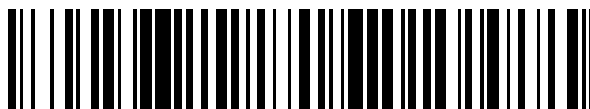


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 710 289**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

G01N 33/567 (2006.01)

C07H 21/04 (2006.01)

C12P 21/06 (2006.01)

C07K 16/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.06.2006 E 11190796 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2018 EP 2452694**

54 Título: **Anticuerpos anti-IL-23, composiciones, procedimientos y usos**

30 Prioridad:

30.06.2005 US 695831 P

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

24.04.2019

73 Titular/es:

**JANSSEN BIOTECH, INC. (100.0%)
800/850 Ridgeview Drive
Horsham, PA 19044, US**

72 Inventor/es:

**BENSON, JACQUELINE;
CUNNINGHAM, MARK;
DUCHALA, CYNTHIA;
GILES-KOMAR, JILL M.;
LUO, JINQUAN;
RYCZYNN, MICHAEL A. y
SWEET, RAYMOND**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 710 289 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-IL-23, composiciones, procedimientos y usos

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a anticuerpos, que incluyen porciones especificadas o variantes, específicos para al menos una proteína IL-23 o fragmento de la misma, además de a anticuerpos antiidiotípicos, y a ácidos nucleicos que codifican anticuerpos anti-IL-23p19, ácidos nucleicos complementarios, vectores, células huésped y procedimientos de preparación y uso de los mismos, que incluyen formulaciones terapéuticas, administración y dispositivos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La interleucina (IL)-12 es una citocina heterodimérica secretada que comprende 2 subunidades de proteínas glicosiladas ligadas por disulfuro, designadas p35 y p40 por sus pesos moleculares aproximados. IL-12 se produce principalmente por células presentadoras de antígeno y acciona la inmunidad mediada por células uniéndose a un complejo de receptor de dos cadenas que se expresa sobre la superficie de linfocitos T o linfocitos citolíticos espontáneos (NK). La cadena del receptor beta-1 de IL-12 (IL-12Rβ1) se une a la subunidad p40 de IL-12, proporcionando la interacción primaria entre IL-12 y su receptor. Sin embargo, es la ligación de IL-12p35 de la segunda cadena del receptor, IL-12Rβ2, la que confiere señalización intracelular (por ejemplo, fosforilación de STAT4) y activación de la célula que lleva el receptor (Presky y col., 1996). Se cree que la señalización de IL-12 simultánea a la presentación de antígeno provoca la diferenciación de linfocitos T hacia el fenotipo 1 de linfocitos T colaboradores (Th1), caracterizado por la producción de interferón gamma (IFNγ) (Trinchieri, 2003). Se cree que las células Th1 promueven la inmunidad a algunos patógenos intracelulares, generan isotipos de anticuerpo de fijación a complemento y contribuyen a la inmunosupervisión de tumores. Por tanto, se cree que IL-12 es un componente significativo para los mecanismos inmunes de defensa del huésped.

Se descubrió que la subunidad de proteína p40 de IL-12 también puede asociarse con una subunidad de proteína separada, designada p19, para formar una citocina novedosa, IL-23 (Oppman y col., 2000; documentos EP1072610; US 6.495.667; Oppman y col., 2003; Sehy y col. 2005). IL-23 también señala mediante un complejo de receptor de dos cadenas. Como la subunidad p40 es compartida entre IL-12 y IL-23, de esto resulta que la cadena de IL-12Rβ1 también sea compartida entre IL-12 y IL-23. Sin embargo, es la ligación de IL-23p19 del segundo componente del complejo de receptor de IL-23, IL-23R, la que confiere señalización intracelular específica para IL-23 (por ejemplo, fosforilación de STAT3) y posterior producción de IL-17 por linfocitos T (Parham y col., 2002; Aggarwal y col. 2003). Estudios recientes han demostrado que las funciones biológicas de IL-23 son distintas de las de IL-12, a pesar de la similitud estructural entre las dos citocinas (Langrish y col., 2005).

La regulación anormal de IL-12 y poblaciones de células Th1 se ha asociado a muchas enfermedad mediadas por células, ya que la neutralización de IL-12 por anticuerpos es eficaz en el tratamiento de modelos animales de psoriasis, esclerosis múltiple (EM), artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, diabetes mellitus dependiente de insulina (tipo 1) y uveítis (Leonard y col., 1995, Hong y col., 1999; Malfait y col., 1998; Davidson y col., 1998). Sin embargo, como estos estudios eligieron como diana la subunidad p40 compartida, tanto IL-12 como IL-23 se neutralizaron *in vivo*. Por tanto, no estaba claro si IL-12 o IL-23 estaban mediando en la enfermedad, o si ambas citocinas necesitaban inhibirse para lograr la supresión de la enfermedad. Estudios recientes han confirmado mediante ratones deficientes en IL-23p19 o neutralización de anticuerpos específicos de IL-23 que la inhibición de IL-23 puede proporcionar beneficio equivalente como estrategias anti-IL-12p40 (Cua y col., 2003, Murphy y col., 2003, Benson y col. 2004, documento US 2005/0137385). Por tanto, hay cada vez más pruebas de que la función específica de IL-23 en enfermedad inmunorrelacionada (por ejemplo, documentos WO2004/042009 y WO2004/071517) y otra enfermedad (por ejemplo, documento WO2004/081190). La neutralización de IL-23 sin inhibición de rutas de IL-12 podría entonces proporcionar terapia eficaz de enfermedad inmunorrelacionada con impacto limitado sobre el mecanismo inmune de defensa del huésped importante. Esto representaría una mejora significativa con respecto a las presentes opciones terapéuticas.

55 RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona anticuerpos de mamífero aislados que incluyen, sin limitación, humanos, que se unen a la subunidad p19 de IL-23, anticuerpos anti-IL-23p19 (también denominados anticuerpos para IL-23p19), inmunoglobulinas, fragmentos, productos de escisión y otras porciones especificadas y variantes de los mismos, además de composiciones de anticuerpo anti-IL-23p19, ácidos nucleicos codificantes o complementarios, vectores, células huésped, composiciones, combinaciones, formulaciones, dispositivos, animales transgénicos, plantas transgénicas y procedimientos de preparación y uso de los mismos.

En un primer aspecto, la invención proporciona un anticuerpo para IL-23p19 aislado, en el que dicho anticuerpo se une a IL-23P19 humana o un fragmento de la misma en un epítipo que comprende los residuos de

aminoácidos 93-102 de la SEC ID N°: 1.

En un segundo aspecto, la invención proporciona un ácido nucleico que codifica un anticuerpo de la invención.

En un tercer aspecto, la invención proporciona una célula huésped que comprende un ácido nucleico de la invención.

En un cuarto aspecto, la invención proporciona un procedimiento para producir un anticuerpo de la invención que comprende traducir una molécula de ácido nucleico de la invención bajo condiciones *in vitro*, *in vivo* o *in situ*, de tal manera que el anticuerpo para IL-23p19 se expresa en cantidades detectables o recuperables.

En un quinto aspecto la invención proporciona una composición que comprende un anticuerpo de la invención y al menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En un sexto aspecto la invención proporciona un dispositivo médico que comprende un anticuerpo de la invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 muestra que anticuerpos para IL23p19 se unen específicamente a hrIL-23 y no hrIL-12 o monómero de hrp40. Se muestra que un anticuerpo anti-IL12/IL23p40 se une a IL-23, IL-12 y el monómero p40. Se muestra que un anticuerpo anti-IL12 (20C2) sólo se une a IL-12.

La Figura 2 muestra la unión de IL-23 a anticuerpos para IL-23p19 inmovilizados en placa de la invención en que la que los cuatro anticuerpos probados muestran curvas de unión similares.

La Figura 3A muestra que anticuerpos C1249 y C1269 bloquean la unión de IL-23/IL-23R normal.

La Figura 3B muestra que anticuerpos C1273 y C1275 bloquean la unión de IL-23/IL-23R normal.

La Figura 4 muestra que los anticuerpos para IL-23p19 de la invención inhiben la producción de IL-17 mediada por hrIL-23.

La Figura 5 muestra el impacto de mutaciones de IL-23 sobre la unión de C1249, C1269 y CNTO 209.

La Figura 6 muestra un modelo estructural de IL-23 humana en una representación en cinta.

La Figura 7 muestra los resultados de análisis de competencia de anticuerpos C1249 y C1269.

La Figura 8A muestra un análisis de ELISA de la unión de proteínas mutantes IL-23 al anticuerpo C1249.

La Figura 8B muestra un análisis de ELISA de la unión de proteínas mutantes IL-23 al anticuerpo C1269.

La Figura 9 muestra una comparación de la actividad de la unión relativa para proteínas mutantes IL-23 que se unen a C1249, C1269 y anticuerpo de control.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona anticuerpos anti-IL-23p19 aislados, recombinantes y/o sintéticos que incluyen, sin limitación, anticuerpos antiidiotípicos de mamífero (por ejemplo, anticuerpos humanos) y para IL-23p19 para los mismos, además de composiciones y moléculas de ácidos nucleicos codificantes que comprenden al menos un polinucleótido que codifica al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 o anticuerpo antiidiotípico. La presente invención incluye adicionalmente, pero no se limita a, procedimientos de preparación y uso de tales ácidos nucleicos y anticuerpos y anticuerpos antiidiotípicos, que incluyen composiciones de diagnóstico y terapéuticas, procedimientos y dispositivos.

Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo anti-IL-23p19", "anticuerpo para IL-23p19", "porción de anticuerpo anti-IL-23p19" o "fragmento de anticuerpo anti-IL-23p19" y/o "variante de anticuerpo anti-IL-23p19" y similares incluye cualquier molécula que contenga proteína o péptido que comprende al menos una parte de una molécula de inmunoglobulina tal como, pero no se limita a, al menos una región determinante de la complementariedad (CDR) de una cadena pesada o ligera o una porción de unión a ligando de la misma, una región variable de la cadena pesada o la cadena ligera, una región constante de la cadena pesada o la cadena ligera, una región estructural, o cualquier porción de las mismas, o al menos una porción de un receptor de IL-23 o proteína de unión, que puede incorporarse en un anticuerpo de la presente invención. Tal anticuerpo afecta opcionalmente

adicionalmente a un ligando específico tal como, pero no se limita a, cuando tal anticuerpo modula, disminuye, aumenta, antagoniza, agoniza, mitiga, alivia, bloquea, inhibe, deroga y/o interfiere con al menos una actividad o unión de IL-23, o con actividad o unión de receptor de IL-23, *in vitro*, *in situ* y/o *in vivo*. Como ejemplo no limitante, un anticuerpo anti-IL-23p19 adecuado, porción especificada o variante de la presente invención puede unirse a al menos una molécula de IL-23, o porciones, variantes especificadas o dominios de los mismos. Un anticuerpo anti-IL-23p19 adecuado, porción especificada, o variante, también puede afectar opcionalmente a al menos una de actividad o función de IL-23p19 tal como, pero no se limita a, síntesis de ARN, ADN o proteínas, liberación de IL-23, señalización de receptores de IL-23, escisión de IL-23 de membranas, actividad de IL-23, producción y/o síntesis de IL-23.

