduce a la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) y/o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). La ADCC y la ADCP están mediadas a través de la unión de Fc a receptores Fc en la superficie de las células del sistema inmunológico. CDC está mediado a través de la unión del Fc con proteínas del sistema del complemento, por ejemplo, C1q.

**[0199]** Las subclases de IgG varían en su capacidad de mediar funciones efectoras. Por ejemplo, IgG1 es muy superior a IgG2 e IgG4 en la mediación de ADCC y CDC. Por lo tanto, en realizaciones en las que una célula que expresa OSMR se dirige a la destrucción, se preferiría un anticuerpo IgG1 anti-OSMR.

**[0200]** La función efectora de un anticuerpo se puede aumentar o disminuir, mediante la introducción de una o más mutaciones en el Fc. Las realizaciones de la invención incluyen anticuerpos que tienen un Fc diseñado para aumentar la función efectora (documento US 7.317.091 y Strohl, Curr. Opin. Biotech., 20: 685-691, 2009). Las moléculas ejemplares de IgG1 Fc que tienen una función efectora aumentada incluyen (en base al esquema de numeración de Kabat) aquellas con las siguientes sustituciones:

S239D/I332E

S239D/A330S/I332E

S239D/A330L/I332E

S298A/D333A/K334A

P247I/A339D

5 P247I/A339Q

D280H/K290S

10 D280H/K290S/S298D

D280H/K290S/S298V

F243L/R292P/Y300L

15 F243L/R292P/Y300L/P396L

F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L

G236A/S239D/I332E

20 K326A/E333A

K326W/E333S

25 K290E/S298G/T299A

K290N/S298G/T299A

30 K290E/S298G/T299A/K326E

K290N/S298G/T299A/K326E

**[0201]** Otras realizaciones de la invención incluyen anticuerpos que tienen una Fc diseñada para reducir la función efectora. Las moléculas Fc ejemplares que tienen una función efectora disminuida incluyen (según el esquema de numeración de Kabat) aquellas con las siguientes sustituciones:

35 N297A (IgG1)

40 L234A/L235A (IgG1)

V234A/G237A (IgG2)

L235A/G237A/E318A (IgG4)

45 H268Q/V309/A330S/A331S (IgG2)

C220S/C226S/C229/P238S (IgG1)

50 C226SC229S/E233P/L234V/L235A (IgG1)

L234F/L235E/P331S (IgG1)

55 S267E/L328F (IgG1)

**[0202]** Otro método de aumento de la función efectora de Fc de IgG que contiene proteínas es mediante la reducción de la fucosilación de la Fc. La eliminación de la fucosa del núcleo de los oligosacáridos de tipo complejo biantenario unidos a la Fc incrementó en gran medida la función de efector de ADCC sin alterar la unión del antígeno o la función de efecto de CDC. Se conocen varias formas de reducir o abolir la fucosilación de moléculas que contienen Fc, por ejemplo, anticuerpos. Estos incluyen la expresión recombinante en ciertas líneas celulares de mamíferos que incluyen una línea celular eliminada de FUT8, una línea CHO variante Lec13, una línea celular de hibridoma de rata YB2/0, una línea celular que comprende un pequeño ARN interferente específicamente contra el gen FUT8 y una línea celular que coexpresa  $\beta$ -1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa III y Golgi  $\alpha$ -manosidasa II. Alternativamente, la molécula que contiene Fc puede expresarse en una célula no mamífera tal como una célula vegetal, levadura o célula procariota, por ejemplo, E. coli. Por lo tanto, en ciertas realizaciones de la invención, una composición comprende un anticuerpo de la invención que tiene fucosilación reducida o que carece de fucosilación en conjunto.

### Composiciones farmacéuticas

[0203] En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o una pluralidad de proteínas de unión de antígenos de la invención junto con diluyentes farmacéuticamente eficaces, portador, solubilizante, emulsionante, conservante, y/o adyuvante. En ciertas realizaciones, la proteína de unión a antígeno es un anticuerpo. Las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen, pero no se limitan a, composiciones líquidas, congeladas y liofilizadas.

[0204] Preferiblemente, los materiales de formulación no son tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas. En realizaciones específicas, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína de unión a antígeno OSMR, por ejemplo, un anticuerpo de unión a OSMR.

[0205] En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica puede contener materiales de formulación para modificar, mantener o conservar, por ejemplo, el pH, osmolaridad, viscosidad, claridad, color, isotonicidad, olor, esterilidad, estabilidad, velocidad de disolución o liberación, la adsorción o penetración de la composición. En tales realizaciones, los materiales de formulación adecuados incluyen, pero no se limitan a, aminoácidos (tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina, prolina o lisina); antimicrobianos; antioxidantes (como ácido ascórbico, sulfito de sodio o hidrogenosulfito de sodio); tampones (tales como borato, bicarbonato, Tris-HCl, citratos, fosfatos u otros ácidos orgánicos); agentes de carga (como manitol o glicina); agentes quelantes (como el ácido etilendiamino tetraacético (EDTA)); agentes complejantes (tales como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina o hidroxipropilo-beta-ciclodextrina); rellenos monosacáridos; disacáridos; y otros carbohidratos (como glucosa, manosa o dextrinas); proteínas (como la albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas); agentes colorantes, aromatizantes y diluyentes; agentes emulsionantes; polímeros hidrófilos (tales como polivinilpirrolidona); polipéptidos de bajo peso molecular; contraiones formadores de sal (como el sodio); conservantes (tales como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol fenetílico, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sóblico o peróxido de hidrógeno); disolventes (como glicerina, propilenglicol o polietilenglicol); alcoholes de azúcar (como manitol o sorbitol); agentes de suspensión; tensioactivos o agentes humectantes (tales como pluronic, PEG, ésteres de sorbitán, polisorbatos tales como polisorbato 20, polisorbato, trítón, trometamina, lecitina, colesterol, tiloxapal); agentes potenciadores de la estabilidad (tales como sacarosa o sorbitol); agentes potenciadores de la tonicidad (tales como haluros de metales alcalinos, preferiblemente cloruro de sodio o potasio, manitol sorbitol); vehículos de reparto; diluyentes excipientes y/o adyuvantes farmacéuticos. Véase, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18<sup>a</sup> Edición, (AR Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company.

[0206] En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica óptima será determinada por un experto en la técnica dependiendo de, por ejemplo, la vía de administración prevista, el formato de administración y la dosis deseada. véase, por ejemplo, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, *supra*. En ciertas realizaciones, tales composiciones pueden influir en el estado físico, la estabilidad, la velocidad de liberación in vivo y la velocidad de eliminación in vivo de las proteínas de unión a antígeno de la invención. En ciertas realizaciones, el vehículo o vehículo primario en una composición farmacéutica puede ser de naturaleza acuosa o no acuosa. Por ejemplo, un vehículo o vehículo adecuado puede ser agua para inyección, solución salina fisiológica o líquido cefalorraquídeo artificial, posiblemente suplementado con otros materiales comunes en composiciones para administración parenteral. La solución salina tamponada neutra o la solución salina mezclada con albúmina sérica son otros vehículos ejemplares. En realizaciones específicas, las composiciones farmacéuticas comprenden un tampón Tris de aproximadamente pH 7,0-8,5, o un tampón de acetato de aproximadamente pH 4,0-5,5, y pueden incluir además sorbitol o un sustituto adecuado para el mismo. En ciertas realizaciones de la invención, las composiciones de proteínas de unión al antígeno OSMR de la invención pueden prepararse para el almacenamiento mezclando la composición seleccionada que tenga el grado de pureza deseado con agentes de formulación opcionales (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, *supra*) en forma de torta liofilizada o una solución acuosa. Además, en ciertas realizaciones, el producto de la proteína de unión al antígeno OSMR puede formularse como un liofilizado usando excipientes apropiados tales como sacarosa.

[0207] Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden seleccionar para la administración parenteral. Alternativamente, las composiciones pueden seleccionarse para inhalación o para administración a través del tracto digestivo, tal como por vía oral. La preparación de tales composiciones farmacéuticamente aceptables está dentro de los conocimientos de la técnica. Los componentes de la formulación están presentes preferiblemente en concentraciones que son aceptables para el sitio de administración. En ciertas realizaciones, se usan tampones para mantener la composición a pH fisiológico o a un pH ligeramente inferior, típicamente dentro de un intervalo de pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 8.

[0208] Cuando se contempla la administración parenteral, las composiciones terapéuticas para uso en esta invención pueden proporcionarse en forma de una solución acuosa libre de pirógenos, parenteralmente aceptable que comprende la proteína de unión a antígeno de OSMR deseada en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo particularmente adecuado para la inyección parenteral es agua destilada estéril en la que la proteína de unión al antígeno OSMR se formula como una solución isotónica estéril, conservada adecuadamente. En ciertas realizaciones, la preparación puede involucrar la formulación de la molécula deseada con un agente, como

microesferas inyectables, partículas bioerosionables, compuestos poliméricos (como ácido poliláctico o ácido poliglicólico), perlas o liposomas, que pueden proporcionar liberación del producto que puede ser entregado a través de inyección de depósito. En ciertas realizaciones, también se puede usar ácido hialurónico, que tiene el efecto de promover una duración sostenida en la circulación. En ciertas realizaciones, se pueden usar dispositivos de administración de fármacos implantables para introducir la proteína de unión a antígeno deseada.

**[0209]** Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden formular para inhalación. En estas realizaciones, las proteínas de unión a antígeno OSMR de la invención se formulan ventajosamente como un polvo seco e inhalable. En realizaciones específicas, las soluciones de inhalación de proteínas de unión al antígeno OSMR también se pueden formular con un propelente para el suministro de aerosol. En ciertas realizaciones, las soluciones pueden ser nebulizadas. La administración pulmonar y los métodos de formulación, por lo tanto, se describen adicionalmente en la Solicitud de Patente Internacional Nº PCT/US94/001875, que describe la administración pulmonar de proteínas modificadas químicamente.

**[0210]** También se contempla que las formulaciones pueden administrarse por vía oral. Las proteínas de unión al antígeno OSMR que se administran de esta manera se pueden formular con o sin vehículos que se utilizan habitualmente en la composición de formas de dosificación sólidas, como tabletas y cápsulas. En ciertas realizaciones, se puede diseñar una cápsula para liberar la porción activa de la formulación en el punto del tracto gastrointestinal cuando se maximiza la biodisponibilidad y se minimiza la degradación presistémica. Se pueden incluir agentes adicionales para facilitar la absorción de la proteína de unión al antígeno OSMR. También se pueden emplear diluyentes, saborizantes, ceras de bajo punto de fusión, aceites vegetales, lubricantes, agentes de suspensión, agentes desintegrantes de comprimidos y aglutinantes.

**[0211]** Las composiciones farmacéuticas adicionales serán evidentes para los expertos en la técnica, incluyendo formulaciones que implican proteínas de unión a antígeno OSMR en formulaciones de administración sostenida o controlada de unión. Los expertos en la materia también conocen técnicas para formular una variedad de otros medios de administración sostenida o controlada, tales como portadores de liposomas, micropartículas bioerosionables o perlas porosas e inyecciones de depósitos. Véase, por ejemplo, la solicitud de patente internacional nº PCT/US93/00829, que describe la liberación controlada de micropartículas poliméricas porosas para el suministro de composiciones farmacéuticas. Las preparaciones de liberación sostenida pueden incluir matrices de polímeros semipermeables en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Las matrices de liberación sostenida pueden incluir poliésteres, hidrogeles, polilactidas (como se describe en la Patente de EE.UU. Nº 3.773.919 y en la Publicación de Solicitud de Patente Europea Nº EP 058481), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etilo-L-glutamato (Sidman et al., 1983, Biopolymers 2: 547-556), poli (2-hidroxietilo-metacrilato) (Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277 y Langer, 1982, Chem. Tech. 12: 98-105), acetato de vinilo de etileno (Langer et al., 1981, *supra*) o ácido poli-D(-)-3-hidroxibutírico (publicación de solicitud de patente europea nº EP 133.988). Las composiciones de liberación sostenida también pueden incluir liposomas que pueden prepararse por cualquiera de varios métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Eppstein et al., 1985, Proc. Natl Acad Sci. EE.UU. 82: 3688-3692; Publicación de Solicitud de Patente Europea N° EP 036.676; EP 088.046 y EP 143.949.

**[0212]** Las composiciones farmacéuticas utilizadas para la administración *in vivo* se proporcionan típicamente como preparaciones estériles. La esterilización se puede lograr mediante filtración a través de membranas de filtración estériles. Cuando la composición está liofilizada, la esterilización utilizando este método puede realizarse antes o después de la liofilización y reconstitución. Las composiciones para administración parenteral se pueden almacenar en forma liofilizada o en una solución. Las composiciones parenterales generalmente se colocan en un recipiente que tiene un puerto de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa de solución intravenosa o vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica.

**[0213]** Los aspectos de la invención incluyen formulaciones de auto-tamponamiento de las proteínas de unión al antígeno OSMR de la invención, que pueden usarse como composiciones farmacéuticas, como se describe en la solicitud de patente internacional WO 06138181 A2 (PCT/US2006/022599).

**[0214]** Como se discutió anteriormente, ciertas formas de realización proporcionan composiciones de proteínas de unión a antígeno OSMR, composiciones particularmente farmacéuticas de proteínas de unión a antígeno OSMR que comprenden, además de las proteínas de unión al antígeno OSMR, uno o más excipientes tales como los descritos ilustrativamente en esta sección y en otros lugares aquí. Los excipientes se pueden usar en la invención a este respecto para una amplia variedad de propósitos, tales como el ajuste de las propiedades físicas, químicas o biológicas de las formulaciones, como el ajuste de la viscosidad y los procesos de la invención para mejorar la efectividad y/o para estabilizar tales formulaciones y procesos contra la degradación y el deterioro debido, por ejemplo, a las tensiones que se producen durante la fabricación, envío, almacenamiento, preparación previa al uso, administración, y posteriormente.

**[0215]** Una variedad de exposiciones están disponibles en la estabilización de proteínas y materiales y métodos de formulación útiles en este sentido, tales como Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations", Pharm Res. 8 (3): 285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution," in:

RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter and Manning, eds. Pharmaceutical Biotechnology. 13: 61-84 (2002), y Randolph et al., "Surfactant-protein interactions", Pharm Biotechnol. 13: 159-75 (2002), particularmente en partes pertinentes a excipientes y procesos de los mismos para formulaciones de proteínas auto-tamponadas de acuerdo con la presente invención, especialmente en productos farmacéuticos de proteínas y procesos para usos médicos veterinarios y/o humanos.

5 [0216] Las sales pueden ser utilizadas de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención para, por ejemplo, ajustar la fuerza iónica y/o la isotonicidad de una formulación y/o para mejorar la solubilidad y/o estabilidad física de una proteína u otro ingrediente de una composición de acuerdo con la invención.

10 [0217] Como es bien conocido, los iones pueden estabilizar el estado nativo de proteínas mediante la unión a residuos cargados en la superficie de la proteína y protegiendo grupos cargados y polares en la proteína y la reducción de la fuerza de sus interacciones electrostáticas, interacciones atractivas y repulsivas. Los iones también pueden estabilizar el estado desnaturalizado de una proteína al unirse, en particular, a los enlaces peptídicos desnaturalizados (-CONH) de la proteína. Además, la interacción iónica con grupos cargados y polares en una proteína también puede reducir las interacciones electrostáticas intermoleculares y, por lo tanto, prevenir o reducir la agregación de proteínas y la insolubilidad.

15 [0218] Las especies iónicas difieren significativamente en sus efectos sobre las proteínas. Se han desarrollado una serie de clasificaciones categóricas de iones y sus efectos sobre las proteínas que se pueden usar para formular composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención. Un ejemplo es la serie Hofmeister, que clasifica los solutos no iónicos y polares por su efecto sobre la estabilidad conformacional de las proteínas en solución. Los solutos estabilizantes se conocen como "cosmotrópicos". Los solutos desestabilizadores se conocen como "caótropicos". Los cosmotropos se usan comúnmente en altas concentraciones (por ejemplo, >1 sulfato de amonio molar) para precipitar las proteínas de la solución ("salado"). Los caótropos se usan comúnmente para dentaduras postizas y/o para solubilizar proteínas ("extracción de sales"). La efectividad relativa de los iones para "adición de sales" y "extracción de sales" define su posición en la serie de Hofmeister.

20 [0219] Los aminoácidos libres se pueden utilizar en formulaciones de proteínas de unión al antígeno OSMR de acuerdo con diversas realizaciones de la invención como agentes de carga, estabilizadores, y antioxidantes, así como otros usos estándar. Se pueden usar lisina, prolina, serina y alanina para estabilizar proteínas en una formulación. La glicina es útil en la liofilización para asegurar la estructura y propiedades correctas de la torta. La arginina puede ser útil para inhibir la agregación de proteínas, tanto en formulaciones líquidas como en liofilizadas. La metionina es útil como antioxidante.

25 [0220] Los polioles incluyen azúcares, por ejemplo, manitol, sacarosa y sorbitol y alcoholes polihidráticos tales como, por ejemplo, glicerol y propilenglicol, y, para los fines de la discusión en el presente documento, polietilenglicol (PEG) y sustancias relacionadas. Los polioles son cosmotrópicos. Son agentes estabilizantes útiles en formulaciones tanto líquidas como liofilizadas para proteger las proteínas de los procesos de degradación física y química. Los polioles también son útiles para ajustar la tonicidad de las formulaciones.

30 [0221] Entre los polioles útiles en realizaciones seleccionadas de la invención está el manitol, comúnmente usado para asegurar la estabilidad estructural de la torta en formulaciones liofilizadas. Asegura estabilidad estructural a la torta. Generalmente se usa con un lioprotector, por ejemplo, sacarosa. El sorbitol y la sacarosa se encuentran entre los agentes preferidos para ajustar la tonicidad y como estabilizadores para proteger contra las tensiones de congelación y descongelación durante el transporte o la preparación de bultos durante el proceso de fabricación. La reducción de azúcares (que contienen grupos aldehído o cetona libres), como la glucosa y la lactosa, puede glicar los residuos de lisina y arginina de la superficie. Por lo tanto, generalmente no están entre los polioles preferidos para uso de acuerdo con la invención. Además, los azúcares que forman tales especies reactivas, como la sacarosa, que se hidroliza a fructosa y glucosa en condiciones ácidas, y en consecuencia engendran la glicación, tampoco se encuentran entre los polioles preferidos de la invención a este respecto. El PEG es útil para estabilizar proteínas y como crioprotector y se puede usar en la invención a este respecto.