El término “anticuerpo” pretende englobar adicionalmente anticuerpos, fragmentos de digestión, porciones especificadas y variantes de los mismos que incluyen, sin limitación, miméticos de anticuerpos o que comprenden porciones de anticuerpos que imitan la estructura y/o función de un anticuerpo o fragmento especificado o porción del mismo que incluye, sin limitación, anticuerpos monocatenarios, anticuerpos de un único dominio y fragmentos de los mismos. Fragmentos funcionales incluyen fragmentos de unión a antígeno que se unen a una IL-23p19 humana. Por ejemplo, fragmentos de anticuerpos que pueden unirse a IL-23p19 o porciones de los mismos que incluyen, pero no se limitan a, Fab (por ejemplo, por digestión con papaína), Fab' (por ejemplo, por digestión con pepsina y reducción parcial) y F(ab')₂ (por ejemplo, por digestión con pepsina), facb (por ejemplo, por digestión con plasmina), pFc' (por ejemplo, por digestión con pepsina o plasmina), Fd (por ejemplo, por digestión con pepsina, reducción y reagregación parcial), fragmentos Fv o scFv (por ejemplo, por técnicas de biología molecular), están englobados por la invención (véase, por ejemplo, Colligan, Immunology, arriba).

Tales fragmentos pueden producirse por escisión enzimática, técnicas sintéticas o recombinantes, como se conoce en la técnica, y/o como se describe en el presente documento. Los anticuerpos también pueden producirse en una variedad de formas truncadas usando genes de anticuerpo en los que uno o más codones de terminación han sido introducidos en la dirección 5' del sitio de terminación natural. Por ejemplo, un gen de combinación que codifica una porción de la cadena pesada de F(ab')₂ puede diseñarse para incluir secuencias de ADN que codifican el dominio CH₁ y/o la región bisagra de la cadena pesada. Las diversas porciones de anticuerpos pueden unirse juntas químicamente por técnicas convencionales, o pueden prepararse como proteína contigua usando técnicas de ingeniería genética.

El término “anticuerpo humano”, como se usa en el presente documento, está previsto que incluya anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de o estrechamente correspondientes a las secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis al azar o específicas para sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*). Por tanto, como se usa en el presente documento, el término “anticuerpo humano” se refiere a un anticuerpo en el que sustancialmente cada parte de la proteína (por ejemplo, CDR, región estructural, dominios C_L, C_H (por ejemplo, C_H1, C_H2, C_H3), bisagra, (V_L, V_H)) es sustancialmente similar a un anticuerpo de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos se han clasificado en agrupaciones basándose en sus similitudes de secuencias de aminoácidos, véase, por ejemplo, <http://people.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s/>. Por tanto, usando una búsqueda de similitud de secuencias, un anticuerpo con secuencia lineal similar puede elegirse como molde para crear “anticuerpos humanizados”.

La “humanización” (también llamada remodelación o injerto de CDR) es ahora una técnica bien establecida para reducir la inmunogenicidad de anticuerpos monoclonales (mAb) de fuentes xenogéneas (comúnmente de roedor) y para mejorar las funciones efectoras (ADCC, activación del complemento, unión de C1q). El mAb manipulado se manipula usando las técnicas de molecular biología; sin embargo, el simple injerto de CDR de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de roedor en regiones estructurales humanas frecuentemente produce pérdida de afinidad de unión y/o especificidad del mAb original. Con el fin de humanizar un anticuerpo, el diseño del anticuerpo humanizado incluye variaciones tales como sustituciones de aminoácidos conservativas en residuos de las CDR, y retro-sustitución de residuos del mAb de roedor en las regiones estructurales humanas (retro-mutaciones). Las posiciones pueden distinguirse o identificarse por comparación de secuencias para análisis estructural o por análisis de un modelo de homología de la estructura 3D de las regiones variables. El procedimiento de maduración por afinidad ha usado más recientemente bibliotecas de fagos para variar los aminoácidos en posiciones elegidas. Similarmente, se han usado muchos enfoques para elegir las regiones estructurales humanas más apropiadas en las que injertar las CDR de roedor. A medida que aumentan los conjuntos de datos de parámetros conocidos para estructuras de anticuerpo, así aumenta la sofisticación y el refinamiento de estas técnicas. Pueden usarse secuencias consenso o de la línea germinal de un único anticuerpo o fragmentos de las secuencias de la región estructural dentro de cada región variable de la cadena ligera o pesada de varios mAb humanos diferentes. Otro enfoque para la humanización es modificar sólo residuos superficiales de la secuencia de roedor con los residuos más comunes encontrados en mAb humanos, y se ha llamado “acondicionamiento superficial” o “inactivación”. Secuencias de Ig humana conocidas se desvelan, por ejemplo, www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi; www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast; www.atcc.org/phage/hdb.html; www.kabatdatabase.com/top.html; www.antibodyresource.com/onlinecomp.html; www.appliedbiosystems.com; www.

biodesign.com; antibody.bath.ac.uk; www.unizh.ch; www.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s; Kabat y col., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health (1983). Frecuentemente, el anticuerpo humano o humanizado es sustancialmente no inmunogénico en seres humanos.

5 Similarmente, los anticuerpos designaron primate (mono, babuino, chimpancé, etc.), roedor (ratón, rata, conejo, cobaya, hámster, y similares) y otros mamíferos designan tales especies, sub-género, género, sub-familia y anticuerpos específicos para familia. Además, anticuerpos quiméricos pueden incluir cualquier combinación de los anteriores. Tales cambios o variaciones retienen o reducen opcionalmente y preferentemente la inmunogenicidad en seres humanos u otras especies con respecto a anticuerpos no modificados. Por tanto, un anticuerpo humano es
10 distinto de un anticuerpo quimérico o humanizado.

Se muestra que un anticuerpo humano puede producirse por un animal no humano o célula procariota o eucariota que puede expresar genes de inmunoglobulina humana funcionalmente reorganizada (por ejemplo, cadena pesada y/o cadena ligera).

15 Además, cuando un anticuerpo humano es un anticuerpo monocatenario o de un único dominio, puede comprender un péptido ligador que no se encuentra en anticuerpos humanos nativos. Por ejemplo, un Fv puede comprender un péptido ligador, tal como dos a aproximadamente ocho residuos de glicina u otros residuos de aminoácidos, que conecta la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera. Se considera que tales péptidos ligadores son de origen humano.

También pueden usarse anticuerpos biespecíficos, heteroespecíficos, heteroconjugados o similares que son anticuerpos monoclonales, preferentemente, humanos o humanizados, que tienen especificidades de unión por al menos dos antígenos diferentes. En el presente caso, una de las especificidades de unión es para al menos una subunidad de la proteína IL-23p19, la otra es para cualquier otro antígeno. Procedimientos para la preparación de anticuerpos biespecíficos se conocen en la técnica. Tradicionalmente, la producción recombinante de anticuerpos biespecíficos se basa en la co-expresión de dos pares de cadena pesada-cadena ligera de la inmunoglobulina, en los que las dos cadenas pesadas tienen diferentes especificidades (Milstein y Cuello, Nature 305:537 (1983)). Debido a la selección al azar de cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina, estos hibridomas (cuadromas)
25 producen una posible mezcla de 10 moléculas de anticuerpos diferentes, de las que sólo una tiene la estructura biespecífica correcta. La purificación de la molécula correcta se hace normalmente por etapas de cromatografía de afinidad. Procedimientos similares se desvelan, por ejemplo, en el documento WO 93/08829, patentes de EE.UU. nº 6210668, 6193967, 6132992, 6106833, 6060285, 6037453, 6010902, 5989530, 5959084, 5959083, 5932448, 5833985, 5821333, 5807706, 5643759, 5601819, 5582996, 5496549, 4676980, documentos WO 91/00360, WO 92/00373, EP 03089, Traunecker y col., EMBO J. 10:3655 (1991), Suresh y col., Methods in Enzymology 121:210 (1986).
35

Los anticuerpos anti-IL-23p19 útiles en los procedimientos y composiciones de la presente invención pueden caracterizarse opcionalmente por unión de alta afinidad con IL-23p19 y, opcionalmente y preferentemente, por tener baja toxicidad. En particular, un anticuerpo, fragmento especificado o variante de la invención, en el que componentes individuales tales como la región variable, región constante y región estructural, individualmente y/o colectivamente, poseen opcionalmente y preferentemente baja inmunogenicidad, es útil en la presente invención. Los anticuerpos que pueden usarse en la invención se caracterizan opcionalmente por su capacidad para tratar pacientes durante periodos prolongados con alivio medible de síntomas y toxicidad baja y/o aceptable.
40 Inmunogenicidad baja o aceptable y/o alta afinidad, además de otras propiedades adecuadas, pueden contribuir a los resultados terapéuticos alcanzados. "Baja inmunogenicidad" se define en el presente documento como la incidencia de niveles valorables de anticuerpos para el anticuerpo anti-IL-23p19 en pacientes tratados con anticuerpo anti-IL-23p19 que se produce en menos del 25% de pacientes tratados, preferentemente en menos del 10% de pacientes tratados con la dosis recomendada para el transcurso recomendado de terapia durante el periodo de tratamiento.
50

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención pueden usarse para la producción de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 o variante especificada del mismo, que puede usarse para medir o efectuar en una célula, tejido, órgano o animal (incluyendo mamíferos y seres humanos), para diagnosticar, monitorizar, modular, tratar,
55 aliviar, ayudar a prevenir la incidencia de, o reducir los síntomas de, al menos una afección relacionada con IL-23, seleccionada de, pero no se limita a, al menos uno de un trastorno o enfermedad inmunitaria, un trastorno o enfermedad cardiovascular, un trastorno o enfermedad infecciosa, maligna y/o neurológica, u otra afección conocida o relacionada con IL-23 especificada.

Un procedimiento tal puede comprender administrar una cantidad eficaz de una composición o una composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento, alivio, prevención o reducción en síntomas, efectos o mecanismos. La cantidad eficaz puede comprender una cantidad de aproximadamente 0,001 a 500 mg/kg por administración única (por ejemplo, bolo), múltiple o continua, o para lograr una concentración en suero de 0,01-5000 µg/ml de concentración en suero por administración única, múltiple o continua, o cualquier intervalo eficaz o valor en
60 65

su interior, como se hace y se determina usando procedimientos conocidos, como se describen en el presente documento o son conocidos en las ciencias relevantes.

Anticuerpos de la presente invención - Producción y generación

Al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 de la presente invención puede producirse opcionalmente por una línea celular, una línea celular mixta, una célula inmortalizada o población clónica de células inmortalizadas, como es muy conocido en la técnica. Véase, por ejemplo, Ausubel y col., ed., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc., NY, NY (1987-2001); Sambrook y col., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª edición, Cold Spring Harbor, NY (1989); Harlow y Lane, *Antibodies, a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, NY (1989); Colligan y col., eds., *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2001); Colligan y col., *Current Protocols in Protein Science*, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001).

Los anticuerpos que son específicos para proteínas IL-23p19 humanas o fragmentos de las mismas pueden producirse contra un antígeno inmunogénico apropiado tal como una proteína IL-23p19 aislada y/o una parte de la misma (incluyendo moléculas sintéticas tales como péptidos sintéticos). Otros anticuerpos específicos o generales que incluyen, sin limitación, anticuerpos de mamífero, pueden producirse similarmente. La preparación de antígenos inmunogénicos y la producción de anticuerpos monoclonales puede realizarse usando cualquier técnica adecuada.