35 [0222] Las realizaciones de las formulaciones de proteínas de unión a antígeno OSMR comprenden además tensioactivos. Las moléculas de proteínas pueden ser susceptibles a la adsorción en las superficies y a la desnaturaleza y la consiguiente agregación en las interfaces aire-líquido, sólido-líquido y líquido-líquido. Estos efectos generalmente se escalan inversamente con la concentración de proteína. Estas interacciones perjudiciales generalmente se escalan inversamente con la concentración de proteínas y, por lo general, se ven agravadas por la agitación física, como la generada durante el envío y manejo de un producto.

40 [0223] Los tensioactivos habitualmente se utilizan para prevenir, minimizar o reducir la adsorción superficial. Los tensioactivos útiles en la invención a este respecto incluyen polisorbato 20, polisorbato 80, otros ésteres de ácidos grasos de polietoxilatos de sorbitán, y poloxámero 188.

45 [0224] Los tensioactivos también son comúnmente utilizados para controlar la estabilidad conformacional para proteínas. El uso de surfactantes en este sentido es específico de proteínas, ya que cualquier surfactante dado

típicamente estabilizará algunas proteínas y desestabilizará otras.

**[0225]** Los polisorbatos son susceptibles a la degradación oxidativa y a menudo, tal como se suministran, contienen cantidades suficientes de peróxidos para provocar la oxidación de cadenas laterales de residuos de proteínas, especialmente metionina. En consecuencia, los polisorbatos se deben usar con cuidado y, cuando se usan, se deben emplear a su concentración efectiva más baja. En este sentido, los polisorbatos ejemplifican la regla general de que los excipientes deben usarse en sus concentraciones efectivas más bajas.

**[0226]** Las realizaciones de las formulaciones de proteínas de unión a antígeno OSMR comprenden además uno o más antioxidantes. Hasta cierto punto, la oxidación de proteínas puede ser prevenida en formulaciones farmacéuticas manteniendo niveles adecuados de oxígeno y temperatura ambiente y evitando la exposición a la luz. También se pueden usar excipientes antioxidantes para prevenir la degradación oxidativa de las proteínas. Entre los antioxidantes útiles a este respecto se encuentran los agentes reductores, los eliminadores de radicales libres/oxígeno y los agentes quelantes. Los antioxidantes para uso en formulaciones de proteínas terapéuticas de acuerdo con la invención son preferiblemente solubles en agua y mantienen su actividad durante toda la vida útil de un producto. El EDTA es un antioxidante preferido de acuerdo con la invención a este respecto.

**[0227]** Los antioxidantes pueden dañar las proteínas. Por ejemplo, los agentes reductores, como el glutatión en particular, pueden interrumpir los enlaces disulfuro intramoleculares. Por lo tanto, los antioxidantes para uso en la invención se seleccionan para, entre otras cosas, eliminar o reducir suficientemente la posibilidad de que dañen proteínas en la formulación.

**[0228]** Las formulaciones de acuerdo con la invención pueden incluir iones metálicos que son cofactores de proteínas y que son necesarios para formar complejos de coordinación de proteínas, tales como el zinc necesario para formar ciertas suspensiones de insulina. Los iones metálicos también pueden inhibir algunos procesos que degradan las proteínas. Sin embargo, los iones metálicos también catalizan los procesos físicos y químicos que degradan las proteínas.

**[0229]** Los iones de magnesio (10-120 mM) se pueden utilizar para inhibir la isomerización de ácido aspártico a ácido isoaspirático. Los iones  $\text{Ca}^{+2}$  (hasta 100 mM) pueden aumentar la estabilidad de la desoxirribonucleasa humana.  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  y  $\text{Zn}^{+2}$ , sin embargo, pueden desestabilizar la rhDNase. De manera similar,  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Sr}^{+2}$  pueden estabilizar el Factor VIII, se pueden desestabilizar con  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  y  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+2}$ , y su agregación se puede aumentar con iones  $\text{Al}^{+3}$ .

**[0230]** Las realizaciones de las formulaciones de proteínas de unión a antígeno OSMR comprenden además uno o más conservantes. Los conservantes son necesarios cuando se desarrollan formulaciones parenterales de dosis múltiples que involucran más de una extracción del mismo envase. Su función principal es inhibir el crecimiento microbiano y garantizar la esterilidad del producto durante todo el período de validez o el uso del medicamento. Los conservantes comúnmente utilizados incluyen alcohol benzílico, fenol y m-cresol. Si bien los conservantes tienen una larga historia de uso con parentales de molécula pequeña, el desarrollo de formulaciones de proteínas que incluyan conservantes puede ser un desafío. Los conservantes casi siempre tienen un efecto desestabilizador (agregación) sobre las proteínas, y esto se ha convertido en un factor importante para limitar su uso en formulaciones de proteínas de dosis múltiples. Hasta la fecha, la mayoría de los medicamentos proteicos han sido formulados para un solo uso. Sin embargo, cuando las formulaciones de dosis múltiples son posibles, tienen la ventaja adicional de permitir la comodidad del paciente y una mayor capacidad de comercialización. Un buen ejemplo es el de la hormona del crecimiento humano (hGH), donde el desarrollo de formulaciones preservadas ha llevado a la comercialización de presentaciones de bolígrafos de inyección de uso múltiple más convenientes. Al menos cuatro de estos dispositivos de pluma que contienen formulaciones conservadas de hGH están actualmente disponibles en el mercado. Norditropina (líquido, Novo Nordisk), Nutropina AQ (líquido, Genentech) y Genotropina (liofilizado - cartucho de doble cámara, Pharmacia y Upjohn) contienen fenol, mientras que Somatrop (Eli Lilly) está formulado con m-cresol.

**[0231]** Varios aspectos deben considerarse durante la formulación y el desarrollo de formas de dosificación preservadas. La concentración conservante efectiva en el medicamento debe ser optimizada. Esto requiere probar un conservante dado en la forma de dosificación con rangos de concentración que confieran efectividad antimicrobiana sin comprometer la estabilidad de la proteína.

**[0232]** Como se podría esperar, el desarrollo de formulaciones líquidas que contienen conservantes son más difíciles que las formulaciones liofilizadas. Los productos liofilizados pueden liofilizarse sin el conservante y reconstituirse con un conservante que contiene diluyente en el momento de su uso. Esto acorta el tiempo durante el cual un conservante está en contacto con la proteína, minimizando significativamente los riesgos de estabilidad asociados. Con las formulaciones líquidas, la efectividad y la estabilidad del conservante se deben mantener durante toda la vida útil del producto (alrededor de 18 a 24 meses). Un punto importante a tener en cuenta es que la efectividad del conservante debe demostrarse en la formulación final que contiene el fármaco activo y todos los componentes del excipiente.

5 [0233] Las formulaciones de proteínas de unión al antígeno OSMR generalmente se diseñarán para vías específicas y métodos de administración, para dosis de administración específicas y frecuencias de administración, para tratamientos específicos de enfermedades específicas, con rangos de biodisponibilidad y persistencia, entre otras cosas. Por lo tanto, las formulaciones pueden diseñarse de acuerdo con la invención para ser administradas por cualquier vía adecuada, incluyendo pero no limitándose a la vía oral, auditiva, oftálmica, rectal y vaginal, y parenteral, incluidas la inyección intravenosa e intraarterial, la inyección intramuscular, y inyección subcutánea.

10 [0234] Una vez que la composición farmacéutica ha sido formulada, puede ser almacenada en viales estériles como una solución, suspensión, gel, emulsión, sólido, cristal, o como un polvo deshidratado o liofilizado. Dichas formulaciones pueden almacenarse en una forma lista para uso o en una forma (por ejemplo, liofilizada) que se reconstituye antes de la administración. La presente descripción también proporciona kits para producir una unidad de administración de dosis única. Los kits de la descripción pueden contener cada uno un primer recipiente que tiene una proteína seca y un segundo recipiente que tiene una formulación acuosa. En ciertas realizaciones de esta descripción, se proporcionan kits que contienen jeringas precargadas de una sola cámara y varias cámaras (por ejemplo, jeringas líquidas y liojeringas).

15 [0235] La cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que contiene proteína de unión al antígeno OSMR a ser empleada dependerá, por ejemplo, del contexto y los objetivos terapéuticos. Un experto en la materia apreciará que los niveles de dosificación apropiados para el tratamiento variarán dependiendo, en parte, de la molécula administrada, la indicación para la cual se está utilizando la proteína de unión al antígeno OSMR, la vía de administración y el tamaño (peso corporal), superficie corporal o tamaño del órgano) y/o afección (la edad y la salud general) del paciente. En ciertas realizaciones, el médico puede titular la dosis y modificar la vía de administración para obtener el efecto terapéutico óptimo. Una dosis típica puede variar desde aproximadamente 0,1 µg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. En realizaciones específicas, la dosis puede variar desde 1,0 µg/kg hasta aproximadamente 20 mg/kg, opcionalmente desde 10 µg/kg hasta aproximadamente 10 mg/kg o desde 100 µg/kg hasta aproximadamente 5 mg/kg .

20 [0236] Una cantidad terapéuticamente efectiva de una proteína de unión a antígeno OSMR resulta preferiblemente en una disminución en la severidad de los síntomas de la enfermedad, en un aumento en la frecuencia o en la duración de los períodos libres de síntomas de la enfermedad, o en una prevención del deterioro o discapacidad debida a la afección de la enfermedad.

25 [0237] Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar usando un dispositivo médico. Ejemplos de dispositivos médicos para administrar composiciones farmacéuticas se describen en las patentes de EE.UU. N°s 4.475.196; 4.439.196; 4.447.224; 4.447.233; 4.486.194; 4.487.603; 4.596.556; 4.790.824; 4.941.880; 5.064.413; 5.312.335; 5.312.335; 5.383.851; y 5.399.163.

#### Métodos para diagnosticar o tratar una enfermedad o trastorno asociado con OSMR

30 [0238] La proteína de unión a antígenos OSMR de la invención de unión son particularmente útiles para la detección de OSMR en una muestra biológica. En ciertas realizaciones, una muestra biológica obtenida de un paciente se pone en contacto con una proteína de unión a antígeno OSMR. La unión de la proteína de unión al antígeno OSMR a OSMR luego se detecta para determinar la presencia o la cantidad relativa de OSMR en la muestra. Tales métodos pueden ser útiles para diagnosticar o determinar pacientes que son susceptibles de tratamiento con una proteína de unión a antígeno OSMR.

35 [0239] En ciertas realizaciones, una proteína unida a antígeno OSMR de la invención de unión se utiliza para diagnosticar, detectar o tratar un trastorno autoinmune, trastorno inflamatorio, o trastorno asociado con la deposición de matriz extracelular o remodelación.

40 [0240] En el tratamiento de estos trastornos, la proteína de unión a antígeno OSMR puede dirigirse a las células de expresión de OSMR del sistema inmune para la destrucción y/o puede bloquear la interacción de OSMR con OSM e/ o IL-31.

45 [0241] Las enfermedades o trastornos que están asociados con la señalización mediada por OSMR son particularmente susceptibles de tratamiento con una o más proteínas de unión a antígeno OSMR descritas en el presente documento. Dichos trastornos incluyen, entre otros, inflamación, dolor, prurito, prurigo nodular, dermatitis, asma, enfermedad autoinmune, enfermedades autoinmunes paraneoplásicas, inflamación del cartílago, fibrosis (que incluye, entre otros, fibrosis pulmonar y fibrosis de la piel), enfermedad fibrótica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), neumonitis intersticial, depósito anormal de colágeno, amiloidosis cutánea sistémica, amiloidosis cutánea primaria, enfermedad de Behcet, poliposis nasal, cirrosis hepática, degradación del cartílago, degradación ósea, artritis, artritis reumatoide, artritis juvenil, artritis reumatoide juvenil, artritis reumatoide juvenil pauciarticular, artritis reumatoide juvenil poliarticular, artritis reumatoide juvenil de inicio sistémico, artritis enteropática juvenil, espondilitis anquilosante juvenil, artritis enteropática juvenil, artritis reactivo juvenil, síndrome de Reiter juvenil, síndrome SEA (seronegatividad, entesopatía, síndrome de artropatía), dermatomiositis, artritis psoriática juvenil, escleroderma juvenil, eritematoso de lupus sistémico juvenil, vasculitis juvenil, artritis reumatoide pauciarticular,

artritis reumatoide poliarticular, artritis reumatoide juvenil de inicio sistémico, espondilitis anquilosante, artritis enteropártico, artritis reactivo, síndrome de Reiter, síndrome SEA (seronegatividad, entesopatía, síndrome de artropatía), dermatomiositis, artritis psoriásica, esclerodermia, enfermedad intersticial asociada a esclerodermia, vasculitis, miolitis, polimiotilis, dermatomiolitis, poliarteritis nodosa, granulomatosis de Wegener, arteritis, ploimialgia reumática, sarcoidosis, scleroderma, esclerosis, esclerosis biliar primario, colangitis esclerosante, síndrome de Sjogren, psoriasis, psoriasis en placa, psoriasis guttata, psoriasis inversa, psoriasis pustulosa, psoriasis eritrodérmica, dermatitis, dermatitis atópica, ateroesclerosis, lupus, enfermedad de Still, eritematoso de lupus sistémico (SLE), miastenia grave, enfermedad intestinal inflamatoria (EI), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad celíaca, esclerosis múltiple (EM), asma, EPOC, rinosinusitis, rinosinusitis con pólipos, esofagitis de eosinofilia, eosinófila, Enfermedad de Guillain-Barré, diabetes mellitus tipo I, tiroiditis (p. ej., "enfermedad" de Graves), enfermedad de Addison, fenómeno de Reynaud, hepatitis autoinmune, GVHD, rechazo de trasplante, daño renal, enfermedad cardiovascular, infección, sepsis, infección por VIH, traumatismo, nefropatía por aloinjerto renal, nefropatía por IgA, nefropatía diabética, retinopatía diabética, degeneración macular, atresia biliar, insuficiencia cardíaca congestiva, atherosclerosis, reestenosis, fibrosis inducida por radiación, fibrosis inducida por quimioterapia, quemaduras, traumatismo quirúrgico, glomeruloesclerosis y similares.

**[0242]** En realizaciones preferidas, el trastorno autoinmune, el trastorno inflamatorio o el trastorno asociado a la deposición o remodelación de la matriz extracelular es la fibrosis, la degradación del cartílago, la artritis, la artritis reumatoide, la esclerodermia, la enfermedad pulmonar intersticial asociada a la esclerodermia, la fibrosis pulmonar idiopática, la cirrosis, psoriasis, dermatitis atópica, amiloidosis cutánea sistémica, amiloidosis cutánea primaria, inflamación, inflamación pruriginosa, prurito nodular y dolor.

**[0243]** En ciertas realizaciones, una proteína de unión a antígeno OSMR de la invención se usa para diagnosticar, detectar o tratar un cáncer o trastorno tumorigénico. Al tratar un cáncer o un trastorno tumorigénico, la proteína de unión al antígeno OSMR puede apuntar a las células que expresan OSMR para su destrucción y/o puede bloquear la interacción de OSM e/o IL-31 con OSMR, reduciendo así la señalización mediada por OSMR. Se contempla que las proteínas de unión al antígeno OSMR que bloquean la señalización mediada por OSM e/o IL-31 serían útiles para promover una mejor supervivencia en pacientes con cáncer. El cáncer o los trastornos tumorigénicos que pueden diagnosticarse, detectarse o tratarse con una proteína de unión al antígeno OSMR incluyen, entre otros, tumores sólidos en general, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de esófago, cáncer pancreático, carcinoma de células escamosas, melanoma uveal, cáncer cervical, cáncer colorrectal, vejiga, cerebro, páncreas, cabeza, cuello, hígado, leucemia, linfoma y enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, melanoma, cáncer gástrico, cáncer astrocítico, estómago y adenocarcinoma pulmonar.

**[0244]** Proteínas de unión al antígeno se pueden utilizar para inhibir el crecimiento tumoral, la progresión y/o metástasis. Dicha inhibición puede controlarse utilizando diversos métodos. Por ejemplo, la inhibición puede reducir el tamaño del tumor y/o disminuir la actividad metabólica dentro de un tumor. Ambos parámetros pueden medirse por MRI o PET, por ejemplo. La inhibición también puede controlarse mediante una biopsia para determinar el nivel de necrosis, la muerte de las células tumorales y el nivel de vascularización dentro del tumor. La extensión de la metástasis puede controlarse utilizando métodos conocidos.

**[0245]** El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o lenguaje ejemplar (por ejemplo, "tal como") proporcionado en este documento, pretende meramente ilustrar mejor las realizaciones de la invención y no plantea una limitación en el alcance de la invención a menos que se reivindique lo contrario. Ningún lenguaje en la especificación debe interpretarse por indicar que cualquier elemento no reivindicado es esencial para la práctica de la invención.

#### EJEMPLOS

**[0246]** Los siguientes ejemplos, tanto reales como proféticos, se proporcionan para el propósito de ilustrar realizaciones específicas o características de la presente invención y no están destinados a limitar su alcance.

#### EJEMPLO 1: Producción de anticuerpos anti-OSMR utilizando la plataforma XENOMOUSE®

**[0247]** Se generaron anticuerpos completamente humanos dirigidos contra OSMR humanas utilizando la tecnología XENOMOUSE® (como se describe en las patentes de EE.UU. N°s 6.114.598; 6.162.963; 6.833.268; 7.049.426; 7.064.244; y en Green et al., Nature Genetics 7: 13-21, 1994; Mendez et al., Nature Genetics 15: 146-56; 1997; Green et al., J. Ex. Med. 188: 483-95, 1998; y Kellermann et al., Current Opinion in Biotechnology, 13: 593 -7, 2002).

**[0248]** Para producir anticuerpos para OSMR, dos cepas diferentes de animales XENOMOUSE®, es decir, los ratones XMG2-KL y XMG4-KL, se inmunizaron con proteínas solubles OSMR-Fc humana (preparadas por Amgen, Seattle, WA). Se utilizó una cantidad adecuada de inmunógeno (es decir, diez µg/ratón de proteína OSMR-Fc humana soluble) para la inmunización inicial de animales XENOMOUSE® de acuerdo con los métodos descritos en la Solicitud de Patente de EE.UU. N° de serie 08/759,620, presentada en diciembre 3, 1996 y las Solicitudes de Patente Internacional N°s WO 98/24893, publicadas el 11 de junio de 1998 y WO 00/76310, publicadas el 21 de diciembre de 2000. Después de la inmunización inicial, las inmunizaciones de refuerzo posteriores de inmunógeno

(cinco µg/ratón de humano soluble) La proteína OSMR-Fc) se administró de forma programada y durante el tiempo necesario para inducir un título adecuado de anticuerpo anti-OSMR en los ratones.

**[0249]** Los sueros se recogieron en aproximadamente cuatro semanas después de la primera inyección y los títulos específicos se determinaron por ELISA. El protocolo utilizado para dar título a los animales XENOMOUSE® fue el siguiente: las placas de unión a medio Costar 3368 se recubrieron con neutravidina a 8 µg/mL (50 µL/pocillo) y se incubaron a 4°C en 1XPBS/0,05% de azida durante la noche. Las placas se lavaron usando TiterTek de 3 ciclos de lavado con agua RO. Las placas se bloquearon utilizando 250 µL de 1XPBS/1% de leche y se incubaron durante al menos 30 minutos a temperatura ambiente. El bloqueo se lavó usando un lavado de 3 tiempos TiterTek con agua de RO. Luego se capturó huOSMR-FNFH biotinilado (preparado por Amgen, Seattle, WA) a 2 µg/mL en 1XPBS/1% de leche/10mM Ca2+ (diluyente de ensayo) 50 µL/pocillo y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se lavó con TiterTek en 3 ciclos de lavado con agua RO. Para el anticuerpo primario, los sueros se valoraron 1:3 por duplicado de 1:100. Esto se realizó en un diluyente de ensayo de 50 µL/pocillo y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se lavó con TiterTek en 3 ciclos de lavado con agua RO. El anticuerpo secundario fue IgG Fc HRP anti humana de cabra a 400 ng/mL en el diluyente de ensayo a 50 µL/pocillo. Esto se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se lavó con un lavado de 3 tiempos TiterTek con agua de RO y se secó sobre toallas de papel. Para el sustrato, se utilizó una solución TMB de un solo paso (Neogen, Lexington, Kentucky) (50 µL/pocillo) y se dejó que el sustrato se desarrollara durante 30 minutos a temperatura ambiente.

**[0250]** Se identificaron los animales que presentan títulos adecuados. Se identificaron cinco animales XMG2KL con una respuesta inmune de IgG específica a OSMR. Los bazo y los ganglios linfáticos de drenaje se recogieron de estos animales y se agruparon para la generación de hibridomas. Cinco animales XMG4KL con respuestas inmunitarias específicas se recolectaron de manera similar y se avanzaron como una campaña de detección de fusión separada. Células B enriquecidas de animales inmunes se fusionaron con células no mielosas secretoras P3 x 63Ag8.653 ((Colección americana de cultivos tipo CRL-1580; Kearney et al, J. Immunol. 123: 1548-50, 1979) para generar hibridomas usando el estándar técnicas (Kohler et al., Nature 256, 495-7, 1975).

**[0251]** Los hibridomas se colocaron en placas a alta densidad (múltiples clones de hibridomas diferentes por pocillo) en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos y se cultivaron durante cuatro semanas. Se examinaron los sobrenadantes de la línea de hibridoma para determinar su unión a OSMR humana y cinomolgico de longitud completa expresados en células 293T transfectadas transitoriamente mediante la tecnología de ensayo de microvolumen fluorométrico (FMAT) (Applied Biosystems, Foster City, CA). Brevemente, en placas FMAT de 384 pocillos, se combinaron 40 µL de una mezcla de 3.000 células transfectadas con OSMR 293T y 15.000 células 293T parentales con 15 µL de sobrenadante de hibridoma y 10 µL de cadena ligera antihumana (hukappa/hulambda) Alexa647 (Invitrogen, Carlsbad, CA) anticuerpo secundario marcado (1,0 µg/mL concentración final). Las placas se incubaron luego durante tres horas a temperatura ambiente y se leyó la fluorescencia usando el lector FMAT. Estas pantallas identificaron 885 líneas de hibridoma que se unen a OSMR humana y cinomólogo.

#### EJEMPLO 2: Ensayos de bloqueo OSMR humana

**[0252]** La capacidad de los anticuerpos OSMR para bloquear la señalización a través OSMR humana se determinó usando dos ensayos con oncostatina humana M (OSM) o interleucina humana 31 (IL-31) como el ligando. En combinación, los ensayos se usaron para determinar si los anticuerpos podrían inhibir la señalización de OSMR activada a través de la unión de OSM e/o IL-31.

**[0253]** En la primera pantalla, se evaluaron los anticuerpos para determinar su capacidad para bloquear la señalización de OSM a través de OSMR. La estimulación de los fibroblastos de pulmón humano normal primario con OSM induce la fosforilación de STAT3 y su posterior translocación al núcleo. Las células se sembraron a 3.000 células por pocillo en placas Costar de 384 pocillos y se dejaron adherir durante la noche. Las células se trataron previamente con sobrenadantes de anticuerpos durante veinte minutos y luego se estimularon con OSM humana 80 pM durante 30 minutos. Las células luego se lavaron 3X en PBS, se fijaron con una solución de formaldehído al 3.5%, se lavaron (3X en PBST) y se permeabilizaron con una solución de Triton X-100 al 0.5%. Las células luego se tiñeron con un anticuerpo anti-phosphoSTAT3 durante una hora, se lavaron y se tiñeron con un anticuerpo conjugado con AlexaFluor (todo contenido dentro del HitKit de Cellomics). Las placas se cubrieron y leyeron en el instrumento ArrayScan utilizando el algoritmo propietario de Cellomics para generar un valor de intensidad nuclear y un valor de intensidad citoplasmática. Los resultados se informaron como la diferencia entre estos dos valores y se normalizaron aún más para controlar los datos que contienen células estimuladas al máximo y células tratadas con medios (POC).

**[0254]** En el segundo ensayo, se evaluaron los anticuerpos para su capacidad de inhibir una señal proliferativa de IL-31 a través de OSMR en una línea celular estable que sobreexpresa IL-31RA4 humana y OSMR. Las células BaF3 se transfectaron de manera estable con dos plásmidos: pcDNA3.1 + huOSMRb (NeoR) y pcDNA3.1 + hull31RA4 (ZeoR). En ausencia de IL-3 murino, esta línea celular solo es capaz de proliferar en respuesta a la IL-31 humana y, por lo tanto, podría usarse para evaluar específicamente la capacidad de bloqueo de los anticuerpos anti-OSMR. Las células BaF3 se colocaron en placas de 96 pocillos a una densidad de 20.000 células por pocillo. Los anticuerpos y el ligando (hull-31, Peprotech) se agregaron a los pocillos hasta un volumen final de 100 µL, y las

placas se incubaron durante 72 horas en 5% de CO<sub>2</sub>, cámara humidificada a 37C. Después de la incubación, se agregaron 20 µL de Alamar Blue a cada pocillo y las placas se devolvieron a la incubadora. Las placas se leyeron en un lector de placa Vmax de Molecular Devices (570-600 nm) en varios puntos de tiempo posteriores a la adición de Alamar Blue.

[0255] Los resultados de los dos ensayos se presentan en la Tabla 4 a continuación. Se examinaron más de 3.000 sobrenadantes de hibridoma para determinar su capacidad de bloqueo en estos dos ensayos; los 200 bloqueadores principales se ensayaron en una titulación de 4 puntos, y se eligieron 14 para la producción de proteína recombinante y pruebas adicionales. La CI50 para tres anticuerpos ejemplares (anticuerpos 1-3) se muestra para ambos ensayos. Algunos anticuerpos inhibieron la translocación de STAT3 inducida por OSM más completamente que inhibieron la proliferación inducida por IL-31, y viceversa. Sin embargo, los tres anticuerpos eran potentes inhibidores de la señalización mediada por OSM e IL-31.

Tabla 4

CI50	Ab1	Ab2	Ab3
OSM	157 pM	252 pM	1,35 nM
IL-31	35,2 pM	27,6 pM	780 pM

#### EJEMPLO 3: Ensayos de bloqueo OSMR de Cynomolgus

[0256] La capacidad de los anticuerpos OSMR para bloquear la señalización a través OSMR cynomolgus se exploró usando dos ensayos, ya sea con OSM humana o IL-31 humana como el ligando.

[0257] En la primera pantalla, se evaluaron los anticuerpos para determinar su capacidad para bloquear la señalización de OSM a través de OSMR cynomolgus utilizando una línea de células epiteliales de riñón primario. La estimulación de estas células con cynomolgus (cyno) OSM induce la fosforilación de STAT3 y su posterior translocación al núcleo. Las células se sembraron a 3.000 células por pocillo en placas Costar de 384 pocillos y se dejaron adherir durante la noche. Las células se trataron previamente con sobrenadantes de anticuerpos durante veinte minutos y, a continuación, se estimularon con 80% de picosis OSM durante 30 minutos. Las células luego se lavaron 3X en PBS, se fijaron con una solución de formaldehído al 3,5%, se lavaron (3X en PBST) y se permeabilizaron con una solución de Triton X-100 al 0,5%. Las células luego se tiñeron con un anticuerpo anti-phosphoSTAT3 durante una hora, se lavaron y se tiñeron con un anticuerpo conjugado con AlexaFluor (todo contenido dentro del HitKit de Cellomics). Las placas se cubrieron y leyeron en el instrumento ArrayScan utilizando el algoritmo propietario de Cellomics para generar un valor de intensidad nuclear y un valor de intensidad citoplásmica. Los resultados se informaron como la diferencia entre estos dos valores y se normalizaron aún más para controlar los datos que contienen células estimuladas al máximo y células tratadas con medios (POC).

[0258] En el segundo ensayo, se evaluaron los anticuerpos para su capacidad de inhibir una señal proliferativa de IL-31 a través de OSMR cynomolgus en una línea celular estable que sobreexpresa cyno IL-31RA y OSMR. De manera similar al Ejemplo 2, las células BaF3 se colocaron en placas de 96 pocillos a una densidad de 20.000 células por pocillo. Anticuerpos y ligando (cynomolgus IL-31, en casa, es decir, Amgen, Seattle, WA) se agregaron a los pocillos hasta un volumen final de 100 µL, y las placas se incubaron durante 72 horas en CO<sub>2</sub> al 5%, cámara humidificada a 37C. Después de la incubación, se agregaron 20 µL de Alamar Blue a cada pocillo y las placas se devolvieron a la incubadora. Las placas se leyeron en el lector de placas Molecular Devices Vmax (570-600 nm) en varios puntos de tiempo posteriores a la adición de Alamar Blue.

[0259] Los resultados de los dos ensayos se presentan en la Tabla 5 a continuación con la CI50 para cada anticuerpo se muestra para ambos ensayos. Los resultados confirman que cada uno de los anticuerpos 1, 2 y 3 son potentes inhibidores de la señalización mediada por OSM e IL-31.

Tabla 5

CI50	Ab1	Ab2	Ab3
OSM	1,26 nM	518 pM	1,24 nM
IL-31	225 pM	29,3 pM	6,87 nM

#### EJEMPLO 4: Combinación de epítopos de anticuerpos anti-OSMR

[0260] Se realizaron estudios de competición de anticuerpos para caracterizar los epítopos de los anticuerpos anti-OSMR xenomouse. Se puede considerar que los anticuerpos que compiten entre sí vinculan el mismo sitio con la diana. En estos experimentos, se capturaron OSMR o anticuerpos irrelevantes en perlas de Luminex recubiertas con estreptavidina previamente unidas a un anticuerpo de captura (anticuerpo anti-IgG Fc de ratón monovalente biotinilado). Se añadió antígeno o tampón OSMR (sin antígeno) a los pocillos, y se añadió un anticuerpo de sonda a

cada pocillo y se detectó con un anticuerpo anti-IgG Fc de ratón monovalente marcado con PE. Se midió la intensidad media de fluorescencia de cada pocillo. Para una referencia completa, véase Jia et al., J. Immunol. Methods 288: 91-8, 2004. La detección de fluorescencia en un pozo dado indicó que el anticuerpo de la sonda era capaz de unirse a OSMR, incluso en presencia del otro anticuerpo OSMR, lo que demuestra que se unen a epítopos separados. Se encontró un mínimo de tres contenedores como se muestra en la Tabla 6 a continuación.

5 **Tabla 6**

<b>Combinación 1</b>	Ab4
<b>Combinación 2</b>	Ab1, Ab2, Ab3, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab12 y Ab13
<b>Combinación 3</b>	Ab14

10 EJEMPLO 5: Determinación de afinidad de anticuerpos anti-OSMR15 **[0261]** Se determinaron las afinidades de los anticuerpos anti-OSMR. Se realizaron determinaciones constantes de la velocidad cinética para investigar la interacción de los anticuerpos 1-3 (Abs 1-3) con la OSMR humana.20 **[0262]** El análisis del biosensor se realizó a 25°C en un sistema de tampón HBS-EP + (IX) (HEPES 10 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3,0 mM, surfactante P20 al 0,05%) utilizando un biosensor óptico Biacore 3000 equipado con un Sensor de chip CM5. Todos los reactivos se mantuvieron a 8°C antes de la inyección. La IgG antihumana de cabra (Jackson ImmunoResearch, n.º 109-005-098) se inmovilizó (< 3000 RU) en el chip sensor mediante un acoplamiento de amina estándar a las Células de Flujo 1 y 2 y luego se bloqueó con etanolamina. Se preparó hOSMR.FH en tampón de funcionamiento a 150 nM y se diluyó 3 veces hasta 0,617 nM. Los anticuerpos 1-3 se diluyeron (0,25 a 0,5 µg/ml) en un tampón de funcionamiento. Los anticuerpos se inyectaron (15 µL) en la célula de flujo 2 a una velocidad de flujo de 10 µL/min. Cerca de 50 RU de anticuerpo fue capturado. La superficie se dejó estabilizar (90 s) y luego cada concentración (150, 50,0, 16,7, 5,56, 1,85 y 0,617) de hOSMR se pasó sobre las células de flujo 1 y 2 a una velocidad de flujo de 50 µL/min para observar la asociación (5 min) y disociación (5 min). Las muestras se ejecutaron por duplicado y en orden aleatorio.25 **[0263]** Se inyectaron blancos de analito de tampón (0 nM hOSMR) antes, entre y después de las inyecciones de muestra. Se inyectaron anticuerpos (15 µL) sobre la célula de flujo 2 a una velocidad de flujo de 10 µE/min. Cerca de 50 RU de anticuerpo fue capturado. La superficie se dejó estabilizar (90 s) y luego cada concentración (150 nM) de hOSMR se pasó sobre las células de flujo 1 y 2 a un caudal de 50 µL/min para observar la asociación (5 min) y la disociación (1-2 h). Las muestras se realizaron por triplicado.30 **[0264]** Se inyectaron blancos de analito de tampón (0 nM hOSMR) antes y después de las inyecciones de muestra. La superficie se regeneró a un caudal de 50 µL/min con dos inyecciones de glicina 10 mM (pH 1,5, 50 µL). Esto fue seguido por una inyección de tampón (15 s).35 **[0265]** Los datos se analizaron con el software Scrubber 2.0 de la siguiente manera. Los datos de la célula de flujo 2 se restaron de los datos de la célula de flujo 1 (referencia en blanco). Los datos de referencia restados (2-1) se restaron (doble referencia) de los datos de concentración 0 nM más cercanos. Los datos de disociación larga con doble referencia se ajustaron a un modelo de unión 1:1 para determinar la constante de velocidad de disociación (kd). Esta constante de velocidad de disociación se usó como un parámetro fijo para ajustar los datos de disociación corta de doble referencia en un modelo de unión 1:1 para determinar la constante de velocidad de asociación (ka) y la constante de disociación de equilibrio (Kd).40 **[0266]** Los reactivos se portaron bien bajo las condiciones experimentales y los datos (véase la Tabla 7 a continuación) encajan bastante bien en un modelo de unión 1:1.45 **Tabla 7**

Anticuerpo	Antígeno	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_d$ (pM)
<b>Ab1</b>	huOSMR	$4,47 \times 10^5$	$9,95 \times 10^{-5}$	221
<b>Ab2</b>	huOSMR	$5,50 \times 10^5$	$1,81 \times 10^{-5}$	32,7
<b>Ab3</b>	huOSMR	$9,47 \times 10^4$	$1,02 \times 10^{-4}$	1080

55 EJEMPLO 6: Anticuerpos anti-OSMR60 **[0267]** Los anticuerpos totalmente humanos dirigidos contra OSMR humana se generaron utilizando la tecnología XENOMOUSE® se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 1. Cada uno de los anticuerpos 1, 2, y 3 demostraron ser potentes inhibidores de señalización mediada por OSM- y/o IL-31. Las secuencias de los anticuerpos 1, 2 y 3 (es decir, Ab1, Ab2 y Ab3) se determinaron y se exponen en la Tabla 8 a continuación.