En un enfoque, un hibridoma se produce fusionando una línea celular inmortal adecuada (por ejemplo, una línea de células de mieloma tal como, pero no se limita a, Sp2/0, Sp2/0-AG14, NSO, NS1, NS2, AE-1, L5, L243, P3X63Ag8.653, Sp2 SA3, Sp2 MAI, Sp2 SS1, Sp2 SA5, U937, MLA 144, ACT IV, MOLT4, DA-1, JURKAT, WEHI, K-562, COS, RAJI, NIH 3T3, HL-60, MLA 144, NAMALWA, NEURO 2A, o similares, o heteromilomas, productos de fusión de los mismos, o cualquier célula o célula de fusión derivada de las mismas, o cualquier otra línea celular adecuada como se conoce en la técnica) (véase, por ejemplo, www.atcc.org, www.lifetech.com, y similares), con células productoras de anticuerpos tales como, pero no se limitan a, bazo aislado o clonado, sangre periférica, linfa, tonsil, u otras células inmunes o que contienen linfocitos B, o cualquier otra célula que exprese secuencias constantes o variables de la cadena pesada o ligera o de la región estructural o de CDR, tanto como ácido nucleico endógeno o heterólogo, como ADN recombinante o endógeno, vírico, bacteriano, de alga, procariota, de anfibio, de insecto, de reptil, de pez, de mamífero, de roedor, equino, ovino, de cabra, de oveja, de primate, eucariota, ADN genómico, ADNc, ADNr, ADN o ARN mitocondrial, ADN o ARN de cloroplasto, ARNnh, ARNm, ARNt, mono, bi o tricatenario, hibridado, y similares, o cualquier combinación de los mismos. Véase, por ejemplo, Ausubel, arriba, y Colligan, *Immunology*, arriba, capítulo 2.

También pueden obtenerse células productoras de anticuerpos de la sangre periférica o, preferentemente, el bazo o ganglios linfáticos, de seres humanos u otros animales adecuados que han sido inmunizados con el antígeno de interés. Cualquier otra célula huésped adecuada también puede usarse para expresar ácido nucleico heterólogo o endógeno que codifica un anticuerpo, fragmento especificado o variante del mismo, de la presente invención. Las células fusionadas (hibridomas) o células recombinantes pueden aislarse usando condiciones de cultivo selectivas u otros procedimientos conocidos adecuados, y se clonan por dilución limitante o clasificación de células, u otros procedimientos conocidos. Células que producen anticuerpos con la especificidad deseada pueden seleccionarse por un ensayo adecuado (por ejemplo, ELISA).

Procedimientos para manipular o humanizar anticuerpos no humanos o humanos también pueden usarse y son muy conocidos en la técnica. Un anticuerpo humanizado o manipulado puede tener uno o más residuos de aminoácidos de una fuente que es no humana, por ejemplo, pero no se limita a, ratón, rata, conejo, primate no humano u otro mamífero. Estos residuos de aminoácidos no humanos están sustituidos por residuos que frecuentemente se denominan residuos "de importación", que se toman normalmente de un dominio variable "de importación", constante u otro de una secuencia humana conocida.

Secuencias de Ig humana conocidas se desvelan, por ejemplo, www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi; www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast; www.atcc.org/phage/hdb.html; www.mrc-cpe.cam.ac.uk/ALIGNMENTS.phg; www.kabatdatabase.com/top.html; ftp.ncbi.nlm.nih.gov/repository/kabat; www.sciquest.com; www.abcam.com; www.antibodyresource.com/onlinecomp.html; www.public.iastate.edu/~pedro/research_tools.html; www.whfreeman.com/immunology/CH05/kuby05.htm; www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab; www.path.cam.ac.uk/~mrc7/mikeimages.html; mcb.harvard.edu/BioLinks/Immunology.html; www.immunologylink.com; pathbox.wustl.edu/~hcenter/index.html; www.appliedbiosystems.com; www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody; www.m.ehime-u.ac.jp/~yasuhito/Elisa.html; www.biodesign.com; www.cancerresearchuk.org; www.biotech.ufl.edu; www.isac-net.org; baserv.uci.kun.nl/~jraats/linksl.html; www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu; www.mrc-cpe.cam.ac.uk; www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html; http://www.bioinf.org.uk/abs; antibody.bath.ac.uk; www.unizh.ch; www.cryst.bbk.ac.uk/~ubcg07s; www.nimr.mrc.ac.uk/cc/caewg/caewg.html; www.path.cam.ac.uk/~mrc7/humanisation/TAHHP.html; www.bt.unam.mx/vir/structure/stat_aim.html; www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.html; www.jerini.de; Kabat y col., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, U.S. Dept. Health (1983).

Tales secuencias importadas pueden usarse para reducir la inmunogenicidad o reducir, potenciar o modificar la unión, afinidad, constante de asociación, constante de disociación, avidez, especificidad, semivida, o cualquier otra característica adecuada, como se conoce en la técnica. En general, los residuos de CDR están directamente y más sustancialmente implicados en influir la unión a antígeno. Por consiguiente, parte o todas las secuencias de CDR no humanas o humanas se mantienen mientras que las secuencias no humanas de las regiones variables y constantes pueden sustituirse con aminoácidos humanos u otros.

Los anticuerpos también pueden humanizarse o manipularse opcionalmente o los anticuerpos humanos pueden manipularse con retención de alta afinidad por el antígeno y otras propiedades biológicas favorables. Para lograr este objetivo, anticuerpos humanizados (o humanos) pueden prepararse opcionalmente mediante un procedimiento de análisis de las secuencias parentales y diversos productos humanizados u manipulados conceptuales usando modelos tridimensionales de las secuencias parentales, manipuladas y humanizadas. Modelos de inmunoglobulina tridimensional están comúnmente disponibles y son familiares para aquellos expertos en la materia. Están disponibles programas informáticos que ilustran y muestran estructuras conformacionales tridimensionales probables de secuencias candidatas seleccionadas de inmunoglobulina. La inspección de esta muestra permite el análisis de la función probable de los residuos en el funcionamiento de la secuencia de inmunoglobulina candidata, es decir, el análisis de residuos que influyen en la capacidad de la inmunoglobulina candidata para unirse a su antígeno.

De esta forma, los residuos de la región estructural (FR) pueden seleccionarse y combinarse de las secuencias consenso y de importación de manera que se logre la característica de anticuerpo deseada, tal como elevada afinidad por el (los) antígeno(s) diana.

Además, el anticuerpo para IL-23p19 de la presente invención puede comprender una región estructural de la cadena ligera de la línea germinal humana. En realizaciones particulares, la secuencia de la línea germinal de la cadena ligera está seleccionada de secuencias VK humanas que incluyen, pero no se limitan a, A1, A10, A11, A14, A17, A18, A19, A2, A20, A23, A26, A27, A3, A30, A5, A7, B2, B3, L1, L10, L11, L12, L14, L15, L16, L18, L19, L2, L20, L22, L23, L24, L25, L4/18a, L5, L6, L8, L9, O1, O11, O12, O14, O18, O2, O4 y O8. En ciertas realizaciones, esta región estructural de la línea germinal humana de la cadena ligera está seleccionada de V1-11, V1-13, V1-16, V1-17, V1-18, V1-19, V1-2, V1-20, V1-22, V1-3, V1-4, V1-5, V1-7, V1-9, V2-1, V2-11, V2-13, V2-14, V2-15, V2-17, V2-19, V2-6, V2-7, V2-8, V3-2, V3-3, V3-4, V4-1, V4-2, V4-3, V4-4, V4-6, V5-1, V5-2, V5-4 y V5-6. Véase el documento PCT WO 2005/005604 para una descripción de las diferentes secuencias de la línea germinal.

En otras realizaciones, el anticuerpo para IL-23 de la presente invención puede comprender una región estructural de la cadena pesada de la línea germinal humana. En realizaciones particulares, esta región estructural de la línea germinal humana de la cadena pesada está seleccionada de VH1-18, VH1-2, VH1-24, VH1-3, VH1-45, VH1-46, VH1-58, VH1-69, VH1-8, VH2-26, VH2-5, VH2-70, VH3-11, VH3-13, VH3-15, VH3-16, VH3-20, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-33, VH3-35, VH3-38, VH3-43, VH3-48, VH3-49, VH3-53, VH3-64, VH3-66, VH3-7, VH3-72, VH3-73, VH3-74, VH3-9, VH4-28, VH4-31, VH4-34, VH4-39, VH4-4, VH4-59, VH4-61, VH5-51, VH6-1 y VH7-81. Véase el documento PCT WO 2005/005604 para una descripción de las diferentes secuencias de la línea germinal.

En realizaciones particulares, la región variable de la cadena ligera y/o región variable de la cadena pesada comprende una región estructural o al menos una parte de una región estructural (por ejemplo, que contiene 2 ó 3 subregiones, tales como FR2 y FR3).

En ciertas realizaciones, al menos FRL1, FRL2, FRL3 o FRL4 es completamente humana. En otras realizaciones, al menos FRH1, FRH2, FRH3 o FRH4 es completamente humana. En algunas realizaciones, al menos FRL1, FRL2, FRL3 o FRL4 es una secuencia de la línea germinal (por ejemplo, línea germinal humana) o comprende secuencias consenso humanas para la región estructural particular (fácilmente disponible en las fuentes de secuencias de Ig humana conocidas descriptas anteriormente). En otras realizaciones, al menos FRH1, FRH2, FRH3 o FRH4 es una secuencia de la línea germinal (por ejemplo, línea germinal humana) o comprende secuencias consenso humanas para la región estructural particular. En realizaciones preferidas, la región estructural es una región estructural humana.

La humanización o manipulación de anticuerpos de la presente invención puede realizarse usando cualquier procedimiento conocido tal como, pero no se limita a, aquellos descritos en Winter (Jones y col., Nature 321:522 (1986); Riechmann y col., Nature 332:323 (1988); Verhoeyen y col., Science 239:1534 (1988)), Sims y col., J. Immunol. 151: 2296 (1993); Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196:901 (1987), Carter y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:4285 (1992); Presta y col., J. Immunol. 151:2623 (1993), patentes de EE.UU. n°: 5723323, 5976862, 5824514, 5817483, 5814476, 5763192, 5723323, 5766886, 5714352, 6204023, 6180370, 5693762, 5530101, 5585089, 5225539; documento 4816567, documentos PCT/: US98/16280, US96/18978, US91/09630, US91/05939, US94/01234, GB89/01334, GB91/01134, GB92/01755; documento WO90/14443, WO90/14424, WO90/14430, EP 229246.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo comprende una región Fc alterada (por ejemplo, mutada). Por

ejemplo, en algunas realizaciones, la región Fc ha sido alterada para reducir o potenciar las funciones efectoras del anticuerpo. En algunas realizaciones, la región Fc es un isotipo seleccionado de IgM, IgA, IgG, IgE, u otro isotipo.

Alternativamente o adicionalmente puede ser útil combinar modificaciones de aminoácidos con una o más modificaciones de aminoácidos adicionales que alteran la unión de C1q y/o la función de citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) de la región Fc de una molécula de unión a IL-23p19. El polipéptido de unión de interés particular puede ser uno que se une a C1q y muestra citotoxicidad dependiente del complemento. Polipéptidos con actividad de unión a C1q pre-existente, que opcionalmente adicionalmente tienen la capacidad para mediar en CDC, pueden modificarse de forma que una o ambas de estas actividades sean potenciadas. Modificaciones de aminoácidos que alteran C1q y/o modifican su función de citotoxicidad dependiente del complemento se describen, por ejemplo, en el documento WO/0042072.