## ES 2 692 657 T3

**Tabla 8**

5	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
10	Ab1 - nucleótido de cadena pesada	3	caggtgcagctggtgcagtctgggctgaggtaagaaggcctggggc ctcagtgaaggcttcctcaaggctctggatacacacccaccaggtt atgatatcaactgggtgcacaggccactggacagggcttgagtgg atggatggatgaaccctaataatgtgtaaacacagactatgcacagaa gttccaggccagaglccaccatgaccaggAACATTCCATAAGCACGG cctacatttagctgagcagccttagatctgaggacacggccgttat tactgtgcgagagatatggtgctgcgaataacggattactacttcta ctacggtatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctct cagctgaccaaggcccattcggtttccccctggcgccctgtcc aggagcacctccgagagcacagcggccctggctgcctggtaagga ctacttccccaaccgggtacgggtgcgttggaaactcaggogctctga ccagcggcgtgcacacccctccagctgtcctacagtctcaggactc tactccctcagcagcgtggtgaccgtgcctccagcaacttcggcac ccagacccatacctgcaacgttagatcacaaggccagcaacaccaagg tggacaagacagttgagcgcaaattgttgtcgagtgcggccaccgtgc ccagcaccacccctgtggcaggaccgtcagttcttcccttccccccaaa acccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtaacgtgc tgggtggacgtgagccacgaaagaccccgagggtccagttcaactgg tacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacggga ggagcagttaacacgacacgttccgtgtggtaacgtcaccgtcaccgttgc tgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcacggatctcc aacaaaggcctccagccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaa aggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctggccatccgg aggagatgaccaagaaccacgggtcagcgtacccgtggtaaaaggc ttctacccagcgcacatcgccgtggagtgggagagcaatggcagcc ggagaacaactacaagaccacacccatgtggactccgacggct ccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcagggtggcag cagggaaacgtcttctcatgctccgtatgcacggctctgcacaa ccactacacgcagaagacgcctccctgtctccggtaaa

45

50

55

60

65

# ES 2 692 657 T3

(continúa)

	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
5	Ab2 - nucleótido de cadena pesada	4	caggtgcagctggtcagtctgggctgaggtaagaagaagcctgggc ctcagtgaaggctccctgcacaggcttcggatacaccttcaccaggat atgaaatcaactgggtgcgacaggccactggacaaggcttgcgtgg atggatggatgaaccctaacagtggttacacaggctatgcacagaa gttccaggcagagtccaccatgaccagaacacacctccataagcacag ccatcatgaaatgagcagcctcgatctgaggacacggcgttat tactgtgcagagatatagtggctgcgaatacggattactacttcta ttatggatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcc cagctagcaccaaggcccattcggtctccccctggccctgtcc aggacacccctcgagagcacagccctggctgcctggtaaggaa ctactcccccaaccggtgacggtgtcgttggaaactcaggcgtctga ccagccggcgtgcacacccctcgatgttccatcacttcctcaggactc tactccctcagcagcgtggtgaccgtccctccagcaacttcggcac ccagacccatcacctgcaacgttagatcacaagccagcaacaccaagg tgagacaagacagtggcgttgcgaaatgttgcgatgtccaccgtgc ccagcaccacccctgtggcaggaccgtcagttcccttccccccaaa acccaaggacaccctcatgatctcccgacccctgaggtcacgtgc tggtgtggacgttgagccacgaagaccggcagggtccagttcaactgg tacgtggacggcgtggaggtgcataatgcaagacaaagccacggga ggagcagtcaacacgacgttccgtgtggcagcgtccaccgttgc tgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcacaggctcc aacaaaggcccccacccatcgagaaaaccatctccaaaaccaa agggcagcccccagaaccacaggtgtacaccctgccccatccggg aggagatgaccaagaaccacagggtcagccctgacccctggcaaggc ttctaccccaagcgcacatcgccgtggagtgagacaatggcagcc ggagaacaactacaagaccacacccatgtggactccgacggct ccttcttcttctacagcaagctcaccgtggacaagagcagggtggc caggggaaacgtttctcatgtccgtatgcacggctctgcaccaa ccactacacgcagaagacgcctccctgtctccggtaaaa
10			
15			
20			
25			
30			
35			
40			
45	Ab3 - nucleótido de cadena pesada	5	cagttcatctggtcagtctggagctgaggtaagaagaagcctgggc ctcagtgaaggctccctgcacaggcttcggatacaccttaccagct atggatcaagctgggtgcacaggccctggacaaggcttgcgtgg atggatggctcagcactacagtggtaacacaaactatgcacagaa gtccaggcagagtccaccatgaccacagacacatccacgagcacag ccatcatggagctgaggagccgtgatgttccctcagctgacccat tactgtgcagagagggacttctactactacggatggacgtctgggg ccaggggaccacggtcaccgtctccctcagctgacccat cggtcttccccctggccctgtccaggagcacctccgagagcaca gcggccctggctgcctggtaaggactacttcccccaaccggtgac ggtgtcgtggactcaggcgtctgaccacggcgtgcacacccat cagctgtccctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgg accgtgcctccagcaacttcggcaccacacccatgcacacgt
50			
55			
60			
65			

(continúa)

	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
5			agatcacaagcccagcaacacccaaggtagacaagacagttgagcgca aatgttgtgtcgagtgcggccaccgtgcggcaggcaccacctgtggcagga ccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgat ctccccggaccctgaggtcacgtgcgtgggtggacgtgagccacg aagaccccgaggtccagttcaactggtaacgtggacggcgtggaggtg cataatgccaagacaaaagccacgggaggagcagttcaacacgacacgtt ccgtgtggcagcgtcctcaccgttgcaccaggactggctgaacg gcaaggagttacaagtgcaggtctccaacaaaaggcctccagcccc atcgagaaaaaccatctccaaaaccaaaggcagccccgagaaccaca ggtgtacaccctgcffffatcccgaggagatgaccaagaaccagg tcagcctgacctgcctggtcaaaggctcttaccggcagcagcatcgcc gtggagtggagagcaatggcagccgagaacaactacaagaccac acccatgctggactccgacggctccttcttctacagcaagc tcaccgtggacaagagcaggtggcagcagggaaacgtcttctcatgc tcctgtatgcattggctctgcacaaccactacacgcagaagagcct ctccctgtctccggtaaa
10			
15			
20			
25			
30	Ab1 - proteína de cadena pesada	6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEW MGWMNPNSGNTDYAQKFQGRVTMTRNI SISTAYIELSSLRSEDTAVY YCARDMVAANTDYYFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGL YSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PAPPVAGPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
35			
40	Ab2 - proteína de cadena pesada	7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYEINWVRQATGQGLEW MGWMNPNSGTYGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMEMSSLRSEDTAVY YCARDIVAANTDYYFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGL YSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PAPPVAGPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
45			
50	Ab3 - proteína de cadena pesada	8	QVHLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWLSTYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDSTSTAYMELRSLSRSDDTAVY YCARGNFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVV TVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECP PAPPVAGPSVFLFPPPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPMLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
55			
60			

(continúa)

	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
5	Ab1 - proteína de cadena pesada	9	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEW MGWMNPNSGNTDYAQKFQGRVTMTRNISISTAYIELSSLRSEDTAVY YCARDMVAANTDYYFYYGMDVWGQGTTTVSS
10	Ab2 - proteína de cadena pesada	10	QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYEINWVRQATGQGLEW MGWMNPNSGYTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMEMSSLRSEDTAVY YCARDIVAANTDYYFYYGMDVWGQGTTTVSS
15	Ab3 - proteína de cadena pesada	11	QVHLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEW MGWLSTYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDSTSTAYMELRSLRSDDTAVY YCARGNFYYYGMDVWGQGTTTVSS
20	Ab1 - CDR1 de cadena pesada	12	SYDIN
25	Ab2 - CDR1 de cadena pesada	13	SYEIN
30	Ab3 - CDR1 de cadena pesada	14	SYGIS
35	Ab1 - CDR2 de cadena pesada	15	WMNPNSGNTDYAQKFQG
40	Ab2 - CDR2 de cadena pesada	16	WMGWMNPNSGYTGYAQKFQG
45	Ab3 - CDR2 de cadena pesada	17	WLSTYSGNTNYAQKLQG
50	Ab1 - CDR3 de cadena pesada	18	DMVAANTDYYFYYGMDV
55	Ab2 - CDR3 de cadena pesada	19	DIVAANTDYYFYYGMDV
60	Ab3 - CDR3 de cadena pesada	20	GNFYYYGMDV
	Ab1 - nucleótido de la cadena ligera	21	cagtctgtgctgactcagccaccctcagcatctgggaccccccggca gagggtcacatctttgttcttgcggaaagcagctccaaacgtcgaaagta atactgttaagcttgttaccaacacagctccaggaaacggcccccaactc ctcataactataataatccggccctccggggccctgaccgatt ctctggctccaagtctggcacctcagccctccctggccatcagtggc tccagtctgaggatgaggctgattatttctgtgcagcgtttagatgac agtctgaatggtgtgtattccggcgaggaccacactgaccgtctt aggccaaaccgaaagccggccctcggtcactctgttcccgccctctt ctgaggagcttcaagccaaacaaggccacactgggtgtctcataagt gacttctacccggagccgtgacagtggcttgcggcagatagcaggcccgtaaggccggagtgagaccaccacaccctccaaacaaagca aacaacaagtacgcggccagcagcttatctgagcctgacgcctgagcag tggaaagtcccacagaagctacagctgccaggcgtacgcgtacatgaagggag caccgtggagaagacagtggccctacagaatgtca

(continúa)

	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
5	Ab2 - nucleótido de la cadena ligera	22	cagtctgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggaccccccggca gagggtcaccatcttcttgcggaaagcaactccaacatcgaaagta atactgtcaactggtaccaccagctccaggaacggccccaaactc ctcatctataatattaataagcggccctcaggggtccctgaccgatt ctctggctccaagtctggctccctcagcctccctggccatcagtgggc tccagtctgaggatgaggctgatttactgttcaacatggatgac agcttggatgggtgtgttattcggcggagggaccaagctgaccgtct agggcaaccgaaagcggcgccctcggtaactctgttcccgccctc ctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtggtctcataagt gacttctaccggagccgtgacagtggcttggaggcagatgcag ccccgtcaaggcgggagtgagaccaccacaccctccaaacaaagca acaacaagtacgcggccagcagctatctgagcctgacgcctgagcag tggaaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcataaggag caccgtggagaagacagtggccctacagaatgttca
10	Ab3 - nucleótido de la cadena ligera	23	gaaatttgtttgacgcagtctccaggcaccctgtcttgcagg ggaaaagagccaccctcttcgtcaggccagtcagatgttacgc gctacttagcctggtaaccaggcagaaacacctggccaggctccagg ctcatctttggcttccagcaggccactggcatcccagacagg cagtggcagtgggtctggacagacttcaactcaccatcagc tggagcctgaagatttgcagtttgcattactgtcagc tgcgttatggattaaacg tacgggtggctgcaccatctgttcatcttccgc atgttcaaacttggactgcctctgtgtgc tatcccagagaggccaaagtac atcgggtaactccaggagactgtcac gacacccctcagc gagaaacaca acttacgc ctcgccgtcaca gatc acttca cagg ggag gtgt
15	Ab1 - proteína de cadena ligera	24	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNVGSNTVSWYQQLPGTAPKL LIYTNNRRPSGVPDFSGSKSGTSASLAIISGLQSEDEADYFCAALDD SLNGVVFGGGTAKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
20	Ab2 - proteína de cadena ligera	25	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSNTVNWYHQLPGTAPKL LIYNINKRPSGVPDFSGSKSGSSASLAIISGLQSEDEADYYCSTWDD SLDGVVFGGGTAKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
25	Ab3 - proteína de cadena ligera	26	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRL LIFGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPPITFGQGTRLEIKRTVAAPS FIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQEVTEQDSK DSTYSLSSTTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
30	Ab1 - Variable de cadena ligera	27	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSNVGSNTVSWYQQLPGTAPKL LIYTNNRRPSGVPDFSGSKSGTSASLAIISGLQSEDEADYFCAALDD SLNGVVFGGGTAKLTVLG
35			
40			
45			
50			
55			
60			

(continúa)

	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
5	Ab2 Variable Cadena Ligera	- 28	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSNSNIGSNTVNWYHQLPGTAPKL LIYNINKRPSGVPDFSGSKSGSSASLAISGLQSEDEADYYCSTWDD SLDGVVFGGGTKLTVLG
10	Ab3 Variable Cadena Ligera	- 29	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQS VSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIFGASSRATGIPDRESGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPPITFGQGTRLEIKR
15	Ab1 - CDR1 de Cadena Ligera	30	SGSSSNVGSNTVS
20	Ab2 - CDR1 de Cadena Ligera	31	SGSNSNIGSNTVN
25	Ab3 - CDR1 de Cadena Ligera	32	RASQSVSSSYLA
30	Ab1 - CDR2 de Cadena Ligera	33	TNNRRPS
35	Ab2 - CDR2 de Cadena Ligera	34	NINKRPS
40	Ab3 - CDR2 de Cadena Ligera	35	GASSRAT
	Ab1 - CDR3 de Cadena Ligera	36	AALDDDSLNGVV
	Ab2 - CDR3 de Cadena Ligera	37	STWDDSLDGVV
	Ab3 - CDR3 de Cadena Ligera	38	QQYGSSPPIT

EJEMPLO 7: Anticuerpos anti-OSMR modificados

45 [0268] Se generaron las versiones modificadas de Ab1, Ab2 y Ab3. Para las tres formas modificadas de los anticuerpos, se eliminó la lisina en el extremo C de la cadena pesada. Para Ab1 y Ab2, el sitio de glicosilación en la posición 73 se eliminó sustituyendo la asparagina en la posición 73 con un ácido aspártico. Estas variantes se denominan Ab1-N73D y Ab2-N73D. Las secuencias de los anticuerpos modificados se exponen en la Tabla 9 a continuación (los nucleótidos modificados y los aminoácidos están subrayados).

50

55

60

65

**Tabla 9**

	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
5			
10	Ab1 versión 2 - Nucleótido de cadena pesada (se eliminó la lisina N73D/C-terminal)	47	caggtgcagctggtcagtctggggctgaggtaagaagaagcctggggc ctcaagtgaaggctccctgcaggcttgcatacacacccatcaccagg atgatatcaactgggtgcacaggccactggacagggttttagtgg atggatggatgaaccctaatacggttaacacagactatgcacagaa gttccaggcagagtaccatgaccaggacattccataa cctacatttagtgcaggcactgaggacacggccgttttat tactgtgcgagagatatggtgctgcgaatacggattactacttcta ctacggtatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctc cagctagcaccaggccatcggtttccccctggccgtctgc aggagcaccccgagagcacagcggccctggctgcctggtaagg ctacttcccgaaccgggtgacggtgtcggtaactcaggcgctctga ccagcggcgtgcacaccccttcagctgtcctacagtccctcaggactc tactccctcagcagcgtggtagccgtccctccagcaacttcggcac ccagacctacacctgcaacgttagatcacaaggccagcaacaccaagg tggacaagacagttgagcgcataatgttgcgtcgagtgc ccagcaccacccctgtggcaggaccgtcagttcccttcccccaaa acccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggta tggtgtggacgtgagccacgaagaccccgaggta tacgtggacggcgtggaggtgcataatgcca ggagcagttcaacacgacgttccgtgtggtagc tgcaccaggactggctgaa aacaaggccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaa agggcagcccgagaaccacaggta aggagatgaccaagaaccaggta tttacccctcagc ggagaacaactacaaggaccacccatccatgc ccttcttcctctacagcaagct cagggaacgttctcatgc ccactacacgcagaagagc 50 55 60 65

45

50

55

60

65

(continúa)

	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
5	Ab2 versión 2 - Nucleótido de cadena pesada (se eliminó la lisina N73D/C-terminal)	48	caggtgcagctggtcagtctggggctgaggtaagaagaagcctggggc ctcaagtgaaggctccctcaaggctctggatacacacccatcaccaggat atggaaatcaactgggtgcacaggccactggacaaggcttgagtgg atggatggatgaaccctaacagtggttacacaggctatgcacagaa gttccaggcagagtccatgaccaggacacacccataaagcacag cctacatggaaatgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtat tactgtgcagagatatagtggctgagaatacggattactacttcta ttatggtatggacgtctggggccaagggaccacggtcaccgtctcct cagtagcaccaagggccatcggtcttccctggccctgtcc aggagcacctccgagagcacagcggccctggctgcctggtaagga ctacttcccgaaccgggtgacggtgtcgactcaggcgctctga ccagcggcgtgcacacccatcggtcttccctacagtcctcaggactc tactccctcagcagcgtggtgaccgtgcctccagcaacttcggcac ccagacctacacctgcaacgttagatcacaagccagcaacaccaagg tggacaagacagttgagcgc当地atgttgcgtcgagtgcaccaccgtgc ccaqcaccacccatgtqqcaaggaccgtcaqtcttcctcttcccccaaa acccaaggacaccctcatgatctccggaccctgaggtcacgtgc tgggtggacgttgagccacgaaagaccccgaggtccagttcaactgg tacgtggacggcgtggaggtgcataatgcaagacaagccacggga ggagcagttcaacagcacgttccgtgtgcgtcaccgttgc tgcaccaggactggctgaaacggcaaggagttacaagggtcaaggctc aacaaggccctccagccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaa agggcagcccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatccggg aggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtaaaggc tttaccccgacatcgccgtggagtgagggagagcaatggcagcc ggagaacaactacaagaccacacccatctccatgtggactccgacggct ccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcag cagggaaacgtcttcgtatgcgtcatgcatgaggctctgcacaa ccactacacgcagaagagcctccctgtctccgggt
10			
15			
20			
25			
30			
35			
40			

45

50

55

60

65

(continúa)

	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
5	Ab3 - Nucleótido de cadena pesada (se eliminó la lisina C-terminal)	49	caggttcatctggtcagtctggagctgaggtgaagaaggccctggggc ctcaagtgaaggctcctgcaggcttgcgttacaccttaccagct atggtatcagctgggtgcacaggcccctggacaaggcgttgagtgg atgggatggctcagcacattacagtgtaacacaaactatgcacagaa gctccaggcagagtaccatgaccacacatccacgagcacag cctacatggagctgaggagcctgagatctgacgacacggccgtgtat tactgtgcgagagggaaacttctactactacgttatggacgtctgggg ccaggggacacacggtcaccegtctcctcagcttagcaccacaggccccat cggtcttccccctggccctgtccaggagcacccctcgagagcaca gcggccctggctgcctggtaaggactacttccccgaaccgggtgac ggtgtcgtgaaactcaggcgctctgaccagcggcgtgcacacettcc cagctgtcctacagtccctcaggactctactccctcagcagcgtgggt accgtgcctccagcaacttcggcacccagacacctacacgtcaacgt agatcacaagcccagcaacaccaagggtgacaagacagttgagcgc aatgttgtcgtcagtgccaccgtgcccaggaccacctgtggcagga ccgtcagtcttctcttcccccaaaaacccaaggacaccctcatgt ctcccgacccctgaggtcacgtcgtgtggacgtgagccacg aagaccccgaggtccagttcaactggtaactgttgcgtggcgtggaggt cataatgccaagacaaagccacggaggagcagttcaacagcacgtt ccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgcaccaggactggctgaacg gcaaggagtacaagtgcacaggctccaacaaaggctccaccc atcgagaaaaccatctccaaaaccaaaggccagccccgagaacc ggtgtacaccctgccccatccggaggagatgaccaagaaccagg tcagcctgacccctgcctggtaaaaggcttctacccacgcacatcgcc gtggagtggagagcaatggcagccggagaacaactacaagacc accccccattctggactccgcacggctccttcttctacac tcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggaaacgtcttcatgc tccgtgatgcatgaggctgcacaaccactacacgcagaagagc ctccctgtctccgggt
10	Ab1 versión 2: proteína de cadena pesada (se eliminó la lisina N73D/C-terminal)	50	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEW MGWMNPNSGNTDYAQKFQGRVTMTRD <b>D</b> I SISTAYIELSSLRSEDTAVY YCARDMVAANTDYYFYYGMDVWQGTTTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALQSSGL YSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPNTKVDKTVERKCCVECPPC PAPPVAGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPAPIEKTISKTKQPREPVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSSFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
15			
20			
25			
30			
35			
40			
45			
50			
55			
60			
65			

(continúa)

	<b>Descripción</b>	<b>SEQ ID NO</b>	<b>Secuencia</b>
5	Ab2 versión 2 - Proteína de cadena pesada (se eliminó lisina N73D/C-terminal)	51	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYEINWVRQATGQGLEW MGWMNPNSGYTGYAQKFQGRVTMTR <u>D</u> T S I STAYMEMSSLRSEDTAVY YCARDIVAANTDYYFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCRS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALVQSSGL YSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPC PAPPVAGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPAPIEKTIKTKQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTPPMILDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
10	Ab3 versión 2 - Proteína de cadena pesada	52	QVHLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISMWVRQAPGQGLEW MGWLSTYSGNTNYAQLQGRVTMTTDTSI STAYMELRSLRSDDTAVY
15	(se eliminó lisina C-terminal)		YCARGNFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST AALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPALVQSSGLYSLSSVV TVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAG PSVFLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGEV HNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTIKTKQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESENQGPENNYKTPPMILDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
20	Ab1 versión 2 - Región variable de cadena pesada (se eliminó lisina N73D/C-terminal)	53	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEW MGWMNPNSGNTDYAQKFQGRVTMTR <u>D</u> I S I STAYIELSSLRSEDTAVY YCARDMVAANTDYYFYYGMDVWGQGTTVTVSS
25			
30			
35			
40	Ab2 versión 2 - Región variable de cadena pesada (se eliminó lisina N73D/C-terminal)	54	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYEINWVRQATGQGLEW MGWMNPNSGYTGYAQKFQGRVTMTR <u>D</u> T S I STAYMEMSSLRSEDTAVY YCARDIVAANTDYYFYYGMDVWGQGTTVTVSS
45			
50	[0269] Los experimentos ELISA se realizaron en varios formatos (Captura ELISA para el formato sin avidez; Sandwich ELISA para el formato en fase de solución; y ELISA directo para el formato de avidez en estado sólido) utilizando anticuerpos que contienen las regiones variables de Ab1 o Ab2 (o la variante N73D de Ab1 o Ab2) con diferentes regiones Fc.		
55	[0270] Ab1 y Ab2 contienen cada uno los dominios CH1, CH2, CH3 de origen IgG2 humano. Tal como se usa en el presente documento, los términos "Ab1" y "Ab1 IgG2 WT" se refieren al mismo anticuerpo. De manera similar, los términos "Ab2" y "Ab2 IgG2 WT" se refieren al mismo anticuerpo.		
60	[0271] Los anticuerpos identificados como "IgG4P agly/IgG1" contienen las regiones variables de Ab1 o Ab2 (o la variante N73D de Ab1 o Ab2) fusionadas con el dominio CH1 de la IgG4 humana, la bisagra de la IgG4 humana con una mutación de Ser a Pro (en la posición 228) para reducir la mezcla aleatoria, el dominio CH2 de IgG4 humana con una mutación de Asn a Gln (en la posición 297) para eliminar el sitio de glicosilación unido a N, y el dominio CH3 de la IgG1 humana. El marco "IgG4P agly/IgG1" se describe en la solicitud de patente publicada de EE.UU. Nº US 2012/0100140.		
65	[0272] Los resultados de ELISA indican que la eliminación de sitios de glicosilación a través de la sustitución N73D		

no afectó a la unión de los anticuerpos modificados a OSMR. Véase Tabla 10.

Tabla 10

Anticuerpo	Captura (CE50) nM	Sándwich (CE50) nM	Directo (CE50) nM
Ab1 IgG2 WT	10,2	0,581	0,184
Ab1 N73D IgG2	4,85	0,359	0,0728
Ab1 N73D IgG4P agly/IgG1	2,86	0,05	0,0626
Ab2 IgG2 WT	3,63	0,366	0,182
Ab2 N73D IgG2	5,49	0,343	0,179
Ab2 N73D IgG4P agly/IgG1	1,61	0,064	0,0558

- [0273] Los estudios de unión se realizaron utilizando el método BIACore. Los anticuerpos que contienen las regiones variables de Ab1 o Ab2 (o la variante N73D de Ab1 o Ab2) con diferentes regiones Fc se inmovilizaron en un chip CM4 (GE lifesciences) según los protocolos del fabricante. Se usó OSMR soluble como el analito. La eliminación del sitio de glicosilación en Ab1 y Ab2 a través de la sustitución N73D mejoró las afinidades de unión. Para Ab1, la sustitución mejoró la tasa de Kon, mientras que para Ab2 mejoró la tasa de Koff. Véase Tabla 11.

Tabla 11

Anticuerpo	Kon (M-1s-1)	Koff (1/s)	KD (M)
Ab1 IgG2 WT	1,64E + 05	1,50E-04	0,913E-9
Ab1 N73D IgG2	2,49E + 05	1,68E-04	0,675E-9
Ab2 IgG2 WT	1,88E + 05	1,89E-04	1,01E-09
Ab2 N73D IgG2	1,73E + 05	4,99E-05	0,289E-9

- [0274] La estabilidad de los fragmentos Fab se determinó mediante la evaluación del despliegamiento térmico de anticuerpos. La alta temperatura de fusión de los fragmentos Fab se correlaciona directamente con una mayor estabilidad. La eliminación de los sitios de glicosilación en Ab2 a través de la sustitución N73D no afectó la estabilidad térmica de los fragmentos Fab y mostró efectos menores en Ab1, según se evaluó mediante experimentos de fluorimetría de barrido diferencial. Véase Tabla 12.

Tabla 12

Anticuerpo	Fab Tm (Celsius)	Error estándar (Celsius)
Ab1 IgG2 WT	73,24	0,0097
Ab1 N73D IgG2	71,21	0,005
Ab1 N73D IgG4P agly/IgG1	74,23	0,014
Ab2 IgG2 WT	76,71	0,0096
Ab2 N73D IgG2	76,54	0,14
Ab2 N73D IgG4P agly/IgG1	76,69	0,018

- [0275] Se evaluó la capacidad de los anticuerpos anti-OSMR modificados para bloquear la señalización a través de OSMR humana. Se evaluó la capacidad de los anticuerpos modificados para inhibir la proliferación de una línea celular BaF\_hu-IL31R/OSMR/gp130 en presencia de IL31, OSM o IL31 y OSM. Los resultados se presentan en las Tablas 13 y 14 a continuación, con el CI50 para cada anticuerpo mostrado. Los resultados confirman que las versiones modificadas de Ab1 y Ab2 son potentes inhibidores de la señalización mediada por OSM e IL-31.

Tabla 13

Anticuerpo	IL31 (CI50)	OSM (CI50)	IL31/OSM (CI50)
Ab2	0,3828	0,3528	< 1,9
Ab1 IgG2 WT	0,6691	0,5298	4,004
Ab1 N73D IgG2	0,7565	0,5226	3,702
Ab1 N73D IgG4P agly/IgG1	0,4672	0,5657	3,080

**Tabla 14**

<b>Anticuerpo</b>	<b>IL31 (CI50)</b>	<b>OSM (CI50)</b>	<b>IL31/OSM (CI50)</b>
<b>Ab2</b>	0,4426	0,4019	1,8
<b>Ab2 IgG2 WT</b>	0,3671	0,4758	2,049
<b>Ab2 N73D IgG2</b>	0,2191	0,1859	1,474
<b>Ab2 N73D IgG4P agly/IgG1</b>	0,2838	0,2401	1,276

10

## LISTADO DE SECUENCIAS

**[0276]**15 <110> BIOGEN IDEC MA INC.  
Arnett, et al.

&lt;120&gt; PROTEÍNAS DE UNIÓN AL ANTÍGENO DE RECEPTOR M DE ONCOSTATINA

20 &lt;130&gt; 01017/47340

&lt;160&gt; 46

&lt;170&gt; PatentIn versión 3.5

25 &lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 979

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

30 &lt;220&gt;

&lt;221&gt; MISC\_FEATURE

&lt;223&gt; OSMR Humana

35 &lt;400&gt; 1

40

45

50

55

60

65

## ES 2 692 657 T3

Met Ala Leu Phe Ala Val Phe Gin Thr Thr Phe Phe Leu Thr Leu Leu  
1 5 10 15

5

Ser Leu Arg Thr Tyr Gln Ser Glu Val Leu Ala Glu Arg Leu Pro Leu  
20 25 30

10

Thr Pro Val Ser Leu Lys Val Ser Thr Asn Ser Thr Arg Gln Ser Leu  
35 40 45

15

His Leu Gln Trp Thr Val His Asn Leu Pro Tyr His Gln Glu Leu Lys  
50 55 60

20

Met Val Phe Gln Ile Gln Ile Ser Arg Ile Glu Thr Ser Asn Val Ile  
65 70 75 80

25

Trp Val Gly Asn Tyr Ser Thr Thr Val Lys Trp Asn Gln Val Leu His  
85 90 95

30

Trp Ser Trp Glu Ser Glu Leu Pro Leu Glu Cys Ala Thr His Phe Val  
100 105 110

35

Arg Ile Lys Ser Leu Val Asp Asp Ala Lys Phe Pro Glu Pro Asn Phe  
115 120 125

40

Trp Ser Asn Trp Ser Ser Trp Glu Glu Val Ser Val Gln Asp Ser Thr  
130 135 140

45

Gly Gln Asp Ile Leu Phe Val Phe Pro Lys Asp Lys Leu Val Glu Glu  
145 150 155 160

50

55

60

65

ES 2 692 657 T3

Gly Thr Asn Val Thr Ile Cys Tyr Val Ser Arg Asn Ile Gln Asn Asn  
 5 165 170 175  
 Val Ser Cys Tyr Leu Glu Gly Lys Gln Ile His Gly Glu Gln Leu Asp  
 10 180 185 190  
 Pro His Val Thr Ala Phe Asn Leu Asn Ser Val Pro Phe Ile Arg Asn  
 15 195 200 205  
 Lys Gly Thr Asn Ile Tyr Cys Glu Ala Ser Gln Gly Asn Val Ser Glu  
 20 210 215 220  
 Gly Met Lys Gly Ile Val Leu Phe Val Ser Lys Val Leu Glu Glu Pro  
 25 225 230 235 240  
 Lys Asp Phe Ser Cys Glu Thr Glu Asp Phe Lys Thr Leu His Cys Thr  
 30 245 250 255  
 Trp Asp Pro Gly Thr Asp Thr Ala Leu Gly Trp Ser Lys Gln Pro Ser  
 35 260 265 270  
 Gln Ser Tyr Thr Leu Phe Glu Ser Phe Ser Gly Glu Lys Lys Leu Cys  
 40 275 280 285  
 Thr His Lys Asn Trp Cys Asn Trp Gln Ile Thr Gln Asp Ser Gln Glu  
 45 290 295 300  
 Thr Tyr Asn Phe Thr Leu Ile Ala Glu Asn Tyr Leu Arg Lys Arg Ser  
 50 305 310 315 320  
 Val Asn Ile Leu Phe Asn Leu Thr His Arg Val Tyr Leu Met Asn Pro  
 55 325 330 335  
 Phe Ser Val Asn Phe Glu Asn Val Asn Ala Thr Asn Ala Ile Met Thr  
 60 340 345 350  
 Trp Lys Val His Ser Ile Arg Asn Asn Phe Thr Tyr Leu Cys Gln Ile  
 65 355 360 365  
 Glu Leu His Gly Glu Gly Lys Met Met Gln Tyr Asn Val Ser Ile Lys  
 70 370 375 380  
 Val Asn Gly Glu Tyr Phe Leu Ser Glu Leu Glu Pro Ala Thr Glu Tyr  
 75 385 390 395 400  
 Met Ala Arg Val Arg Cys Ala Asp Ala Ser His Phe Trp Lys Trp Ser

## ES 2 692 657 T3

	405	410	415
5	Glu Trp Ser Gly Gln Asn Phe Thr Thr Leu Glu Ala Ala Pro Ser Glu 420	425	430
10	Ala Pro Asp Val Trp Arg Ile Val Ser Leu Glu Pro Gly Asn His Thr 435	440	445
15	Val Thr Leu Phe Trp Lys Pro Leu Ser Lys Leu His Ala Asn Gly Lys 450	455	460
20	Ile Leu Phe Tyr Asn Val Val Val Glu Asn Leu Asp Lys Pro Ser Ser 465	470	475
25	Ser Glu Leu His Ser Ile Pro Ala Pro Ala Asn Ser Thr Lys Leu Ile 485	490	495
30	Leu Asp Arg Cys Ser Tyr Gln Ile Cys Val Ile Ala Asn Asn Ser Val 500	505	510
35	Gly Ala Ser Pro Ala Ser Val Ile Val Ile Ser Ala Asp Pro Glu Asn 515	520	525
40	Lys Glu Val Glu Glu Arg Ile Ala Gly Thr Glu Gly Gly Phe Ser 530	535	540
45	Leu Ser Trp Lys Pro Gln Pro Gly Asp Val Ile Gly Tyr Val Val Asp 545	550	555
50	Trp Cys Asp His Thr Gln Asp Val Leu Gly Asp Phe Gln Trp Lys Asn 565	570	575
55	Val Gly Pro Asn Thr Thr Ser Thr Val Ile Ser Thr Asp Ala Phe Arg 580	585	590
60	Pro Gly Val Arg Tyr Asp Phe Arg Ile Tyr Gly Leu Ser Thr Lys Arg 595	600	605
65	Ile Ala Cys Leu Leu Glu Lys Lys Thr Gly Tyr Ser Gln Glu Leu Ala 610	615	620
	Pro Ser Asp Asn Pro His Val Leu Val Asp Thr Leu Thr Ser His Ser 625	630	635
	Phe Thr Leu Ser Trp Lys Asp Tyr Ser Thr Glu Ser Gln Pro Gly Phe 645	650	655

ES 2 692 657 T3

ES 2 692 657 T3

## ES 2 692 657 T3

Trp Ser Asn Trp Ser Ser Trp Glu Glu Val Ser Val Gln Asp Tyr Leu  
 130 135 140

5

Gly Arg Gly Thr Leu Phe Val Phe Pro Lys Asp Lys Leu Val Glu Glu  
 145 150 155 160

10

Gly Ser Asn Val Thr Ile Cys Tyr Val Ser Arg Asn Ile Gln Asn Asn  
 165 170 175

15

Val Ser Cys Tyr Leu Glu Gly Lys Gln Ile His Gly Glu Gln Leu Asp  
 180 185 190

20

Pro His Val Thr Ala Phe Asn Leu Asn Ser Val Pro Phe Ile Arg Asn  
 195 200 205

25

Arg Gly Thr Asn Ile Tyr Cys Glu Ala Ser Gln Gly Asn Val Ser Lys  
 210 215 220

30

Gly Ile Glu Gly Ile Val Leu Phe Val Ser Lys Val Leu Glu Glu Pro  
 225 230 235 240

35

Lys Asp Phe Ser Cys Glu Ser Gln Asp Phe Lys Thr Leu His Cys Thr  
 245 250 255

40

Trp Asp Pro Gly Thr Asp Thr Ala Leu Gly Trp Ser Lys Gln Pro Ser  
 260 265 270

45

Gln Ser Tyr Thr Leu Phe Glu Ser Phe Ser Gly Glu Lys Lys Leu Cys  
 275 280 285

50

Thr His Lys Asn Trp Cys Asn Trp Gln Ile Thr Gln Asp Ser Gln Glu  
 290 295 300

55

Met Tyr Asn Phe Thr Leu Ile Ala Glu Asn Tyr Leu Arg Lys Arg Ser  
 305 310 315 320

60

Val Asn Ile Leu Phe Asn Leu Thr His Arg Val Tyr Leu Met Asn Pro  
 325 330 335

65

Phe Ser Val Asn Phe Glu Asn Val Asn Ala Thr Asn Ala Ile Met Thr  
 340 345 350

Trp Lys Val His Ser Met Arg Asn Asn Phe Thr Tyr Leu Cys Gln Ile  
 355 360 365

Glu Leu His Gly Glu Gly Lys Met Met Gln Tyr Asp Val Ser Ile Asn

## ES 2 692 657 T3

5	370	375	380
	Val Asn Gly Glu Tyr Phe Leu Ser Glu Leu Glu Pro Ala Thr Glu Tyr		
	385	390	395
10			400
	Met Ala Arg Val Arg Cys Ala Asp Ala Ser His Phe Trp Lys Trp Thr		
	405	410	415
15			
	Glu Trp Ser Gly Gln Asn Phe Thr Thr Leu Glu Ala Ala Pro Ser Glu		
	420	425	430
20			
	Ala Pro Asp Val Trp Arg Ser Val Asn Ser Glu Pro Gly Asn His Thr		
	435	440	445
25			
	Val Thr Leu Phe Trp Lys Pro Leu Ser Lys Leu His Ala Asn Gly Lys		
	450	455	460
30			
	Ile Leu Phe Tyr Asn Val Val Val Glu Asn Leu Asp Lys Pro Ser Arg		
	465	470	475
	480		
	Ser Glu Leu Arg Ser Ile Pro Ala Pro Ala Asn Ser Thr Lys Leu Ile		
	485	490	495
35			
	Leu Asp Arg Cys Ser Tyr Gln Ile Cys Val Thr Ala Asn Asn Ser Val		
	500	505	510
40			
	Gly Ala Ser Pro Ala Ser Ile Ile Val Ile Ser Ala Asp Pro Glu Asn		
	515	520	525
45			
	Lys Glu Val Glu Glu Glu Arg Ile Ala Gly Thr Glu Gly Gly Phe Ser		
	530	535	540
50			
	Leu Ser Trp Lys Pro Gln Pro Gly Asp Val Ile Gly Tyr Val Val Asp		
	545	550	555
	560		
55			
	Trp Cys Asp His Pro Gln Asp Val Leu Gln Trp Lys Asn Val Gly Pro		
	565	570	575
	Asn Thr Thr Ser Thr Val Ile Ser Thr Asp Ala Phe Arg Pro Gly Val		
	580	585	590
60			
	Arg Tyr Asp Phe Arg Ile Tyr Gly Leu Ser Thr Lys Arg Ile Ala Cys		
	595	600	605
65			
	Leu Leu Glu Lys Lys Thr Gly Tyr Ser Gln Glu Leu Ala Pro Ser Asp		
	610	615	620