Como se ha desvelado anteriormente, puede diseñarse una región Fc del anticuerpo para IL-23p19 de la presente invención con función efectora alterada, por ejemplo, modificando la unión a C1q y/o unión a Fc γ R y cambiando así la actividad de CDC y/o actividad de ADCC. Las "funciones efectoras" son responsables de activar o disminuir una actividad biológica (por ejemplo, en un sujeto). Ejemplos de funciones efectoras incluyen, pero no se limitan a: unión a C1q; citotoxicidad dependiente del complemento (CDC); unión a receptor de Fc; citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC); fagocitosis; regulación por disminución de receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B; BCR), etc. Tales funciones efectoras pueden requerir que la región Fc se combine con un dominio de unión (por ejemplo, un dominio variable de anticuerpo) y pueda evaluarse usando diversos ensayos (por ejemplo, ensayos de unión a Fc, ensayos de ADCC, ensayos de CDC, etc.).

Por ejemplo, puede generarse una región Fc de variante del anticuerpo para IL-23p19 con unión a C1q mejorada y unión a Fc γ R/III mejorada (por ejemplo, que tiene tanto actividad de ADCC mejorada como actividad de CDC mejorada). Alternativamente, si se desea reducir o eliminar la función efectora, una variante de la región Fc puede manipularse con actividad de CDC reducida y/o actividad de ADCC reducida. En otras realizaciones, sólo una de estas actividades puede aumentarse, y, opcionalmente, también la otra actividad reducirse (por ejemplo, para generar una variante de la región Fc con actividad de ADCC mejorada, pero actividad de CDC reducida y viceversa).

También pueden introducirse mutaciones de Fc y manipularse para alterar su interacción con el receptor de Fc neonatal (FcRn) y mejoran sus propiedades farmacocinéticas. Se ha descrito un conjunto de variantes de Fc humanas con unión mejorada a FcRn (Shields y col., (2001). High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc γ R, J. Biol. Chem. 276:6591-6604).

Otro tipo de sustitución de aminoácidos sirve para alterar el patrón de glicosilación de la región Fc del anticuerpo para IL-23p19. La glicosilación de una región Fc está normalmente tanto ligada a N como ligada a O. Ligada a N se refiere a la unión del resto de hidrato de carbono a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Glicosilación ligada a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa a un hidroxiaminoácido, lo más comúnmente serina o treonina, aunque también pueden usarse 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina. Las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática del resto de hidrato de carbono a las secuencias de péptidos de la cadena lateral de asparagina son asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina en las que X es cualquier aminoácido, excepto prolina. Por tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias de péptidos en un polipéptido crea un posible sitio de glicosilación.

El patrón de glicosilación puede alterarse, por ejemplo, delecionando uno o más sitios de glicosilación encontrados en el polipéptido, y/o añadiendo uno o más sitios de glicosilación que no están presentes en el polipéptido. La adición de sitios de glicosilación a la región Fc de un anticuerpo para IL-23p19 se realiza convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de forma que contenga una o más de las secuencias de tripéptidos anteriormente descritas (para sitios de glicosilación ligados a N). Una variante de glicosilación a modo de ejemplo tiene una sustitución de aminoácidos del residuo Asn 297 de la cadena pesada. La alteración también puede hacerse mediante la adición de, o sustitución con, uno o más residuos de serina o treonina a la secuencia del polipéptido original (para sitios de glicosilación ligados a O). Adicionalmente, un cambio de Asn 297 a Ala puede eliminar uno de los sitios de glicosilación.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo para IL-23p19 de la presente invención se expresa en células que expresan beta (1,4)-N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnT III), de forma que GnT III añade GlcNAc al anticuerpo para IL-23p19. Procedimientos para producir anticuerpos en un modo tal se proporcionan en los documentos WO/9954342, WO/03011878, publicación de patente 20030003097A1, y Umana y col., Nature Biotechnology, 17:176-180, Feb. 1999. Un anticuerpo anti-IL-23p19 puede generarse opcionalmente por inmunización de un animal transgénico (por ejemplo, ratón, rata, hámster, primate no humano y similares) que puede producir un repertorio de anticuerpos humanos, como se describe en el presente documento y/o como se conoce en la técnica. Células que producen un anticuerpo anti-IL-23p19 pueden aislarse de tales animales e immortalizarse usando procedimientos adecuados, tales como los procedimientos descritos en el presente documento.

Ratones transgénicos que pueden producir un repertorio de anticuerpos humanos que se unen a antígenos humanos pueden producirse mediante procedimientos conocidos (por ejemplo, pero no se limitan a, patentes de EE.UU. n°: 5.770.428, 5.569.825, 5.545.806, 5.625.126, 5.625.825, 5.633.425, 5.661.016 y 5.789.650 concedida a Lonberg y col.; Jakobovits y col., documento WO 98/50433, Jakobovits y col., documento WO 98/24893, Lonberg y col., documento WO 98/24884, Lonberg y col., documento WO 97/13852, Lonberg y col., documento WO 94/25585, Kucherlapate y col., documento WO 96/34096, Kucherlapate y col., documento EP 0463 151 B1, Kucherlapate y col., documento EP 0710 719 A1, Surani y col., patente de EE.UU. n° 5.545.807, Bruggemann y col., documento WO 90/04036, Bruggemann y col., documento EP 0438 474 B1, Lonberg y col., documento EP 0814 259 A2, Lonberg y col., documento GB 2 272 440 A, Lonberg y col., Nature 368:856-859 (1994), Taylor y col., Int. Immunol. 6(4):579-591 (1994), Green y col., Nature Genetics 7:13-21 (1994), Mendez y col., Nature Genetics 15:146-156 (1997), Taylor y col., Nucleic Acids Research 20(23):6287-6295 (1992), Tuailon y col., Proc Natl Acad Sci USA 90(8):3720-3724 (1993), Lonberg y col., Int Rev Immunol 13(1):65-93 (1995) y Fishwald y col., Nat Biotechnol 14(7):845-851 (1996). Generalmente, estos ratones comprenden al menos un transgén que comprende ADN de al menos un locus de inmunoglobulina humana que está funcionalmente reordenado, o que pueden someterse a reordenamiento funcional. Los loci de inmunoglobulina endógena en tales ratones pueden romperse o delecionarse para eliminar la capacidad del animal para producir anticuerpos codificados por genes endógenos.

El cribado de anticuerpos para unión específica a proteínas o fragmentos similares puede conseguirse convenientemente usando bibliotecas de expresión de péptidos. Este procedimiento implica el cribado de grandes colecciones de péptidos para miembros individuales que tienen la función o estructura deseada. El cribado de anticuerpo de bibliotecas de expresión de péptidos es muy conocido en la técnica. Las secuencias de péptidos expresadas pueden ser de 3 a 5000 o más aminoácidos de longitud, frecuentemente de 5-100 aminoácidos de longitud, y frecuentemente de aproximadamente 8 a 25 aminoácidos de longitud. Además de procedimientos sintéticos químicos directos para generar bibliotecas de péptidos, se han descrito varios procedimientos de ADN recombinante.

Un tipo implica la expresión de una secuencia de péptidos sobre la superficie de un bacteriófago o célula. Cada bacteriófago o célula contiene la secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de péptidos expresada particular. Tales procedimientos se describen en las publicaciones de patente PCT n° 91/17271, 91/18980, 91/19818 y 93/08278.

Otros sistemas para generar bibliotecas de péptidos tienen aspectos de tanto síntesis química *in vitro* como procedimientos recombinantes. Véanse las publicaciones de patente PCT n° 92/05258, 92/14843 y 96/19256. Véanse, por tanto, las patentes de EE.UU. n° 5.658.754; y 5.643.768. Las bibliotecas de expresión de péptidos, vector y kits de cribado están comercialmente disponibles de proveedores tales como Invitrogen (Carlsbad, CA), y Cambridge Antibody Technologies (Cambridgeshire, UK). Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n° 4704692, 4939666, 4946778, 5260203, 5455030, 5518889, 5534621, 5656730, 5763733, 5767260, 5856456, cedidas a Enzon; 5223409, 5403484, 5571698, 5837500, cedidas a Dyax, 5427908, 5580717, cedidas a Affymax; 5885793, cedidas a Cambridge Antibody Technologies; 5750373, cedidas a Genentech, 5618920, 5595898, 5576195, 5698435, 5693493, 5698417, cedidas a Xoma, Colligan, arriba; Ausubel, arriba; o Sambrook, arriba.

Los anticuerpos de la presente invención también pueden prepararse usando al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 que codifica ácido nucleico para proporcionar animales o mamíferos transgénicos tales como cabras, vacas, caballos, ovejas, conejos y similares, que producen tales anticuerpos en su leche. Tales animales pueden proporcionarse usando procedimientos conocidos. Véase, por ejemplo, pero no se limitan a, patentes de EE.UU. n° 5.827.690; 5.849.992; 4.873.316; 5.849.992; 5.994.616; 5.565.362; 5.304.489, y similares.

Los anticuerpos de la presente invención pueden prepararse adicionalmente usando al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 que codifica ácido nucleico para proporcionar plantas transgénicas y células vegetales cultivadas (por ejemplo, pero no se limitan a, tabaco y maíz) que producen tales anticuerpos, porciones especificadas o variantes en las partes de la planta o en células cultivadas de las mismas. Como ejemplo no limitante, hojas de tabaco transgénicas que expresan proteínas recombinantes se han usado satisfactoriamente para proporcionar grandes cantidades de proteínas recombinantes, por ejemplo, usando un promotor inducible. Véase, por ejemplo, Cramer y col., Curr. Top. Microbol. Immunol. 240:95-118 (1999) y referencias citadas en su interior. Por tanto, se ha usado maíz transgénico para expresar proteínas de mamífero a niveles de producción comercial, con actividades biológicas equivalentes a aquellas producidas en otros sistemas recombinantes o purificados de fuentes naturales. Véase, por ejemplo, Hood y col., Adv. Exp. Med. Biol. 464:127-147 (1999) y referencias citadas en su interior. También se han producido anticuerpos en grandes cantidades de semillas de plantas transgénicas que incluyen fragmentos de anticuerpos tales como anticuerpos monocatenarios (scFv), que incluyen semillas de tabaco y tubérculos de patata. Véase, por ejemplo, Conrad y col., Plant Mol. Biol. 38:101-109 (1998) y referencias citadas en su interior. Por tanto, anticuerpos de la presente invención también pueden producirse usando plantas transgénicas, según procedimientos conocidos. Véase, por tanto, por ejemplo, Fischer y col., Biotechnol. Appl. Biochem. 30:99-108 (Oct., 1999), Ma y col., Trends Biotechnol. 13:522-7 (1995); Ma y col., Plant Physiol. 109:341-6 (1995); Whitelam y col., Biochem. Soc. Trans. 22:940-944 (1994); y referencias citadas en su interior.