## ES 2 692 657 T3

	Asn Pro His Val Leu Val Asp Met Leu Thr Ser His Ser Phe Thr Leu			
625	630	635	640	
5	Ser Trp Lys Asp Tyr Ser Thr Glu Ser Gln Pro Gly Phe Ile Gln Gly			
	645	650	655	
10	Tyr His Val Tyr Leu Lys Ser Lys Ala Arg Gln Cys His Pro Arg Phe			
	660	665	670	
15	Gln Lys Ala Val Leu Ser Asp Gly Ser Glu Cys Cys Arg Tyr Lys Ile			
	675	680	685	
20	Asp Asn Pro Glu Glu Lys Ala Leu Ile Val Asp Asn Leu Lys Pro Glu			
	690	695	700	
25	Ser Phe Tyr Glu Phe Phe Val Thr Pro Phe Thr Ser Ala Gly Glu Gly			
	705	710	715	720
	Pro Asn Ala Thr Phe Thr Lys Val Thr Thr Pro Asp Glu His Ser Ser			
	725	730	735	
30	Met Leu Ile Arg Ile Leu Leu Pro Met Val Phe Cys Val Leu Leu Ile			
	740	745	750	
35	Met Ile Val Cys Tyr Leu Lys Ser Gln Trp Ile Lys Glu Thr Cys Tyr			
	755	760	765	
40	Pro Asp Ile Pro Asp Pro Tyr Lys Ser Ser Ile Leu Ser Leu Ile Lys			
	770	775	780	
45	Phe Lys Glu Asn Pro His Leu Thr Ile Met Asn Val Ser Asp Cys Ile			
	785	790	795	800
	Pro Asp Ala Ile Glu Val Val Ser Lys Pro Glu Gly Thr Lys Ile Gln			
	805	810	815	
50	Leu Leu Gly Thr Arg Lys Ser Leu Thr Glu Thr Glu Leu Thr Lys Pro			
	820	825	830	
55	Asn Tyr Leu Tyr Leu Leu Pro Thr Glu Lys Asn His Ser Gly Pro Gly			
	835	840	845	
60	Pro Cys Ile Cys Phe Glu Asn Phe Thr Tyr Asn Gln Ala Ala Ser Asp			
	850	855	860	
65	Ala Gly Ser Cys Gly His Val Pro Val Pro Pro Lys Ala Pro Pro Ser			
	865	870	875	880

ES 2 692 657 T3

## ES 2 692 657 T3

5  
 gcaggaccgt cagtcttcctt ttccccc aaacccaagg acaccctcat gatctccgg 780  
 acccctgagg tcacgtgcgt ggtgggtggac gtgagccacg aagaccccga ggtccagttc  
 10 aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccacg ggaggagcag 900  
 ttcaacagca cggtccgtgt ggtcagcgctc ctcaccgttg tgccaccagga ctggctgaac 960  
 ggcaaggagt acaagtgcac ggtctccaaac aaaggcctcc cagccccat cgagaaaacc 1020  
 15 atctccaaaa ccaaaggcga gccccgagaa ccacagggtt acaccctgcc cccatccgg 1080  
 gagggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc 1140  
 gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacaccc 1200  
 20 cccatgctgg actccgacgg ctcttttcc ctctacagca agtcaccgt ggacaagagc 1260  
 aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtatgc atgaggctct gcacaaccac 1320  
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 1356

25  
 <210> 4  
 <211> 1356  
 <212> ADN  
 30 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Ab2 de cadena pesada  
 35 <400> 4

40 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggc 60  
 tcctgcaagg cttctggata cacccacc acctttacc agttatgaaa tcaactgggt ggcacaggcc  
 actggacaag ggcttgagtg gatggatgg atgaacccta acagtggta cacaggctat 120  
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagaaca cctccataag cacagccatc 180  
 45 atggaaatga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatata 300  
 gtggctgcga atacggatta ctacttctat tatggatgg acgtctgggg ccaaggggacc 360  
 acggtcaccg tctccctcagg tagcaccaag ggcccatcggt tcttccccctt ggcccccgtc 420  
 50 tccaggagca cctcccgagag cacagccggcc ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc 480  
 gaaccgggtga cgggtgcgtg gaactcaggc gctctgacca gccggcgtc caccttccca 540  
 gctgtccatc agtcctcagg actctactcc ctcagcagcg tggtgcaccgt gcccctccagc 600  
 55 aacttcggca cccagaccta cacctgcaac gttagatcaca agccccagcaa caccaagggtg 660  
 gacaagacag ttgagcgc当地 atgttgtgtc gagtgccac cgtgcccagc accacctgtg 720  
 gcaggaccgt cagtcttcctt ttccccc aaacccaagg acaccctcat gatctccgg 780  
 60 acccctgagg tcacgtgcgt ggtgggtggac gtgagccacg aagaccccga ggtccagttc 840

# ES 2 692 657 T3

	aactggtacg tggacggcgt ggaggtgc aatgccaaga caaagccacg ggaggagcag	900
	ttcaacagca cggtccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgttgc tgaccaggat ctggctgaac	960
5	ggcaaggagt acaagtgc aatggcttccaaac aaaggccat cagccccat cgagaaaacc	1020
	atctccaaaa ccaaaggc aatggcttccaaac aaaggccat cagccccat cgagaaaacc	1080
	gaggagatga ccaagaacca ggtcagcgtc acctgcgttgc tcaaaggctt ctacccac	1140
10	gacatcgccg tggagtggg gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacac	1200
	cccatgctgg actccgcacgg ctctttcttc ctctacagca agtccaccgt ggacaagagc	1260
	aggtggcagc agggaaacgt ctctcatgc tccgtatgc atgaggctt ctacccac	1320
15	tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa	1356

20 <210> 5  
<211> 1335  
<212> ADN  
<213> Homo sapiens

25 <220>  
<221> misc\_feature  
<223> Ab3 de cadena pesada

30 <400> 5

35

40

45

50

55

60

## ES 2 692 657 T3

5	caggttcata tggcgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggc	60
	tccctgcaagg cttctggtta caccttacc agctatggta tcagctgggt ggcacaggcc	120
	cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg ctcagcaccc acatggtaa cacaaactat	180
10	gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac	240
	atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagggAAC	300
	ttctactact acggtatgga cgtatgggc cagggacca cggtcaccgt ctccctcagct	360
15	agcaccaagg gcccatcggt ctccccctg gcgcctgtgt ccaggagcac ctccgagagc	420
	acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttcccg aaccgggtgac ggtgtcggt	480
	aactcaggcg ctctgaccag cggtgtgcac accttcccg ctgtcctaca gtccctcagga	540
20	ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca acttcggcac ccagacctac	600
	acctgcaacg tagatcacaa gcccagcaac accaagggtgg acaagacagt tgagcgcaa	660
	tgttgtgtcg agtgcaccacc gtgcggcagca ccacctgtgg caggaccgtc agtcttcctc	720
25	ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacgtgcgtg	780
	gtgggtggacg tgagccacga agaaccggag gtccagttca actggtagt ggacggcgtg	840
	gaggtgcata atgccaagac aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gttccgtgt	900
30	gtcagcgtcc tcaccgttgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgc当地	960
	gtctccaaca aaggcctccc agccccatc gaaaaacca tctccaaaac caaaggcag	1020
35	ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatccggg aggagatgac caagaaccag	1080
	gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc tacccagcg acatcgccgt ggagtggag	1140
	agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacaccc ccatgctgga ctccgacggc	1200
40	tccttttcc tacacagcaa gtcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc	1260
	ttctcatgct ccgtgtatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc	1320
	ctgtatccgg gtaaa	1335
45	<210> 6	
	<211> 452	
	<212> PRT	
50	<213> Homo sapiens	
	<220>	
	<221> MISC_FEATURE	
	<223> Ab1 de cadena pesada	
55	<400> 6	

## ES 2 692 657 T3

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

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

10 Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

15 Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

20 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Ile Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

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

30 Ala Arg Asp Met Val Ala Ala Asn Thr Asp Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Gly  
100 105 110

35 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser  
115 120 125

40 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro

45

50

55

60

## ES 2 692 657 T3

	145	150	155	160
5	Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val			
	165	170	175	
10	His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser			
	180	185	190	
15	Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr			
	195	200	205	
20	Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val			
	210	215	220	
25	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val			
	225	230	235	240
30	Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu			
	245	250	255	
35	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser			
	260	265	270	
40	His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu			
	275	280	285	
45	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr			
	290	295	300	
50	Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn			
	305	310	315	320
55	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro			
	325	330	335	
60	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln			
	340	345	350	
65	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val			
	355	360	365	
70	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val			
	370	375	380	
75	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro			
	385	390	395	400

## ES 2 692 657 T3

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
 405 410 415

5 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 420 425 430

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

15 Ser Pro Gly Lys  
 450

20 <210> 7  
 <211> 452  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

25 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab2 de cadena pesada

30 <400> 7

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

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

40 Glu Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

45 Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Tyr Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50 55 60

50 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

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

60 Ala Arg Asp Ile Val Ala Ala Asn Thr Asp Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Gly  
 100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser  
 115 120 125

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

## ES 2 692 657 T3

	Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro			
145	150	155	160	
5	Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val			
	165	170	175	
10	His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser			
	180	185	190	
15	Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr			
	195	200	205	
20	Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val			
	210	215	220	
25	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val			
	225	230	235	240
30	Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu			
	245	250	255	
35	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser			
	260	265	270	
40	His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu			
	275	280	285	
45	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr			
	290	295	300	
50	Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn			
	305	310	315	320
55	Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro			
	325	330	335	
60	Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln			
	340	345	350	
65	Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val			
	355	360	365	
70	Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val			
	370	375	380	
75	Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro			
	385	390	395	400

## ES 2 692 657 T3

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
                   405                         410                         415  
 5  
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
                   420                         425                         430  
 10  
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
                   435                         440                         445  
 15  
 Ser Pro Gly Lys  
                   450  
 <210> 8  
 <211> 445  
 20 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 25 <223> Ab3 de cadena pesada  
 <400> 8  
 30  
 Gln Val His Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
   1              5                         10                         15  
 35  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
   20              25                         30  
 40  
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
   35              40                         45  
 45  
 Gly Trp Leu Ser Thr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu  
   50              55                         60  
 50  
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
   65              70                         75                         80  
 55  
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
   85              90                         95  
 Ala Arg Gly Asn Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly  
   100            105                         110  
 60  
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
   115            120                         125  
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

## ES 2 692 657 T3

	130	135	140
5	Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
	145	150	155
			160
10	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
	165	170	175
	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
	180	185	190
15	Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro		
	195	200	205
20	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu		
	210	215	220
25	Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu		
	225	230	235
			240
	Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
	245	250	255
30	Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln		
	260	265	270
35	Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
	275	280	285
40	Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu		
	290	295	300
	Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
	305	310	315
			320
45	Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
	325	330	335
50	Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
	340	345	350
55	Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
	355	360	365
	Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
	370	375	380

## ES 2 692 657 T3

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly  
 385                   390                   395                   400  
 5

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

10       Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
 420                   425                   430

15       His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435                   440                   445

20       <210> 9  
 <211> 126  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

25       <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab1 region variable de cadena pesada

30       <400> 9

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

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

40       Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35                   40                   45

45       Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Asp Tyr Ala Gln Lys Phe  
 50                   55                   60

50       Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Ile Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
 65                   70                   75                   80

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

60       Ala Arg Asp Met Val Ala Ala Asn Thr Asp Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Gly  
 100                  105                  110

60       Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115                  120                  125

ES 2 692 657 T3

5           <210> 10  
  <211> 126  
  <212> PRT  
  <213> Homo sapiens  
  
10          <220>  
  <221> MISC\_FEATURE  
  <223> Ab2 de cadena pesada variable region  
  
15          Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
              1                       5                                   10                       15  
  
20          Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
              20                       25                                   30  
  
25          Glu Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
              35                       40                                   45  
  
30          Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Tyr Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe  
              50                       55                                   60  
  
35          Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
              65                       70                                   75                       80  
  
40          Met Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
              85                       90                                   95  
  
45          Ala Arg Asp Ile Val Ala Ala Asn Thr Asp Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Gly  
              100                      105                               110  
  
50          Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
              115                      120                               125  
  
55          <210> 11  
  <211> 119  
  <212> PRT  
  <213> Homo sapiens  
  
60          <220>  
  <221> MISC\_FEATURE  
  <223> Ab3 de cadena pesada variable region  
  
65          <400> 11

ES 2 692 657 T3

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30  
 10

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45  
 15

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

20

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

25

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

30

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

35

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

40

<210> 12  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab1 de cadena pesada CDR1

<400> 12

50

Ser Tyr Asp Ile Asn  
 1 5

55

<210> 13  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

60

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab2 de cadena pesada CDR1

<400> 13

Ser Tyr Glu Ile Asn  
1 5

ES 2 692 657 T3

<210> 14  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 5  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab3 de cadena pesada CDR1  
 10 <400> 14

Ser	Tyr	Gly	Ile	Ser
1				5

15 <210> 15  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 20 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab1 de cadena pesada CDR2  
 <400> 15

Trp	Met	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Asn	Thr	Asp	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5						10					15

25  
 30 Gly  
 <210> 16  
 <211> 20  
 35 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 40 <223> Ab2 de cadena pesada CDR2  
 <400> 16

Trp	Met	Gly	Trp	Met	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Tyr	Thr	Gly	Tyr	Ala	Gln
1				5						10					15

45  
 50 Lys Phe Gln Gly  
 <210> 17  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 55 <213> Homo sapiens  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab3 de cadena pesada CDR2  
 60 <400> 17

ES 2 692 657 T3

Trp Leu Ser Thr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu Gln  
1 5 10 15

5 Gly

<210> 18  
<211> 17  
10 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
15 <223> Ab1 de cadena pesada CD3

<400> 18

20 Asp Met Val Ala Ala Asn Thr Asp Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp  
1 5 10 15

25 Val

<210> 19  
<211> 17  
30 <212> PRT  
<213> Homo sapiens

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Ab2 de cadena pesada CDR3  
35 <400> 19

40 Asp Ile Val Ala Ala Asn Thr Asp Tyr Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp  
1 5 10 15

45 Val

<210> 20  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

50 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Ab3 de cadena pesada CDR3

<400> 20

55 Gly Asn Phe Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
1 5 10

60

<210> 21

## ES 2 692 657 T3

<211> 648  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens

5    <220>  
     <221> misc\_feature  
     <223> Ab1 de cadena ligera

10    <400> 21

	cagtctgtgc tgactcagcc accctcagca tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc	60
15	tcttggttctg gaagcagctc caacgtcgga agtaatactg taagctggta ccaacagctc	120
	ccaggaacgg ccccccaaact cctcatctat actaataatc ggccggccctc cggggtcacct	180
	gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag	240
20	tctgaggatgt aggctgatta ttcttgtca gcgttagatg acagtctgaa tggtgtggta	300
	ttcggcggag ggacccaaact gaccgtccta ggccaaccga aagcggcgcc ctgggtcaact	360
	ctgttcccgca cctccctctga ggagcttcaa gccaaacaagg ccacactggt gtgtctcata	420
25	agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag	480
	gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc	540
	tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg	600
30	catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg gcccctacag aatgttca	648

<210> 22  
 <211> 648  
 35    <212> ADN  
       <213> Homo sapiens

40    <220>  
     <221> misc\_feature  
     <223> Ab2 de cadena ligera

<400> 22

45

50

55

60

65

# ES 2 692 657 T3

	cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc	60
5	tcttggttctg gaagcaactc caacatcgga agtaatactg tcaactggta ccaccagctc	120
	ccaggaacgg cccccaaact cctcatctat aatattaata agcggccctc aggggtccct	180
	gaccgattct ctggctccaa gtctggctcc tcagcctccc tggccatcag tgggtccag	240
10	tctgaggatg aggctgatta ttactgttca acatggatg acagcctgga tgggtgtggta	300
	ttcggcggag ggaccaaagct gaccgtctca ggccaaccga aagcggcgcc ctgggtcaact	360
	ctgttcccgcc ctcctcttcaaa ggagcttcaa gccaaacaagg ccacactggt gtgtctcata	420
15	agtgacttct acccgggagc cgtgacagtgcctgaaagg cagatagcag ccccgtaag	480
	gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc	540
20	tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg	600
	catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtgcctacag aatgttca	648
	<210> 23	
	<211> 648	
25	<212> ADN	
	<213> Homo sapiens	
	<220>	
	<221> misc_feature	
30	<223> Ab3 de cadena ligera	
	<400> 23	
	gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgttttgt ctccagggaa aagagccacc	60
35	ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaaa	120
	cctggccagg ctcccaggct ctcatcttt ggtgcttcca gcagggccac tggcatccca	180
40	gacaggttca gtggcagtgg gtctggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag	240
	cctgaagatt ttgcagtgttca ttactgtcag cagtatggta gctgcctcc gatcaccc	300
	ggccaaggga cacgactgga gattaaacgt acggggctg caccatctgt cttcatcttc	360
45	ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac	420
	ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aaggtggata acgcctccaa atcgggtAAC	480
50	tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cttacagcct cagcagcacc	540
	ctgacgctga gcaaaggcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat	600
	cagggcctga gctgcctgtg cacaaggagc ttcaacaggg gagagtgt	648
55	<210> 24	
	<211> 216	
	<212> PRT	
	<213> Homo sapiens	
60	<220>	
	<221> MISC_FEATURE	
	<223> Ab1 de cadena ligera	
	<400> 24	
65		

## ES 2 692 657 T3

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

5

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Val Gly Ser Asn  
 20 25 30

10

Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

15

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

20

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln  
 65 70 75 80

25

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Asp Asp Ser Leu  
 85 90 95

30

Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
 100 105 110

35

Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu  
 115 120 125

40

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr  
 130 135 140

45

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
 145 150 155 160

50

Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
 165 170 175

55

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
 180 185 190

60

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys  
 195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

ES 2 692 657 T3

<210> 25  
<211> 216  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
5  
<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Ab2 de cadena ligera  
10 <400> 25

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn  
20 25 30

20 Thr Val Asn Trp Tyr His Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

25

30

35

40

45

50

55

60

65

## ES 2 692 657 T3

Ile Tyr Asn Ile Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

5 Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln  
 65 70 75 80

10 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu  
 85 90 95

15 Asp Gly Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln  
 100 105 110

20 Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu  
 115 120 125

25 Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr  
 130 135 140

30 Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys  
 145 150 155 160

35 Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr  
 165 170 175

40 Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His  
 180 185 190

45 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys  
 195 200 205

50 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 210 215

<210> 26  
 <211> 216  
 50 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab3 de cadena ligera

<400> 26

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

65 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

## ES 2 692 657 T3

	20	25	30
5			
	Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu		
	35	40	45
10	Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser		
	50	55	60
15	Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu		
	65	70	75
	80		
20	Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro		
	85	90	95
	Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val		
	100	105	110
25	Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys		
	115	120	125
30	Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg		
	130	135	140
35	Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn		
	145	150	155
	160		
40	Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser		
	165	170	175
	Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys		
	180	185	190
45	Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr		
	195	200	205
50	Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
	210	215	
55	<210> 27		
	<211> 111		
	<212> PRT		
	<213> Homo sapiens		
60	<220>		
	<221> MISC_FEATURE		
	<223> Ab1 de cadena ligera variable		
	<400> 27		
65			

ES 2 692 657 T3

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

10 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Val Gly Ser Asn  
10 20 25 30

15 Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
15 35 40 45

20 Ile Tyr Thr Asn Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
20 50 55 60

25 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln  
25 65 70 75 80

30 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Asp Asp Ser Leu  
30 85 90 95

35 Asn Gly Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
35 100 105 110

40 <210> 28  
<211> 111  
<212> PRT  
35 <213> Homo sapiens

40 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Ab2 de cadena ligera variable

45

50

55

60

65

ES 2 692 657 T3

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

10           Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn  
10                       20                           25                           30

15           Thr Val Asn Trp Tyr His Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu  
15                       35                           40                           45

20           Ile Tyr Asn Ile Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser  
20                       50                           55                           60

25           Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln  
25                       65                           70                           75                           80

30           Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu  
30                       85                           90                           95

35           Asp Gly Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly  
35                       100                           105                           110

40           <210> 29  
40           <211> 110  
40           <212> PRT  
40           <213> Homo sapiens

45           <220>  
45           <221> MISC\_FEATURE  
45           <223> Ab3 de cadena ligera variable

50

55

60

65

## ES 2 692 657 T3

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

5 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
 20 25 30

10 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45

15 Ile Phe Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60

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

25 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro  
 85 90 95

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

35 <210> 30  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

40 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab1 de cadena ligera CDR1  
 <400> 30

45 Ser Gly Ser Ser Ser Asn Val Gly Ser Asn Thr Val Ser  
 1 5 10

50 <210> 31  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab2 de cadena ligera CDR1  
 <400> 31

60 Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn  
 1 5 10

65 <210> 32  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab3 de cadena ligera CDR1

5 <400> 32

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ala
1					5						

10

<210> 33  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

15

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab1 de cadena ligera CDR2

20 <400> 33

Thr	Asn	Asn	Arg	Arg	Pro	Ser
1					5	

25

<210> 34  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

30

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab2 de cadena ligera CDR2

35 <400> 34

Asn	Ile	Asn	Lys	Arg	Pro	Ser
1					5	

40

<210> 35  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

45

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab3 de cadena ligera CDR2

50 <400> 35

Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr
1					5	

55

<210> 36  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

60

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab1 de cadena ligera CDR3

<400> 36

	<b>Ala</b>	<b>Ala</b>	<b>Leu</b>	<b>Asp</b>	<b>Asp</b>	<b>Ser</b>	<b>Leu</b>	<b>Asn</b>	<b>Gly</b>	<b>Val</b>	<b>Val</b>
5							5				10

<210> 37  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 10 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <223> Ab2 de cadena ligera CDR3  
 15 <400> 37

	<b>Ser</b>	<b>Thr</b>	<b>Trp</b>	<b>Asp</b>	<b>Asp</b>	<b>Ser</b>	<b>Leu</b>	<b>Asp</b>	<b>Gly</b>	<b>Val</b>	<b>Val</b>
20							5				10

<210> 38  
 <211> 10  
 25 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 30 <223> Ab3 de cadena ligera CDR3  
 <400> 38

	<b>Gln</b>	<b>Gln</b>	<b>Tyr</b>	<b>Gly</b>	<b>Ser</b>	<b>Ser</b>	<b>Pro</b>	<b>Pro</b>	<b>Ile</b>	<b>Thr</b>	
35						5				10	

<210> 39  
 <211> 252  
 40 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 45 <223> Human OSM

<400> 39

50

55

60

## ES 2 692 657 T3

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

ES 2 692 657 T3

Phe Ser Lys Trp Gly Glu Ser Pro Asn Arg Ser Arg Arg His Ser Pro  
210 215 220

5

His Gln Ala Leu Arg Lys Gly Val Arg Arg Thr Arg Pro Ser Arg Lys  
225 230 235 240

10

Gly Lys Arg Leu Met Thr Arg Gly Gln Leu Pro Arg  
245 250

15

<210> 40  
<211> 196  
<212> PRT  
<213> Macaca fascicularis

20

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Proteína OSM de mono cynomolgus

<400> 40

25

30

35

40

45

50

55

60

65

## ES 2 692 657 T3

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

## ES 2 692 657 T3

5           <210> 41  
 <211> 164  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 10          <400> 41  
  
 Met Ala Ser His Ser Gly Pro Ser Thr Ser Val Leu Phe Leu Phe Cys  
 1                 5                           10                           15  
 15  
 Cys Leu Gly Gly Trp Leu Ala Ser His Thr Leu Pro Val Arg Leu Leu  
 20                 25   30  
 20  
 Arg Pro Ser Asp Asp Val Gln Lys Ile Val Glu Glu Leu Gln Ser Leu  
 35                 40   45  
 25  
 Ser Lys Met Leu Leu Lys Asp Val Glu Glu Lys Gly Val Leu Val  
 50                 55   60  
 30  
 Ser Gln Asn Tyr Thr Leu Pro Cys Leu Ser Pro Asp Ala Gln Pro Pro  
 65                 70   80  
 35  
 Asn Asn Ile His Ser Pro Ala Ile Arg Ala Tyr Leu Lys Thr Ile Arg  
 85                 90   95  
 40  
 Gln Leu Asp Asn Lys Ser Val Ile Asp Glu Ile Ile Glu His Leu Asp  
 100                 105   110  
 Lys Leu Ile Phe Gln Asp Ala Pro Glu Thr Asn Ile Ser Val Pro Thr  
 115                 120   125  
 45  
 Asp Thr His Glu Cys Lys Arg Phe Ile Leu Thr Ile Ser Gln Gln Phe  
 130                 135   140  
 50  
 Ser Glu Cys Met Asp Leu Ala Leu Lys Ser Leu Thr Ser Gly Ala Gln  
 145                 150   155                                   160  
 55  
 Gln Ala Thr Thr  
 60          <210> 42  
 <211> 138  
 <212> PRT  
 <213> Macaca fascicularis

## ES 2 692 657 T3

<220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Mono cynomolgus IL-31

5 <400> 42

Thr Leu Pro Val His Phe Leu Gln Pro Ser Asp Ile Gln Lys Ile Val  
1 5 10 15

10 Glu Glu Leu Gln Ser Leu Ser Lys Met Leu Leu Lys Asp Val Lys Glu  
20 25 30

15 Asp Lys Gly Val Leu Val Ser Gln Asn Tyr Thr Leu Pro Cys Leu Thr  
35 40 45

20 Pro Asp Ala Gln Pro Pro Asn Ile Ile His Ser Pro Ala Ile Arg Ala  
50 55 60

25 Tyr Leu Lys Thr Ile Arg Gln Leu Asp Asn Lys Ser Val Ile Asp Glu  
65 70 75 80

30 Ile Ile Glu His Leu Asp Lys Leu Ile Phe Gln Asp Ala Pro Glu Thr  
85 90 95

35 Asn Ile Ser Val Pro Thr Asp Thr His Glu Cys Lys Arg Phe Ile Leu  
100 105 110

40 Thr Ile Ser Gln Gln Phe Ser Glu Cys Met Asp Leu Ala Leu Lys Ser  
115 120 125

45 Leu Thr Ser Gly Ala Gln Gln Ala Thr Thr  
130 135

45 <210> 43  
<211> 662  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

50 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> IL-31RA humana

55 <400> 43

60

65

## ES 2 692 657 T3

	Met Lys Leu Ser Pro Gln Pro Ser Cys Val Asn Leu Gly Met Met Trp	
1	5	10
5	Thr Trp Ala Leu Trp Met Leu Pro Ser Leu Cys Lys Phe Ser Leu Ala	
	20	25
10	Ala Leu Pro Ala Lys Pro Glu Asn Ile Ser Cys Val Tyr Tyr Tyr Arg	
	35	40
15	Lys Asn Leu Thr Cys Thr Trp Ser Pro Gly Lys Glu Thr Ser Tyr Thr	
	50	55
20	Gln Tyr Thr Val Lys Arg Thr Tyr Ala Phe Gly Glu Lys His Asp Asn	
	65	70
25	Cys Thr Thr Asn Ser Ser Thr Ser Glu Asn Arg Ala Ser Cys Ser Phe	
	85	90
	Phe Leu Pro Arg Ile Thr Ile Pro Asp Asn Tyr Thr Ile Glu Val Glu	
	100	105
30	Ala Glu Asn Gly Asp Gly Val Ile Lys Ser His Met Thr Tyr Trp Arg	
	115	120
35	Leu Glu Asn Ile Ala Lys Thr Glu Pro Pro Lys Ile Phe Arg Val Lys	
	130	135
40	Pro Val Leu Gly Ile Lys Arg Met Ile Gln Ile Glu Trp Ile Lys Pro	
	145	150
45	Glu Leu Ala Pro Val Ser Ser Asp Leu Lys Tyr Thr Leu Arg Phe Arg	
	165	170
50	Thr Val Asn Ser Thr Ser Trp Met Glu Val Asn Phe Ala Lys Asn Arg	
	180	185
	Lys Asp Lys Asn Gln Thr Tyr Asn Leu Thr Gly Leu Gln Pro Phe Thr	
	195	200
55	Glu Tyr Val Ile Ala Leu Arg Cys Ala Val Lys Glu Ser Lys Phe Trp	
	210	215
60	Ser Asp Trp Ser Gln Glu Lys Met Gly Met Thr Glu Glu Glu Ala Pro	
	225	230
	235	240

## ES 2 692 657 T3

Cys Gly Leu Glu Leu Trp Arg Val Leu Lys Pro Ala Glu Ala Asp Gly  
 245 250 255

5 Arg Arg Pro Val Arg Leu Leu Trp Lys Lys Ala Arg Gly Ala Pro Val  
 260 265 270

10 Leu Glu Lys Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Trp Tyr Tyr Pro Glu Ser Asn  
 275 280 285

15 Thr Asn Leu Thr Glu Thr Met Asn Thr Thr Asn Gln Gln Leu Glu Leu  
 290 295 300

20 His Leu Gly Gly Glu Ser Phe Trp Val Ser Met Ile Ser Tyr Asn Ser  
 305 310 315 320

25 Leu Gly Lys Ser Pro Val Ala Thr Leu Arg Ile Pro Ala Ile Gln Glu  
 325 330 335

30 Lys Ser Phe Gln Cys Ile Glu Val Met Gln Ala Cys Val Ala Glu Asp  
 340 345 350

35 Gln Leu Val Val Lys Trp Gln Ser Ser Ala Leu Asp Val Asn Thr Trp  
 355 360 365

40 Met Ile Glu Trp Phe Pro Asp Val Asp Ser Glu Pro Thr Thr Leu Ser  
 370 375 380

45 Trp Glu Ser Val Ser Gln Ala Thr Asn Trp Thr Ile Gln Gln Asp Lys  
 385 390 395 400

50 Leu Lys Pro Phe Trp Cys Tyr Asn Ile Ser Val Tyr Pro Met Leu His  
 405 410 415

55 Asp Lys Val Gly Glu Pro Tyr Ser Ile Gln Ala Tyr Ala Lys Glu Gly  
 420 425 430

Val Pro Ser Glu Gly Pro Glu Thr Lys Val Glu Asn Ile Gly Val Lys  
 435 440 445

60 Thr Val Thr Ile Thr Trp Lys Glu Ile Pro Lys Ser Glu Arg Lys Gly  
 450 455 460

65 Ile Ile Cys Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Gln Ala Glu Gly Gly Lys Gly  
 465 470 475 480

Phe Ser Lys Thr Val Asn Ser Ser Ile Leu Gln Tyr Gly Leu Glu Ser  
 485 490 495

## ES 2 692 657 T3

Leu Lys Arg Lys Thr Ser Tyr Ile Val Gln Val Met Ala Ser Thr Ser  
 500 505 510

5

Ala Gly Gly Thr Asn Gly Thr Ser Ile Asn Phe Lys Thr Leu Ser Phe  
 515 520 525

10

Ser Val Phe Glu Ile Ile Leu Ile Thr Ser Leu Ile Gly Gly Gly Leu  
 530 535 540

15

Leu Ile Leu Ile Ile Leu Thr Val Ala Tyr Gly Leu Lys Lys Pro Asn  
 545 550 555 560

20

Lys Leu Thr His Leu Cys Trp Pro Thr Val Pro Asn Pro Ala Glu Ser  
 565 570 575

25

Ser Ile Ala Thr Trp His Gly Asp Asp Phe Lys Asp Lys Leu Asn Leu  
 580 585 590

30

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

35

Cys Ser Thr Pro Ser Asp Lys Leu Val Ile Asp Lys Leu Val Val Asn  
 610 615 620

40

Phe Gly Asn Val Leu Gln Glu Ile Phe Thr Asp Glu Ala Arg Thr Gly  
 625 630 635 640

45

Gln Glu Asn Asn Leu Gly Gly Glu Lys Asn Gly Thr Arg Ile Leu Ser  
 645 650 655

50

Ser Cys Pro Thr Ser Ile  
 660

<210> 44  
 <211> 649  
 <212> PRT  
 <213> Macaca fascicularis

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <223> Mono cynomolgus IL-21RA

<400> 44

55

Met Met Trp Thr Trp Ala Leu Trp Met Phe Pro Leu Leu Cys Lys Phe  
 1 5 10 15

Gly Leu Ala Ala Leu Pro Ala Lys Pro Glu Asn Ile Ser Cys Val Tyr

## ES 2 692 657 T3

	20	25	30
5	Tyr Tyr Arg Lys Asn Leu Thr Cys Thr Trp Ser Pro Gly Lys Glu Thr		
	35	40	45
10	Ser Tyr Thr Gln Tyr Thr Ala Lys Arg Thr Tyr Ala Phe Gly Lys Lys		
	50	55	60
15	His Asp Asn Cys Thr Thr Ser Ser Ser Thr Ser Glu Asn Arg Ala Ser		
	65	70	75
20	Cys Ser Phe Phe Leu Pro Arg Ile Thr Ile Pro Asp Asn Tyr Thr Ile		
	85	90	95
25	Glu Val Glu Ala Glu Asn Gly Asp Gly Val Ile Lys Ser Asp Met Thr		
	100	105	110
30	Cys Trp Arg Leu Glu Asp Ile Ala Lys Thr Glu Pro Pro Glu Ile Phe		
	115	120	125
35	Ser Val Lys Pro Val Leu Gly Ile Lys Arg Met Ile Arg Ile Glu Trp		
	130	135	140
40	Ile Lys Pro Glu Leu Ala Pro Val Ser Ser Asp Leu Lys Tyr Ala Leu		
	145	150	155
45	Arg Phe Arg Thr Val Asn Ser Thr Ser Trp Met Glu Val Asn Phe Ala		
	165	170	175
50	Lys Asn Arg Lys Asp Thr Asn Gln Thr Tyr Asn Leu Met Gly Leu Gln		
	180	185	190
55	Ala Phe Thr Glu Tyr Val Val Ala Leu Arg Cys Ala Val Lys Glu Ser		
	195	200	205
60	Lys Phe Trp Ser Asp Trp Ser Gln Glu Lys Met Gly Met Thr Glu Glu		
	210	215	220
65	Glu Ala Pro Cys Gly Leu Glu Leu Trp Arg Val Leu Lys Pro Thr Glu		
	225	230	235
70	Val Asp Gly Arg Arg Pro Val Arg Leu Leu Trp Lys Lys Ala Arg Gly		
	245	250	255
75	Ala Pro Val Leu Glu Lys Thr Leu Gly Tyr Asn Ile Trp Tyr Phe Pro		
	260	265	270

## ES 2 692 657 T3

	Glu Asn Asn Thr Asn Leu Thr Glu Thr Val Asn Thr Thr Asn Gln Gln			
	275	280	285	
5	Leu Glu Leu His Leu Gly Gly Glu Ser Tyr Trp Val Ser Met Ile Ser			
	290	295	300	
10	Tyr Asn Ser Leu Gly Lys Ser Pro Val Thr Thr Leu Arg Ile Pro Ala			
	305	310	315	320
15	Ile Gln Glu Lys Ser Phe Arg Cys Ile Glu Val Met Gln Ala Cys Leu			
	325	330	335	
20	Ala Glu Asp Gln Leu Val Val Lys Trp Gln Ser Ser Ala Leu Asp Val			
	340	345	350	
25	Asn Thr Trp Met Ile Glu Trp Phe Pro Asp Met Asp Ser Glu His Pro			
	355	360	365	
	Thr Leu Ser Trp Glu Ser Val Ser Gln Ala Thr Asn Trp Thr Ile Gln			
	370	375	380	
30	Gln Asp Lys Leu Lys Pro Phe Trp Cys Tyr Asn Ile Ser Val Tyr Pro			
	385	390	395	400
35	Met Leu His Asp Lys Val Gly Glu Pro Tyr Ser Ile Gln Ala Tyr Ala			
	405	410	415	
40	Lys Glu Gly Ile Pro Ser Lys Gly Pro Glu Thr Lys Val Glu Asn Ile			
	420	425	430	
45	Gly Val Lys Thr Val Thr Ile Thr Trp Lys Glu Ile Pro Lys Ser Glu			
	435	440	445	
50	Arg Lys Gly Ile Ile Cys Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Gln Ala Glu Gly			
	450	455	460	
	Gly Thr Gly Phe Ser Lys Thr Val Asn Ser Ser Ile Leu Gln Tyr Gly			
	465	470	475	480
55	Leu Glu Ser Leu Lys Arg Lys Thr Ser Tyr Thr Val Arg Val Met Ala			
	485	490	495	
60	Ser Thr Ser Ala Gly Gly Ile Asn Gly Thr Ser Ile Asn Phe Lys Thr			
	500	505	510	
65	Leu Ser Phe Ser Val Phe Glu Ile Ile Leu Ile Thr Ser Leu Ile Gly			
	515	520	525	

ES 2 692 657 T3

Gly Gly Leu Leu Ile Leu Ile Ile Leu Thr Val Ala Tyr Gly Leu Lys  
530 535 540

5 Lys Pro Asn Lys Leu Thr His Leu Cys Trp Pro Ser Val Pro Asn Pro  
545 550 555 560

10 Ala Glu Ser Ser Ile Ala Thr Trp Arg Gly Asp Asp Phe Lys Asp Lys  
565 570 575

15 Leu Asn Leu Lys Glu Ser Asp Asp Ser Val Asn Thr Glu Asp Arg Ile  
580 585 590

20 Leu Lys Pro Cys Ser Thr Pro Ser Asp Lys Leu Val Ile Asp Lys Ser  
595 600 605

25 Val Val Asn Phe Gly Asn Val Leu Gln Glu Met Phe Thr Asp Glu Ala  
610 615 620

30 Arg Thr Gly Gln Glu Asn Asn Leu Gly Gly Glu Lys Asn Glu Asn Arg  
625 630 635 640

35 <210> 45  
<211> 918  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

40 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Human gp130

45 <400> 45

50

55

60

65

ES 2 692 657 T3

Met Leu Thr Leu Gln Thr Trp Leu Val Gln Ala Leu Phe Ile Phe Leu  
1                       5                                   10                       15

5

Thr Thr Glu Ser Thr Gly Glu Leu Leu Asp Pro Cys Gly Tyr Ile Ser  
20                       25                                   30

10

Pro Glu Ser Pro Val Val Gln Leu His Ser Asn Phe Thr Ala Val Cys  
35                       40                               45