Los anticuerpos de la invención pueden unirse a IL-23p19 humana con un amplio intervalo de afinidades (K_D). En una realización preferida, al menos un mAb de la presente invención puede unirse opcionalmente a IL-23p19 humana con alta afinidad. Por ejemplo, un mAb humano u otro mAb puede unirse a IL-23p19 humana con una K_D igual a o inferior a aproximadamente 10^{-7} M tal como, pero no se limitan a, 0,1-9,9 (o cualquier intervalo o valor en su interior) $\times 10^{-7}$, 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} , 10^{-14} , 10^{-15} o cualquier intervalo o valor en su interior, como se ha determinado por resonancia de plasmones superficiales o el procedimiento de KinExA, como se ha puesto en práctica por aquellos expertos en la materia.

En una realización, los anticuerpos de la invención se unen a IL-23 humana, o más específicamente, IL-23p19, con una K_D entre aproximadamente $3,38 \times 10^{-10}$ M y aproximadamente $4,3 \times 10^{-11}$ M.

La afinidad o aidez de un anticuerpo por un antígeno puede determinarse experimentalmente usando cualquier procedimiento adecuado (véase, por ejemplo, Berzofsky y col., "Antibody-Antigen Interactions", en Fundamental Immunology, Paul, W. E., Ed., Raven Press: New York, NY (1984); Kubly, Janis Immunology, W. H. Freeman y Company: New York, NY (1992); y procedimientos descritos en el presente documento). La afinidad medida de una interacción anticuerpo-antígeno particular puede variar si se mide bajo diferentes condiciones (por ejemplo, concentración de sales, pH). Por tanto, las mediciones de afinidad y otros parámetros de unión a antígeno (por ejemplo, K_D , K_{as} , K_{dis}) se hacen preferentemente con disoluciones normalizadas de anticuerpo y antígeno, y un tampón normalizado, tal como el tampón descrito en el presente documento.

Ciertas realizaciones de los anticuerpos anti-IL-23p19 de la invención tienen las secuencias mostradas en las tablas de secuencia anteriores. Por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-23p19 de la invención tiene una de las secuencias de CDR1 de la cadena ligera de SEC ID N°: 9, 19, 29 y 39; una de las secuencias de CDR2 de la cadena ligera de SEC ID N°: 10, 20, 30 y 40; una de las secuencias de CDR3 de la cadena ligera de SEC ID N°: 11, 21, 31 y 41; una de las secuencias de CDR1 de la cadena pesada de SEC ID N°: 4, 14, 24 y 34; una de las secuencias de CDR2 de la cadena pesada de SEC ID N°: 5, 15, 25 y 35; y/o una de las secuencias de CDR1 de la cadena pesada de SEC ID N°: 6, 16, 26 y 36.

Moléculas de ácidos nucleicos

Usando la información proporcionada en el presente documento, por ejemplo, las secuencias de nucleótidos que codifican al menos el 70-100% de los aminoácidos contiguos de al menos una de las regiones variables de la cadena ligera de SEC ID N°: 7, 17, 27 y 37 y al menos una de las regiones variables de la cadena pesada de SEC ID N°: 2, 12, 22 y 32, fragmento especificados, variantes o secuencias consenso de las mismas, o un vector depositado que comprende al menos una de estas secuencias, una molécula de ácido nucleico de la presente invención que codifica al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 pueden obtenerse usando procedimientos descritos en el presente documento o como se conocen en la técnica.

Moléculas de ácidos nucleicos de la presente invención pueden estar en forma de ARN, tal como ARNm, ARNnh, ARNt o cualquier otra forma, o en forma de ADN, que incluye, pero no se limitan a, ADNc y ADN genómico obtenido clonando o producido sintéticamente, o cualquier combinaciones de los mismos. El ADN puede ser tricatenario, bicatenario o monocatenario, o cualquier combinación de los mismos. Cualquier porción de al menos una hebra del ADN o ARN puede ser la hebra codificante, también conocida como la hebra sentido, o puede ser la hebra antisentido, también denominada la hebra antisentido.

Moléculas de ácido nucleico aisladas de la presente invención pueden incluir moléculas de ácidos nucleicos que comprenden un marco de lectura abierto (ORF), opcionalmente con uno o más intrones, por ejemplo, pero no se limitan a, al menos una porción especificada de al menos una CDR, tal como CDR1, CDR2 y/o CDR3 de al menos una cadena ligera (9, 10, 11, 19, 20, 21, 29, 30, 31, 39, 40, 41) o al menos una cadena pesada (SEC ID N°: 4, 5, 6, 14, 15, 16, 24, 25, 26, 34, 35 y 36); moléculas de ácidos nucleicos que comprenden la secuencia codificante para un anticuerpo anti-IL-23p19 o región variable (por ejemplo, regiones variables de la cadena ligera de SEC ID N°: 7, 17, 27 y 37 y regiones variables de la cadena pesada de SEC ID N°: 2, 12, 22 y 32); y moléculas de ácidos nucleicos que comprenden una secuencia de nucleótidos sustancialmente diferente de aquellas descritas anteriormente pero que, debido a la degeneración del código genético, todavía codifican al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 como se describe en el presente documento y/o como se conoce en la técnica. Por supuesto, el código genético es muy conocido en la técnica. Por tanto, sería rutina para un experto en la materia generar tales variantes de ácido nucleico degenerado que codifican anticuerpos anti-IL-23p19 específicos de la presente invención. Véase, por ejemplo, Ausubel y col., arriba, y tales variantes de ácido nucleico están incluidas en la presente invención.

Como se indica en el presente documento, las moléculas de ácidos nucleicos de la presente invención que comprenden un ácido nucleico que codifica un anticuerpo anti-IL-23p19 pueden incluir, pero no se limitan a, aquellas que codifican la secuencia de aminoácidos de un fragmento de anticuerpo, por sí mismo; la secuencia codificante para el anticuerpo entero o una parte del mismo; la secuencia codificante para un anticuerpo, fragmento o porción, además de secuencias adicionales tales como la secuencia codificante de al menos un conductor señal o péptido de fusión, con o sin las secuencias codificantes adicionales anteriormente mencionadas tales como al menos un intrón,

junto con secuencias no codificantes adicionales que incluyen, pero no se limitan a, secuencias de 5' y 3' no codificantes tales como las secuencias no traducidas transcritas que desempeñan una función en la transcripción, procesamiento de ARNm, que incluye corte y empalme y señales de poliadenilación (por ejemplo, unión a ribosomas y estabilidad de ARNm); una secuencia codificante adicional que codifica aminoácidos adicionales tales como aquellos que proporcionan funcionalidades adicionales. Por tanto, la secuencia que codifica un anticuerpo puede fusionarse con una secuencia de marcador, tal como una secuencia que codifica un péptido que facilita la purificación del anticuerpo fusionado que comprende un fragmento de anticuerpo o porción.

Polinucleótidos que se hibridan selectivamente con un polinucleótido como se describe en el presente documento

La presente invención proporciona ácidos nucleicos aislados que se hibridan bajo condiciones de hibridación selectiva con un polinucleótido desvelado en el presente documento. Por tanto, los polinucleótidos de esta realización pueden usarse para aislar, detectar y/o cuantificar ácidos nucleicos que comprenden tales polinucleótidos. Por ejemplo, los polinucleótidos de la presente invención pueden usarse para identificar, aislar o amplificar clones de longitud parcial o completa en una biblioteca depositada. En algunas realizaciones, los polinucleótidos son secuencias genómicas o de ADNc aisladas, o de otro modo complementarias a, un ADNc de una biblioteca de ácido nucleico humano o de mamífero.

Preferentemente, la biblioteca de ADNc comprende al menos el 80% de secuencias de longitud completa, preferentemente al menos el 85% o el 90% de secuencias de longitud completa, y más preferentemente al menos el 95% de secuencias de longitud completa. Las bibliotecas de ADNc pueden normalizarse para aumentar la representación de secuencias raras. Condiciones de hibridación de rigurosidad baja o moderada se emplean normalmente, pero no exclusivamente, con secuencias que tienen una identidad de secuencias reducida con respecto a secuencias complementarias. Condiciones de rigurosidad moderada y alta pueden emplearse opcionalmente para secuencias de mayor identidad. Condiciones de baja rigurosidad permiten la hibridación selectiva de secuencias que tienen aproximadamente el 70% de identidad de secuencias y pueden emplearse para identificar secuencias ortólogas o parálogas.

Opcionalmente, los polinucleótidos de la presente invención codificarán al menos una parte de un anticuerpo codificado por los polinucleótidos descritos en el presente documento. Los polinucleótidos de la presente invención engloban secuencias de ácidos nucleicos que pueden emplearse para la hibridación selectiva con un polinucleótido que codifica un anticuerpo de la presente invención. Véase, por ejemplo, Ausubel, arriba; Colligan, arriba.

Construcción de ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención pueden prepararse usando (a) procedimientos recombinantes, (b) técnicas sintéticas, (c) técnicas de purificación, y/o (d) combinaciones de los mismos, como es muy conocido en la técnica.

Los ácidos nucleicos pueden comprender convenientemente secuencias, además de un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, un sitio de múltiple clonación que comprende uno o más sitios de restricción de endonucleasa pueden insertarse en el ácido nucleico para ayudar en el aislamiento del polinucleótido. Por tanto, las secuencias traducibles pueden insertarse para ayudar en el aislamiento del polinucleótido traducido de la presente invención. Por ejemplo, una secuencia de marcador de hexa-histidina proporciona un medio conveniente para purificar las proteínas de la presente invención. El ácido nucleico de la presente invención, excluyendo la secuencia codificante, es opcionalmente un vector, adaptador o ligador para la clonación y/o expresión de un polinucleótido de la presente invención.

Secuencias adicionales pueden añadirse a tales secuencias de clonación y/o expresión para optimizar su función en la clonación y/o expresión, para ayudar en el aislamiento del polinucleótido, o para mejorar la introducción del polinucleótido en una célula. El uso de vectores de clonación, vectores de expresión, adaptadores y ligadores es muy conocido en la técnica. (véase, por ejemplo, Ausubel, arriba; o Sambrook, arriba)

Procedimientos recombinantes para construir ácidos nucleicos

Las composiciones de ácido nucleico aislado de la presente invención, tales como ARN, ADNc, ADN genómico, o cualquier combinación de los mismos, puede obtenerse de fuentes biológicas usando cualquier número de metodologías de clonación conocidas para aquellos expertos en la materia. En algunas realizaciones, sondas de oligonucleótidos que se hibridan selectivamente, bajo condiciones rigurosas, con los polinucleótidos de la presente invención se usan para identificar la secuencia deseada en una biblioteca de ADNc o ADN genómico. El aislamiento de ARN, y la construcción de bibliotecas de ADNc y genómicas, son muy conocidos para aquellos expertos en la materia (véase, por ejemplo, Ausubel, arriba; o Sambrook, arriba)

Selección de ácidos nucleicos y procedimientos de aislamiento

Una biblioteca de ADNc o genómica puede cribarse usando una sonda basada en la secuencia de un polinucleótido de la presente invención, tal como la desvelada en el presente documento. Pueden usarse sondas para hibridarse con secuencias de ADN genómico o ADNc para aislar genes homólogos en los mismos organismos u organismos diferentes. Aquellos expertos en la materia apreciarán que pueden emplearse diversos grados de rigurosidad de hibridación en el ensayo; y tanto la hibridación como el medio de lavado pueden ser rigurosos. A medida que las condiciones para la hibridación se vuelven más rigurosas, debe haber un mayor grado de complementariedad entre la sonda y la diana para que se produzca la formación del dúplex. El grado de rigurosidad puede controlarse por uno o más de temperatura, fuerza iónica, pH y la presencia de un disolvente parcialmente desnaturizante, tal como formamida. Por ejemplo, la rigurosidad de hibridación se varía convenientemente cambiando la polaridad de la disolución del reactivo mediante, por ejemplo, manipulación de la concentración de formamida dentro del intervalo del 0% al 50%. El grado de complementariedad (identidad de secuencias) requerido para la unión detectable variará según la rigurosidad del medio de hibridación y/o lavado. El grado de complementariedad será óptimamente el 100%, o el 70-100%, o cualquier intervalo o valor en su interior. Sin embargo, debe entenderse que variaciones de secuencias menores en las sondas y cebadores pueden compensarse reduciendo la rigurosidad del medio de hibridación y/o de lavado.