15

Val Leu Lys Glu Lys Cys Met Asp Tyr Phe His Val Asn Ala Asn Tyr  
50                       55                               60

20

Ile Val Trp Lys Thr Asn His Phe Thr Ile Pro Lys Glu Gln Tyr Thr  
65                       70                               75                       80

25

30

35

40

45

50

55

60

65

## ES 2 692 657 T3

Ile Ile Asn Arg Thr Ala Ser Ser Val Thr Phe Thr Asp Ile Ala Ser  
 85 90 95  
 5

Leu Asn Ile Gln Leu Thr Cys Asn Ile Leu Thr Phe Gly Gln Leu Glu  
 100 105 110  
 10

Gln Asn Val Tyr Gly Ile Thr Ile Ile Ser Gly Leu Pro Pro Glu Lys  
 115 120 125  
 15

Pro Lys Asn Leu Ser Cys Ile Val Asn Glu Gly Lys Lys Met Arg Cys  
 130 135 140  
 20

Glu Trp Asp Gly Gly Arg Glu Thr His Leu Glu Thr Asn Phe Thr Leu  
 145 150 155 160  
 25

Lys Ser Glu Trp Ala Thr His Lys Phe Ala Asp Cys Lys Ala Lys Arg  
 165 170 175  
 30

Asp Thr Pro Thr Ser Cys Thr Val Asp Tyr Ser Thr Val Tyr Phe Val  
 180 185 190  
 35

Asn Ile Glu Val Trp Val Glu Ala Glu Asn Ala Leu Gly Lys Val Thr  
 195 200 205  
 40

Ser Asp His Ile Asn Phe Asp Pro Val Tyr Lys Val Lys Pro Asn Pro  
 210 215 220  
 45

Pro His Asn Leu Ser Val Ile Asn Ser Glu Glu Leu Ser Ser Ile Leu  
 225 230 235 240  
 50

Lys Leu Thr Trp Thr Asn Pro Ser Ile Lys Ser Val Ile Ile Leu Lys  
 245 250 255  
 55

Tyr Asn Ile Gln Tyr Arg Thr Lys Asp Ala Ser Thr Trp Ser Gln Ile  
 260 265 270  
 60

Pro Pro Glu Asp Thr Ala Ser Thr Arg Ser Ser Phe Thr Val Gln Asp  
 275 280 285  
 65

Leu Lys Pro Phe Thr Glu Tyr Val Phe Arg Ile Arg Cys Met Lys Glu  
 290 295 300  
 70

Asp Gly Lys Gly Tyr Trp Ser Asp Trp Ser Glu Glu Ala Ser Gly Ile  
 305 310 315 320  
 75

Thr Tyr Glu Asp Arg Pro Ser Lys Ala Pro Ser Phe Trp Tyr Lys Ile

## ES 2 692 657 T3

	325	330	335
5	Asp Pro Ser His Thr Gln Gly Tyr Arg Thr Val Gln Leu Val Trp Lys 340	345	350
10	Thr Leu Pro Pro Phe Glu Ala Asn Gly Lys Ile Leu Asp Tyr Glu Val 355	360	365
15	Thr Leu Thr Arg Trp Lys Ser His Leu Gln Asn Tyr Thr Val Asn Ala 370	375	380
20	Thr Lys Leu Thr Val Asn Leu Thr Asn Asp Arg Tyr Leu Ala Thr Leu 385	390	395
25	Thr Val Arg Asn Leu Val Gly Lys Ser Asp Ala Ala Val Leu Thr Ile 405	410	415
30	Pro Ala Cys Asp Phe Gln Ala Thr His Pro Val Met Asp Leu Lys Ala 420	425	430
35	Phe Pro Lys Asp Asn Met Leu Trp Val Glu Trp Thr Thr Pro Arg Glu 435	440	445
40	Ser Val Lys Lys Tyr Ile Leu Glu Trp Cys Val Leu Ser Asp Lys Ala 450	455	460
45	Pro Cys Ile Thr Asp Trp Gln Gln Glu Asp Gly Thr Val His Arg Thr 465	470	475
50	Tyr Leu Arg Gly Asn Leu Ala Glu Ser Lys Cys Tyr Leu Ile Thr Val 485	490	495
55	Thr Pro Val Tyr Ala Asp Gly Pro Gly Ser Pro Glu Ser Ile Lys Ala 500	505	510
60	Tyr Leu Lys Gln Ala Pro Pro Ser Lys Gly Pro Thr Val Arg Thr Lys 515	520	525
65	Lys Val Gly Lys Asn Glu Ala Val Leu Glu Trp Asp Gln Leu Pro Val 530	535	540
	Asp Val Gln Asn Gly Phe Ile Arg Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Arg Thr 545	550	555
	Ile Ile Gly Asn Glu Thr Ala Val Asn Val Asp Ser Ser His Thr Glu 565	570	575

## ES 2 692 657 T3

Tyr Thr Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Thr Leu Tyr Met Val Arg Met  
 580 585 590  
 5 Ala Ala Tyr Thr Asp Glu Gly Gly Lys Asp Gly Pro Glu Phe Thr Phe  
 595 600 605  
 10 Thr Thr Pro Lys Phe Ala Gln Gly Glu Ile Glu Ala Ile Val Val Pro  
 610 615 620  
 15 Val Cys Leu Ala Phe Leu Leu Thr Thr Leu Leu Gly Val Leu Phe Cys  
 625 630 635 640  
 20 Phe Asn Lys Arg Asp Leu Ile Lys Lys His Ile Trp Pro Asn Val Pro  
 645 650 655  
 25 Asp Pro Ser Lys Ser His Ile Ala Gln Trp Ser Pro His Thr Pro Pro  
 660 665 670  
 30 Arg His Asn Phe Asn Ser Lys Asp Gln Met Tyr Ser Asp Ser Asn Phe  
 675 680 685  
 35 Thr Asp Val Ser Val Val Glu Ile Val Ala Asn Asp Lys Pro Phe  
 690 695 700  
 40 Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Asp Leu Phe Lys Lys Glu Lys Ile Asn  
 705 710 715 720  
 45 Thr Glu Gly His Ser Ser Gly Ile Gly Gly Ser Ser Cys Met Ser Ser  
 725 730 735  
 50 Ser Arg Pro Ser Ile Ser Ser Asp Glu Asn Glu Ser Ser Gln Asn  
 740 745 750  
 55 Thr Ser Ser Thr Val Gln Tyr Ser Thr Val Val His Ser Gly Tyr Arg  
 755 760 765  
 60 His Gln Val Pro Ser Val Gln Val Phe Ser Arg Ser Glu Ser Thr Gln  
 770 775 780  
 65 Pro Leu Leu Asp Ser Glu Glu Arg Pro Glu Asp Leu Gln Leu Val Asp  
 785 790 795 800  
 His Val Asp Gly Gly Asp Gly Ile Leu Pro Arg Gln Gln Tyr Phe Lys  
 805 810 815  
 65 Gln Asn Cys Ser Gln His Glu Ser Ser Pro Asp Ile Ser His Phe Glu  
 820 825 830

ES 2 692 657 T3

5 Arg Ser Lys Gln Val Ser Ser Val Asn Glu Glu Asp Phe Val Arg Leu  
835 840 845

10 Lys Gln Gln Ile Ser Asp His Ile Ser Gln Ser Cys Gly Ser Gly Gln  
850 855 860

15 Met Lys Met Phe Gln Glu Val Ser Ala Ala Asp Ala Phe Gly Pro Gly  
865 870 875 880

20 Thr Glu Gly Gln Val Glu Arg Phe Glu Thr Val Gly Met Glu Ala Ala  
885 890 895

25 Thr Asp Glu Gly Met Pro Lys Ser Tyr Leu Pro Gln Thr Val Arg Gln  
900 905 910

30 Gly Gly Tyr Met Pro Gln  
915

35 <210> 46  
<211> 918  
<212> PRT  
<213> Macaca fascicularis

40 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<223> Mono cynomolgus gp130

45

50

55

60

65

ES 2 692 657 T3

Met Leu Thr Leu Gln Thr Trp Val Val Gln Ala Leu Phe Ile Phe Leu  
1 5 10 15

5

Thr Thr Glu Ser Ile Gly Glu Leu Leu Asp Pro Cys Gly Tyr Ile Ser  
20 25 30

10

Pro Glu Ser Pro Val Val Gln Leu His Ser Asn Phe Thr Ala Val Cys  
35 40 45

15

Val Leu Lys Glu Lys Cys Met Asp Tyr Phe His Val Asn Ala Asn Tyr  
50 55 60

20

Ile Val Trp Lys Thr Asn His Phe Thr Ile Pro Lys Glu Gln Tyr Thr  
65 70 75 80

25

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

30

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

35

40

45

50

55

60

## ES 2 692 657 T3

Gln Asn Val Tyr Gly Ile Thr Ile Ile Ser Gly Leu Pro Pro Glu Lys  
 115 120 125

5

Pro Lys Asn Leu Ser Cys Ile Val Asn Glu Gly Lys Lys Met Arg Cys  
 130 135 140

10

Glu Trp Asn Arg Gly Arg Glu Thr His Leu Glu Thr Asn Phe Thr Leu  
 145 150 155 160

15

Lys Ser Glu Trp Ala Thr His Lys Phe Ala Asp Cys Lys Ala Lys Arg  
 165 170 175

20

Asp Thr Pro Thr Ser Cys Thr Val Asp Tyr Ser Thr Val Tyr Phe Val  
 180 185 190

25

Asn Ile Glu Val Trp Val Glu Ala Glu Asn Ala Leu Gly Lys Val Thr  
 195 200 205

30

Ser Asp His Ile Asn Phe Asp Pro Val Tyr Lys Val Lys Pro Asn Pro  
 210 215 220

35

Pro His Asn Leu Ser Val Ile Asn Ser Glu Glu Leu Ser Ser Ile Leu  
 225 230 235 240

40

Lys Leu Thr Trp Thr Asn Pro Ser Ile Lys Ser Val Ile Arg Leu Lys  
 245 250 255

45

Tyr Asn Ile Gln Tyr Arg Thr Lys Asp Ala Ser Thr Trp Ser Gln Ile  
 260 265 270

50

Tyr Asp Pro Glu Asp Thr Ala Ser Thr Arg Ser Ser Phe Thr Val Gln Asp  
 275 280 285

55

Leu Lys Pro Phe Thr Glu Tyr Val Phe Arg Ile Cys Cys Met Lys Glu  
 290 295 300

60

Asp Gly Lys Gly Tyr Trp Ser Asp Trp Ser Glu Glu Ala Asn Gly Ile  
 305 310 315 320

65

Thr Tyr Glu Asp Arg Pro Ser Lys Ala Pro Ser Phe Trp Tyr Lys Ile  
 325 330 335

Asp Pro Ser His Ala Gln Gly Tyr Arg Thr Val Gln Leu Met Trp Lys  
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Phe Glu Ala Asn Gly Lys Ile Leu Asp Tyr Glu Val

## ES 2 692 657 T3

5           Thr Leu Thr Arg Trp Lys Ser His Leu Gln Asn Tyr Thr Val Asn Asp  
       370                   375                   380

10          Thr Lys Leu Thr Val Asn Leu Thr Asn Asp Arg Tyr Val Ala Thr Leu  
       385                   390                   395                   400

15          Thr Ala Arg Asn Leu Val Gly Lys Ser Asp Ala Ala Val Leu Thr Ile  
       405                   410                   415

20          Pro Ala Cys Asp Phe Gln Ala Thr His Pro Val Met Asp Leu Lys Ala  
       420                   425                   430

25          Phe Pro Lys Asp Asn Met Leu Trp Val Glu Trp Thr Thr Pro Arg Glu  
       435                   440                   445

30          Ser Val Lys Lys Tyr Ile Leu Glu Trp Cys Val Leu Ser Asp Lys Ala  
       450                   455                   460

35          Pro Cys Ile Ala Asp Trp Gln Gln Glu Asp Gly Thr Val His Arg Thr  
       465                   470                   475                   480

40          His Leu Arg Gly Asn Leu Ala Glu Ser Lys Cys Tyr Leu Ile Thr Val  
       485                   490                   495

45          Thr Pro Val Tyr Ala Asp Gly Pro Gly Ser Pro Glu Ser Ile Lys Ala  
       500                   505                   510

50          Tyr Leu Lys Gln Ala Pro Pro Ser Lys Gly Pro Thr Val Arg Thr Lys  
       515                   520                   525

55          Lys Val Gly Lys Asn Glu Ala Val Leu Glu Trp Asp Gln Leu Pro Val  
       530                   535                   540

60          Asp Val Gln Asn Gly Phe Ile Arg Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Arg Thr  
       545                   550                   555                   560

65          Ile Ile Gly Asn Glu Thr Ala Val Asn Val Asp Ser Ser His Thr Glu  
       565                   570                   575

70          Tyr Thr Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Thr Leu Tyr Met Val Arg Met  
       580                   585                   590

75          Ala Ala Tyr Thr Asp Glu Gly Gly Lys Asp Gly Pro Glu Phe Thr Phe  
       595                   600                   605

## ES 2 692 657 T3

Thr Thr Pro Lys Phe Ala Gln Gly Glu Ile Glu Ala Ile Val Val Pro  
 610 615 620

5 Val Cys Leu Ala Phe Leu Leu Thr Thr Leu Leu Gly Val Leu Phe Cys  
 625 630 635 640

10 Phe Asn Lys Arg Asp Leu Ile Lys Lys His Ile Trp Pro Asn Val Pro  
 645 650 655

15 Asp Pro Ser Lys Ser His Ile Ala Gln Trp Ser Pro His Thr Pro Pro  
 660 665 670

20 Arg His Asn Phe Ser Ser Lys Asp Gln Met Tyr Ser Asp Gly Asn Phe  
 675 680 685

25 Thr Asp Val Ser Val Val Glu Ile Glu Ala Asn Asp Lys Lys Pro Phe  
 690 695 700

30 Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Asp Leu Phe Lys Lys Glu Lys Ile Asn  
 705 710 715 720

35 Thr Glu Gly His Ser Ser Gly Ile Gly Gly Ser Ser Cys Met Ser Ser  
 725 730 735

40 Ser Arg Pro Ser Ile Ser Ser Ser Asp Glu Asn Glu Ser Ser Gln Asn  
 740 745 750

45 Thr Ser Ser Thr Val Gln Tyr Ser Thr Val Val His Ser Gly Tyr Arg  
 755 760 765

50 His Gln Val Pro Ser Val Gln Val Phe Ser Arg Ser Glu Ser Thr Gln  
 770 775 780

55 Pro Leu Leu Asp Ser Glu Glu Arg Pro Glu Asp Leu Gln Leu Val Asp  
 785 790 795 800

60 His Val Asp Gly Ser Asp Asp Ile Leu Pro Arg Gln Gln Tyr Phe Lys  
 805 810 815

65 Gln Asn Cys Ser Gln His Glu Ser Ser Pro Asp Ile Ser His Phe Glu  
 820 825 830

Arg Ser Lys Gln Val Ser Ser Val Asn Glu Glu Asp Phe Val Arg Leu  
 835 840 845

Lys Gln Gln Ile Ser Asp His Ile Ser Gln Ser Cys Gly Ser Gly Glu  
 850 855 860

ES 2 692 657 T3

Met Lys Met Phe Gln Glu Val Ser Ala Ala Asp Pro Phe Gly Pro Gly  
5 865 870 875 880

Thr Glu Gly Gln Val Glu Arg Phe Glu Thr Ile Gly Met Glu Ala Ala  
10 885 890 895

Ile Asp Glu Gly Met Pro Lys Ser Tyr Leu Pro Gln Thr Val Arg Gln  
15 900 905 910

Gly Gly Tyr Met Pro Gln  
20 915

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**REIVINDICACIONES**

**1.** Una proteína de unión al antígeno del receptor de oncostatina M (OSMR), en la que la proteína de unión al antígeno es un anticuerpo, en el que el anticuerpo comprende:

5           un dominio variable de cadena ligera que comprende una región 1 determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR1) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:31; una región 2 determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR2) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:34; y una

10           región 3 determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR3) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:37; y

15           un dominio variable de cadena pesada que comprende una región 1 determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR1) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:13; una región 2 determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR2) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:16; y una

20           región 3 determinante de la complementariedad de la cadena pesada (HCDR3) que tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO:19, en donde el anticuerpo inhibe la unión de la oncostatina humana M (OSM) y la interleuquina 31 humana a la OSMR humana, y en donde el anticuerpo reduce la señalización de OSMR mediada por OSM y mediada por interleuquina humana en células humanas que expresan OSMR.

**2.** El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:28.

**3.** El anticuerpo de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO:54.

**4.** El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende una cadena ligera y una cadena pesada, en donde la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID: 25.

**5.** El anticuerpo de la reivindicación 4, en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.

**6.** El anticuerpo de la reivindicación 4 o la reivindicación 5, en el que el anticuerpo es un anticuerpo humano.

**7.** El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el anticuerpo se une a OSMR humana con una afinidad menor o igual a  $1 \times 10^{-9}$  M.

**8.** Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, junto con un diluyente, vehículo, solubilizante, emulsionante, conservante y/o adyuvante farmacéuticamente eficaz.

**9.** Un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 o la composición de la reivindicación 8, para uso en el tratamiento de un trastorno autoinmune, un trastorno inflamatorio o un trastorno asociado con la deposición o remodelación de la matriz extracelular.

**10.** El anticuerpo o la composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el trastorno autoinmune, el trastorno inflamatorio o el trastorno asociado con la deposición o remodelación de la matriz extracelular es fibrosis, degradación del cartílago, artritis, artritis reumatoide, esclerodermia, enfermedad pulmonar asociada a esclerodermia intersticial, fibrosis pulmonar idiopática, cirrosis, psoriasis, dermatitis atópica, amiloidosis cutánea sistémica, amiloidosis cutánea primaria, inflamación, prurito, prurigo nodular y dolor.

**11.** El anticuerpo o la composición para uso de acuerdo con la reivindicación 9 o la reivindicación 10, en donde el anticuerpo o la composición se administra por administración intravenosa o administración subcutánea.

**12.** Un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7.

**13.** Un vector de expresión que comprende el ácido nucleico aislado de la reivindicación 12.

**14.** Una célula huésped recombinante que comprende un ácido nucleico aislado de la reivindicación 12, unido operativamente a un promotor.

**15.** Un método para producir una proteína de unión al antígeno del receptor de oncostatina M (OSMR), en donde la proteína de unión al antígeno es un anticuerpo, comprendiendo el método:

60           a) el cultivo de una célula huésped recombinante de la reivindicación 14; y  
b) el aislamiento del anticuerpo de dicho cultivo.