Los procedimientos de amplificación de ARN o ADN son muy conocidos en la técnica y pueden usarse según la presente invención sin excesiva experimentación, basándose en la enseñanza y orientación presentada en el presente documento.

Los procedimientos conocidos de amplificación de ADN o ARN incluyen, pero no se limitan a, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y procedimientos de amplificación relacionados (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n° 4.683.195, 4.683.202, 4.800.159, 4.965.188, a Mullis y col.; 4.795.699 y 4.921.794 a Tabor y col.; 5.142.033 a Innis; 5.122.464 a Wilson y col.; 5.091.310 a Innis; 5.066.584 a Gillensten y col.; 4.889.818 a Gelfand y col.; 4.994.370 a Silver y col.; 4.766.067 a Biswas; 4.656.134 a Ringold) y amplificación mediada por ARN que usa ARN antisentido para la secuencia diana como molde para la síntesis de ADN bicatenario (patente de EE.UU. n° 5.130.238 a Malek y col., con la marca registrada NASBA) (véase, por ejemplo, Ausubel, arriba; o Sambrook, arriba).

Por ejemplo, la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) puede usarse para amplificar las secuencias de polinucleótidos de la presente invención y genes relacionados directamente a partir de bibliotecas de ADN genómico o ADNc. La PCR y otros procedimientos de amplificación *in vitro* también puede ser útiles, por ejemplo, para clonar secuencias de ácidos nucleicos que codifican proteínas que van a expresarse, para preparar ácidos nucleicos para usar como sondas para detectar la presencia del ARNm deseado en muestras, para la secuenciación de ácidos nucleicos, o para otros fines. Ejemplos de técnicas suficientes para dirigir a expertos por los procedimientos de amplificación *in vitro* se encuentran en Berger, arriba, Sambrook, arriba, y Ausubel, arriba, además de Mullis y col., patente de EE.UU. n° 4.683.202 (1987); y Innis y col., PCR Protocols A Guide to Methods and Applications, Eds., Academic Press Inc., San Diego, CA (1990). En la técnica se conocen kits comercialmente disponibles para amplificación por PCR genómica. Véase, por ejemplo, kit de PCR Advantage-GC Genomic (Clontech). Adicionalmente, por ejemplo, la proteína del gen 32 T4 (Boehringer Mannheim) puede usarse para mejorar el rendimiento de productos de PCR largos.

Procedimientos sintéticos para construir ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos aislados de la presente invención también pueden prepararse por síntesis química directa mediante procedimientos conocidos (véase, por ejemplo, Ausubel y col., arriba). La síntesis química generalmente produce un oligonucleótido monocatenario, que puede convertirse en ADN bicatenario por hibridación con una secuencia complementaria, o por polimerización con una ADN polimerasa usando la hebra individual como molde. Un experto en la materia reconocerá que, aunque la síntesis química de ADN puede limitarse a secuencias de aproximadamente 100 o más bases, secuencias más largas pueden obtenerse por la ligación de secuencias más cortas.

Casets de expresión recombinantes

La presente invención proporciona además casets de expresión recombinantes que comprenden un ácido nucleico de la presente invención. Una secuencia de ácidos nucleicos de la presente invención, por ejemplo, un ADNc o una secuencia genómica que codifica un anticuerpo de la presente invención, puede usarse para construir un casete de expresión recombinante que puede introducirse en al menos una célula huésped deseada. Un casete de expresión recombinante comprenderá normalmente un polinucleótido de la presente invención operativamente ligado a secuencias reguladoras de la iniciación de la transcripción que dirigirán la transcripción del polinucleótido en la célula huésped prevista. Pueden emplearse promotores tanto heterólogos como no heterólogos (es decir, endógenos) para dirigir la expresión de los ácidos nucleicos de la presente invención.

En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos aislados que sirven de promotor, potenciador, u otros

elementos, pueden introducirse en la posición apropiada (en la dirección 5', en la dirección 3' o en el intrón) de una forma no heteróloga de un polinucleótido de la presente invención de manera que regulen por incremento o por disminución la expresión de un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, promotores endógenos pueden alterarse *in vivo* o *in vitro* por mutación, delección y/o sustitución.

5 Vectores y células huésped

La presente invención también se refiere a vectores que incluyen moléculas de ácido nucleico aisladas de la presente invención, células huésped que son genéticamente manipuladas con los vectores recombinantes, y la producción de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 por técnicas recombinantes, como es muy conocido en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook y col., arriba; Ausubel y col., arriba.

Los polinucleótidos pueden unirse opcionalmente a un vector que contiene un marcador de selección para la propagación en un huésped. Generalmente, un vector de plásmido se introduce en un precipitado, tal como un precipitado de fosfato de calcio, o en un complejo con un lípido cargado. Si el vector es un virus, puede encapsidarse *in vitro* usando una línea celular de encapsidación apropiada y luego transducirse en células huésped.

El inserto de ADN debe ligarse operativamente a un promotor apropiado. Las construcciones de expresión contendrán adicionalmente sitios para la iniciación de la transcripción, terminación y, en la región transcrita, un sitio de unión a ribosoma para la traducción. La porción codificante de los transcritos maduros expresados por las construcciones incluirán preferentemente un codón de iniciación de la traducción al principio y un codón de terminación (por ejemplo, UAA, UGA o UAG) apropiadamente posicionado al final del ARNm que va a traducirse, siendo UAA y UAG preferidos para la expresión de células eucariotas o de mamífero.

Los vectores de expresión incluirán preferentemente, pero opcionalmente, al menos un marcador de selección. Tales marcadores incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a, resistencia a metotrexato (MTX), dihidrofolato reductasa (DHFR, patentes de EE.UU. n° 4.399.216; 4.634.665; 4.656.134; 4.956.288; 5.149.636; 5.179.017, ampicilina, neomicina (G418), ácido micofenólico o glutamina sintetasa (GS, patentes de EE.UU. n° 5.122.464; 5.770.359; 5.827.739) para cultivo celular eucariota, y genes de resistencia a tetraciclina o ampicilina para cultivar en *E. coli* y otras bacterias o procariotas. Medios de cultivos y condiciones apropiada para las células huésped anteriormente descritas se conocen en la técnica. Vectores adecuados serán rápidamente evidentes para el experto. La introducción de una construcción de vector en una célula huésped puede efectuarse por transfección con fosfato de calcio, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección mediada por lípidos catiónicos, electroporación, transducción, infección u otros procedimientos conocidos. Tales procedimientos se describen en la materia, tales como Sambrook, arriba, Capítulos 1-4 y 16-18; Ausubel, arriba, Capítulos 1, 9, 13, 15, 16.

Al menos un anticuerpo de la presente invención puede expresarse en una forma modificada, tal como una proteína de fusión, y puede incluir no sólo señales de secreción, sino también regiones funcionales heterólogas adicionales. Por ejemplo, una región de aminoácidos adicionales, particularmente aminoácidos cargados, puede añadirse al extremo N de un anticuerpo para mejorar la estabilidad y persistencia en la célula huésped, durante la purificación, o durante la posterior manipulación y almacenamiento. Por tanto, los restos de péptido pueden añadirse a un anticuerpo de la presente invención para facilitar la purificación. Tales regiones pueden eliminarse antes de la preparación final de un anticuerpo o al menos un fragmento del mismo. Tales procedimientos se describen en muchos manuales de laboratorio estándar tales como Sambrook, arriba, Capítulos 17,29-17,42 y 18,1-18,74; Ausubel, arriba, Capítulos 16, 17 y 18.

Aquellos expertos habituales en la materia son conocedores de los numerosos sistemas de expresión disponibles para la expresión de un ácido nucleico que codifica una proteína de la presente invención. Alternativamente, los ácidos nucleicos de la presente invención pueden expresarse en una célula huésped por encendido (por manipulación) en una célula huésped que contiene ADN endógeno que codifica un anticuerpo de la presente invención. Tales procedimientos son muy conocidos en la técnica, por ejemplo, como se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.580.734, 5.641.670, 5.733.746 y 5.733.761.

Ilustrativo de cultivos celulares útiles para la producción de los anticuerpos, porciones especificadas o variantes de los mismos son células de mamífero. Los sistemas de células de mamífero frecuentemente estarán en forma de monocapas de células, aunque también pueden usarse suspensiones o biorreactores de células de mamífero. Varias líneas de células huésped adecuadas que pueden expresar proteínas glicosiladas intactas se han desarrollado en la materia, e incluyen las líneas celulares COS-1 (por ejemplo, ATCC CRL 1650), COS-7 (por ejemplo, ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21 (por ejemplo, ATCC CRL-10), CHO (por ejemplo, ATCC CRL 1610) y BSC-1 (por ejemplo, ATCC CRL-26), células Cos-7, células CHO, células hep G2, P3X63Ag8.653, células SP2/0-Ag14.293, células HeLa y similares, que están fácilmente disponibles de, por ejemplo, la Colección americana de cultivos tipo, Manassas, Va (www.atcc.org). Células huésped preferidas incluyen células de origen linfóide, tales como células de mieloma y de linfoma. Células huésped particularmente preferidas son células P3X63Ag8.653 (número de acceso de ATCC CRL-1580) y células SP2/0-Ag14 (número de acceso de ATCC CRL-1851). En una realización particularmente preferida, la célula recombinante es una célula P3X63Ab8.653 o SP2/0-Ag14.

5 Vectores de expresión para estas células pueden incluir una o más de las siguientes secuencias de control de la expresión tal como, pero no se limitan a, un origen de replicación; un promotor (por ejemplo, promotores de SV40 tempranos o tardíos, el promotor del CMV (patentes de EE.UU. n° 5.168.062; 5.385.839), un promotor de HSV tk, un promotor de pgk (fosfoglicerato cinasa), un promotor de EF-1 alfa (patente de EE.UU. n° 5.266.491), al menos un promotor de inmunoglobulina humana; un potenciador, y/o sitios de información del procesamiento tales como sitios de unión a ribosoma, sitios de corte y empalme de ARN, sitios de poliadenilación (por ejemplo, un sitio de adición de poli A del Ag T grande del SV40) y secuencias terminadoras de la transcripción. Véase, por ejemplo, Ausubel y col., arriba; Sambrook y col., arriba. Otras células útiles para la producción de ácidos nucleicos o proteínas de la presente invención son conocidas y/o están disponibles, por ejemplo, del Catálogo de líneas celulares e hibridomas de la Colección americana de cultivos tipo (www.atcc.org), u otras fuentes conocidas o comerciales.

10 Cuando se emplean células huésped eucariotas, las secuencias terminadoras de la poliadenilación o transcripción se incorporan normalmente en el vector. Un ejemplo de una secuencia terminadora es la secuencia de poliadenilación del gen de la hormona de crecimiento bovina. También pueden incluirse secuencias para el corte y empalme preciso del transcrito. Un ejemplo de una secuencia de corte y empalme es el intrón VP1 de SV40 (Sprague y col., J. Virol. 45:773-781 (1983)). Adicionalmente, secuencias de genes para controlar la replicación en la célula huésped pueden incorporarse en el vector, como se conoce en la técnica.

20 Purificación de un anticuerpo

25 Un anticuerpo anti-IL-23p19 puede recuperarse y purificarse a partir de cultivos celulares recombinantes por procedimientos muy conocidos que incluyen, pero no se limitan a, purificación en proteína A, precipitación con sulfato de amonio o etanol, extracción con ácido, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, cromatografía en fosfocelulosa, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de afinidad, cromatografía en hidroxilapatita y cromatografía en lectina. También puede emplearse cromatografía líquida de alta resolución ("HPLC") para la purificación. Véase, por ejemplo, Colligan, Current Protocols in Immunology, o Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, NY, (1997-2001), por ejemplo, Capítulos 1, 4, 6, 8, 9, 10.

30 Los anticuerpos de la presente invención incluyen productos naturalmente purificados, productos de procedimientos de síntesis química y productos producidos por técnicas recombinantes de un huésped eucariota que incluyen, por ejemplo, células de levadura, de plantas superiores, de insecto y de mamífero. Dependiendo del huésped empleado en un procedimiento de producción recombinante, el anticuerpo de la presente invención puede glicosilarse o puede no glicosilarse, prefiriéndose glicosilado. Tales procedimientos se describen en muchos manuales de laboratorio estándar tales como Sambrook, arriba, Secciones 17.37-17.42; Ausubel, arriba, Capítulos 10, 12, 13, 16, 18 y 20, Colligan, Protein Science, arriba, Capítulos 12-14.

35 Anticuerpos anti-IL-23p19

40 Un anticuerpo anti-IL-23p19 según la presente invención incluye cualquier molécula que contiene proteína o péptido que comprende al menos una parte de una molécula de inmunoglobulina tal como, pero no se limita a, al menos una porción de unión a ligando (LBP) tal como, pero no se limita a, una región determinante de la complementariedad (CDR) de una cadena pesada o ligera o una porción de unión a ligando de la misma, una región variable de la cadena pesada o la cadena ligera, una región estructural (por ejemplo, FR1, FR2, FR3, FR4 o fragmento de las mismas, que adicionalmente comprende opcionalmente al menos una sustitución, inserción o delección), una región constante de la cadena pesada o la cadena ligera (por ejemplo, que comprende al menos una CH1, bisagra1, bisagra2, bisagra3, bisagra4, CH2, o CH3 o fragmento de las mismas, que adicionalmente comprenden opcionalmente al menos una sustitución, inserción o delección), o cualquier porción de las mismas, que pueden incorporarse en un anticuerpo de la presente invención. Un anticuerpo de la invención puede incluir o derivarse de cualquier mamífero tal como, pero no se limita a, un ser humano, un ratón, un conejo, una rata, un roedor, un primate, o cualquier combinación de los mismos, y similares.

55 Los anticuerpos aislados de la presente invención comprenden las secuencias de aminoácidos de anticuerpos desveladas en el presente documento codificadas por cualquier polinucleótido adecuado, o cualquier anticuerpo aislado o preparado. Preferentemente, el anticuerpo humano o fragmento de unión a antígeno se une a IL-23p19 humana y así neutraliza parcialmente o sustancialmente al menos una actividad biológica de la proteína. Un anticuerpo, o porción especificada o variante del mismo, que neutraliza parcialmente o preferentemente sustancialmente al menos una actividad biológica de al menos una proteína IL-23 o fragmento puede unirse a la proteína o fragmento y así inhibir actividades mediadas por la unión de IL-23 a uno o más de los receptores de IL-23 o mediante otros mecanismos dependientes o mediados por IL-23. Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo neutralizante" se refiere a un anticuerpo que puede inhibir una actividad dependiente de IL-23 aproximadamente el 20-120%, preferentemente al menos aproximadamente el 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% o más dependiendo del ensayo. La capacidad de un anticuerpo anti-IL-23p19 para inhibir una actividad dependiente de IL-23 se evalúa preferentemente por al menos una proteína IL-23 adecuada o ensayo de receptor, como se describe en el presente documento y/o como se conoce en la técnica. Un anticuerpo humano de la invención puede ser de cualquier clase (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD, etc.) o isotipo y

puede comprender una cadena ligera kappa o lambda. En una realización, el anticuerpo humano comprende una cadena pesada de IgG o fragmento definido, por ejemplo, al menos uno de los isotipos, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 (por ejemplo, $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$ o $\gamma 4$). Anticuerpos de este tipo pueden prepararse empleando un ratón transgénico u otro mamífero no humano transgénico que comprende al menos un transgén de la cadena ligera humana (por ejemplo, IgG, IgA, y IgM) como se describe en el presente documento y/o como se conoce en la técnica. En otra realización, el anticuerpo anti-IL-23p19 humana comprende una cadena pesada de IgG1 y una cadena ligera de IgG1.

Al menos un anticuerpo desvelado en el presente documento se une a al menos un epítoto especificado específico para al menos una proteína IL-23p19, subunidad, fragmento, porción o cualquier combinación de los mismos. El al menos un epítoto puede comprender al menos una región de unión a anticuerpo que comprende al menos una porción de la proteína, epítoto que comprende preferentemente al menos una porción extracelular, soluble, hidrófila, externa o citoplásmica de la proteína. El al menos un epítoto especificado puede comprender cualquier combinación de al menos una secuencia de aminoácidos de al menos 1-3 aminoácidos para la porción entera especificada de aminoácidos contiguos de los residuos de aminoácidos 93-104 y 127-137 de SEC ID N°:1 (que contiene la secuencia señal de 19 aminoácidos inicial para la subunidad de proteína p19) (o residuos de aminoácidos 74-85 y 108-118 de la secuencia p19 sin inclusión de la secuencia señal), por ejemplo, residuos de aminoácidos 93, 93-94, 93-95, 93-96, 97-99, 100-102, 127, 127-128, 128-129, etc. de SEC ID N°:1, etc. que incluyen cualquier porción o combinaciones de estas secuencias.

Generalmente, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la presente invención comprenderá una región de unión a antígeno que comprende al menos una región determinante de la complementariedad (CDR1, CDR2 y CDR3) o variante de al menos una región variable de la cadena pesada y al menos una región determinante de la complementariedad (CDR1, CDR2 y CDR3) o variante de al menos una región variable de la cadena ligera. Opcionalmente, las secuencias de CDR pueden derivarse de secuencias de la línea germinal humana o corresponderse estrechamente con las secuencias de la línea germinal. Por ejemplo, pueden usarse las CDR de una biblioteca sintética derivada de las CDR de ratón originales. Estas CDR pueden formarse por incorporación de sustituciones conservativas de la secuencia de ratón original. Como ejemplo no limitante, el anticuerpo o porción de unión a antígeno o variante puede comprender al menos una de la CDR3 de la cadena pesada, por ejemplo, seleccionada de SEC ID N°: 6, 16, 26 y 36, y/o una CDR3 de la cadena ligera, por ejemplo, seleccionada de SEC ID N°: 11, 21, 31 y 41. En una realización particular, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno puede tener una región de unión a antígeno que comprende al menos una parte de al menos una CDR de la cadena pesada (es decir, CDR1, CDR2 y/o CDR3) (por ejemplo, las desveladas en el presente documento). En otra realización particular, el anticuerpo o porción de unión a antígeno o variante puede tener una región de unión a antígeno que comprende al menos una parte de al menos una CDR de la cadena ligera (es decir, CDR1, CDR2 y/o CDR3) (por ejemplo, las desveladas en el presente documento).

En una realización preferida, las tres CDR de la cadena pesada y las tres CDR de la cadena ligera del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno pueden prepararse uniendo químicamente juntas las diversas porciones (por ejemplo, CDR, región estructural) del anticuerpo usando técnicas convencionales, preparando y expresando una (es decir, una o más) moléculas de ácido nucleico que codifican el anticuerpo usando técnicas convencionales de tecnología de ADN recombinante o usando cualquier otro procedimiento adecuado.

El anticuerpo anti-IL-23p19 puede comprender al menos una de una región variable de la cadena pesada o ligera que tiene una secuencia de aminoácidos definida. Por ejemplo, en una realización preferida, el anticuerpo anti-IL-23p19 comprende al menos una de al menos una región variable de la cadena pesada opcionalmente seleccionada de SEC ID N°: 3, 13, 23 y 33 y/o al menos una región variable de la cadena ligera opcionalmente seleccionada de SEC ID N°: 8, 18, 28 y 38. Anticuerpos que se unen a IL-23p19 humana y que comprenden una región variable de la cadena pesada o ligera definida pueden prepararse usando procedimientos adecuados tales como expresión en fago (Katsube, Y. y col., *Int J Mol. Med*, 1(5):863-868 (1998)) o procedimientos que emplean animales transgénicos, como se conoce en la técnica y/o como se describe en el presente documento. Por ejemplo, un ratón transgénico, que comprende un transgén de la cadena pesada de inmunoglobulina humana funcionalmente reordenado y un transgén que comprende ADN de un locus de la cadena ligera de inmunoglobulina humana, puede someterse a reordenamiento funcional, puede inmunizarse con IL-23 humana o un fragmento de la misma para provocar la producción de anticuerpos. Si se desea, las células productoras de anticuerpo pueden aislarse e hibridomas u otras células productoras de anticuerpo inmortalizadas pueden prepararse como se describe en el presente documento y/o como se conoce en la técnica. Alternativamente, el anticuerpo, porción especificada o variante puede expresarse usando el ácido nucleico codificante o porción del mismo en una célula huésped adecuada.

Códigos de aminoácidos

Los aminoácidos que constituyen los anticuerpos anti-IL-23p19 de la presente invención se abrevian frecuentemente. Las designaciones de aminoácidos pueden indicarse designando el aminoácido por su código de una sola letra, su código de tres letras, nombre o codón (codones) de tres nucleótidos como es muy entendido en la materia (véase Alberts, B. y col., *Molecular Biology of The Cell*, tercera ed., Garland Publishing, Inc., Nueva York,

1994). Un anticuerpo anti-IL-23p19 de la presente invención puede incluir una o más sustituciones de aminoácidos, delecciones o adiciones, tanto de mutaciones naturales como manipulación humana, como se ha especificado en el presente documento. Los aminoácidos en un anticuerpo anti-IL-23p19 de la presente invención que son esenciales para la función pueden identificarse mediante procedimientos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis dirigida a sitio o mutagénesis de cribado con alanina (por ejemplo, Ausubel, arriba, Capítulos 8, 15; Cunningham y Pocillos, Science 244:1081-1085 (1989)). El último procedimiento introduce mutaciones de una sola alanina en cada residuo en la molécula. Entonces, las moléculas mutantes resultantes se prueban para actividad biológica tal como, pero no se limitan a, al menos una actividad neutralizante de IL-23. Sitios que son críticos para la unión a anticuerpo también pueden identificarse por análisis estructural, tal como cristalización, resonancia magnética nuclear o marcado por fotoafinidad (Smith y col., J. Mol. Biol. 224:899-904 (1992) y de Vos y col., Science 255:306-312 (1992)).

Los anticuerpos anti-IL-23p19 de la presente invención pueden incluir, pero no se limitan a, al menos una porción, secuencia o combinación seleccionada de 5 a todos los aminoácidos contiguos de las secuencias de la región variable de SEC ID N°: 8, 18, 28 y 38 y SEC ID N°: 3, 13, 23 y 33.

Variantes no limitantes que pueden potenciar o mantener al menos una de las actividades enumeradas incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los polipéptidos anteriores, que comprende además al menos una mutación correspondiente a al menos una sustitución en los residuos variados entre las secuencias de aminoácidos de variante desveladas.

Un anticuerpo anti-IL-23p19 puede comprender adicionalmente opcionalmente un polipéptido con una secuencia de aminoácidos que varía de la secuencia de SEC ID N°: 3-6, 8-11, 13-16, 18-21, 23-26, 28-31, 33-36 y 38-41 (por ejemplo, una o más sustituciones conservativas de las secuencias proporcionadas en el presente documento). Por tanto, la presente invención comprende variantes de la secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena ligera de SEC ID N°: 8, 18, 28 y 38 o la secuencia de aminoácidos de una región variable de la cadena pesada de SEC ID N°: 3, 13, 23 y 33.

Como apreciarán aquellos expertos, la presente invención incluye al menos un anticuerpo biológicamente activo de la presente invención. Anticuerpos biológicamente activos tienen una actividad específica de al menos el 20%, 30%, o el 40%, y, preferentemente al menos el 50%, 60% o el 70%, y, lo más preferentemente al menos el 80%, 90% o el 95%-1000% o más de la del anticuerpo nativo (no sintético), endógeno o relacionado y conocido. Procedimientos de ensayo y cuantificación de medidas de actividad enzimática y especificidad por sustrato son muy conocidos para aquellos expertos en la materia.

En otro aspecto, la invención se refiere a anticuerpos humanos y fragmentos de unión a antígeno, como se describe en el presente documento, que se modifican por la unión covalente de un resto orgánico. Tal modificación puede producir un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno con propiedades farmacocinéticas mejoradas (por ejemplo, semivida en suero *in vivo* elevada). El resto orgánico puede ser un grupo polimérico hidrófilo lineal o ramificado, grupo de ácido graso, o grupo éster de ácido graso. En realizaciones particulares, el grupo polimérico hidrófilo puede tener un peso molecular de aproximadamente 800 a aproximadamente 120.000 Dalton y puede ser un polialcanoglicol (por ejemplo, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol (PPG)), polímero de hidrato de carbono, polímero de aminoácido o polivinilpirrolidona, y el ácido graso o grupo éster de ácido graso puede comprender de aproximadamente ocho a aproximadamente cuarenta átomos de carbono.

Los anticuerpos modificados y fragmentos de unión a antígeno de la invención pueden comprender uno o más restos orgánicos que están covalentemente unidos, directamente o indirectamente, al anticuerpo. Cada resto orgánico que está unido a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la invención puede ser independientemente un grupo polimérico hidrófilo, un grupo ácido graso o un grupo éster de ácido graso. Como se usa en el presente documento, el término "ácido graso" engloba ácidos monocarboxílicos y ácidos dicarboxílicos. Un "grupo polimérico hidrófilo", como el término se usa en el presente documento, se refiere a un polímero orgánico que es más soluble en agua que en octano. Por ejemplo, la polilisina es más soluble en agua que en octano. Por tanto, un anticuerpo modificado por la unión covalente de polilisina está englobado por la invención. Polímeros hidrófilos adecuados para modificar anticuerpos de la invención pueden ser lineales o ramificados e incluyen, por ejemplo, polialcanoglicoles (por ejemplo, PEG, monometoxi-polietilenglicol (mPEG), PPG y similares), hidratos de carbono (por ejemplo, dextrano, celulosa, oligosacáridos, polisacáridos y similares), polímeros de aminoácidos hidrófilos (por ejemplo, polilisina, poliariginina, poliaspartato y similares), poli(óxidos de alcano) (por ejemplo, poli(óxido de etileno), poli(óxido de propileno) y similares) y polivinilpirrolidona. Preferentemente, el polímero hidrófilo que modifica el anticuerpo de la invención tiene un peso molecular de aproximadamente 800 a aproximadamente 150.000 Dalton como entidad molecular separada. Por ejemplo, puede usarse PEG₅₀₀₀ y PEG_{20.000}, en el que el subíndice es el peso molecular promedio del polímero en Dalton. El grupo polimérico hidrófilo puede estar sustituido con uno a aproximadamente seis grupos alquilo, ácido graso o éster de ácido graso. Polímeros hidrófilos que están sustituidos con un grupo ácido graso o éster de ácido graso pueden prepararse empleando procedimientos adecuados. Por ejemplo, un polímero que comprende un grupo amina puede acoplarse a un carboxilato del ácido graso o éster de ácido graso, y un carboxilato activado (por ejemplo, activado con N, N-carbonildiimidazol) sobre un ácido graso o

éster de ácido graso puede acoplarse a un grupo hidroxilo sobre un polímero.

Ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos adecuados para modificar anticuerpos de la invención pueden estar saturados o pueden contener una o más unidades de insaturación. Ácidos grasos que son adecuados para modificar anticuerpos de la invención incluyen, por ejemplo, n-dodecanoato (C₁₂, laurato), n-tetradecanoato (C₁₄, miristato), n-octadecanoato (C₁₈, estearato), n-eicosanoato (C₂₀, araquidato), n-docosanoato (C₂₂, behenato), n-triacontanoato (C₃₀), n-tetracontanoato (C₄₀), *cis*-Δ⁹-octadecanoato (C₁₈, oleato), todos los *cis*-Δ^{5,8,11,14}-eicosatetraenoato (C₂₀, araquidonato), ácido octanodioico, ácido tetradecanodioico, ácido octadecanodioico, ácido docosanodioico y similares. Ésteres de ácidos grasos adecuados incluyen monoésteres de ácidos dicarboxílicos que comprenden un grupo alquilo inferior lineal o ramificado. El grupo alquilo inferior puede comprender de uno a aproximadamente doce, preferentemente uno a aproximadamente seis, átomos de carbono.

Los anticuerpos humanos modificados y fragmentos de unión a antígeno pueden prepararse usando procedimientos adecuados, tales como mediante reacción con uno o más agentes de modificación. Un "agente de modificación", como el término se usa en el presente documento, se refiere a un grupo orgánico adecuado (por ejemplo, polímero hidrófilo, un ácido graso, un éster de ácido graso) que comprende un grupo activante. Un "grupo activante" es un resto químico o grupo funcional que puede reaccionar, bajo condiciones apropiadas, con un segundo grupo químico, formando así un enlace covalente entre el agente de modificación y el segundo grupo químico. Por ejemplo, grupos activantes reactivos con amina incluyen grupos electrófilos tales como tosilato, mesilato, halo (cloro, bromo, flúor, yodo), ésteres de N-hidroxisuccinimidilo (NHS) y similares. Grupos activantes que pueden reaccionar con tioles incluyen, por ejemplo, maleimida, yodoacetilo, acrilolilo, disulfuros de piridilo, ácido 5-tiol-2-nitrobenzoico-tiol (TNB-tiol), y similares. Un grupo funcional aldehído puede acoplarse a moléculas que contienen amina o hidrazida, y un grupo azida puede reaccionar con un grupo fosforoso trivalente para formar enlaces fosforamido o fosforimida. Procedimientos adecuados para introducir grupos activantes en moléculas se conocen en la técnica (véase, por ejemplo, Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996)). Un grupo activante puede unirse directamente al grupo orgánico (por ejemplo, polímero hidrófilo, ácido graso, éster de ácido graso), o mediante un resto de ligador, por ejemplo, un grupo C₁-C₁₂ divalente en el que uno o más átomos de carbono pueden sustituirse con un heteroátomo tal como oxígeno, nitrógeno o azufre. Restos de ligador adecuados incluyen, por ejemplo, tetraetilenglicol, -(CH₂)₃-, -NH-(CH₂)₆-NH-, (CH₂)₂-NH- y -CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH-NH-. Agentes de modificación que comprenden un resto de ligador pueden producirse, por ejemplo, haciendo reaccionar una mono-Boc-alquildiamina (por ejemplo, mono-Boc-etilendiamina, mono-Boc-diaminohexano) con un ácido graso en presencia de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) para formar un enlace amida entre la amina libre y el carboxilato de ácido graso. El grupo protector de Boc puede eliminarse del producto mediante tratamiento con ácido trifluoroacético (TFA) para exponer una amina primaria que puede acoplarse a otro carboxilato, como se describe, o puede hacerse reaccionar con anhídrido maleico y el producto resultante ciclarse para producir un derivado de maleimido activado del ácido graso (véase, por ejemplo, Thompson y col., documento WO 92/16221).

Los anticuerpos modificados de la invención pueden producirse haciendo reaccionar un anticuerpo humano o fragmento de unión a antígeno con un agente de modificación. Por ejemplo, los restos orgánicos pueden unirse al anticuerpo en un modo no específico para sitio empleando un agente de modificación reactivo con amina, por ejemplo, un éster de NHS de PEG. También pueden prepararse anticuerpos humanos modificados o fragmentos de unión a antígeno reduciendo enlaces disulfuro (por ejemplo, enlaces disulfuro entre cadenas) de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. El anticuerpo reducido o fragmento de unión a antígeno puede entonces hacerse reaccionar con un agente de modificación reactivo con tiol para producir el anticuerpo modificado de la invención. Anticuerpos humanos modificados y fragmentos de unión a antígeno que comprenden un resto orgánico que está unido a sitios específicos de un anticuerpo de la presente invención pueden prepararse usando procedimientos adecuados, tales como proteólisis inversa (Fisch y col., *Bioconjugate Chem.*, 3:147-153 (1992); Werlen y col., *Bioconjugate Chem.*, 5:411-417 (1994); Kumaran y col., *Protein Sci.* 6(10):2233-2241 (1997); Itoh y col., *Bioorg. Chem.*, 24(1): 59-68 (1996); Capellas y col., *Biotechnol. Bioeng.*, 56(4):456-463 (1997)), y los procedimientos descritos en Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, Academic Press: San Diego, CA (1996).

Composiciones de anticuerpo que comprenden adicionalmente principios terapéuticamente activos

Las composiciones de anticuerpo de la invención pueden comprender opcionalmente además una cantidad eficaz de al menos un compuesto o proteína seleccionada de al menos uno de un fármaco antiinfeccioso, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (CNS), un fármaco para el sistema nervioso autónomo (SNA), un fármaco para las vías respiratorias, un fármaco para el tubo gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el equilibrio en fluidos o electrolitos, un fármaco hematológico, un antineoplásico, un fármaco para inmunomodulación, un fármaco oftálmico,ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutricional o similares. Tales fármacos son muy conocidos en la técnica, que incluyen formulaciones, indicaciones, dosificación y administración para cada uno presentado en el presente documento (véase, por ejemplo, *Nursing 2001 Handbook of Drugs*, 21ª edición, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; *Health Professional's Drug Guide 2001*, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ; *Pharmacotherapy Handbook*, Wells y col., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT).

El fármaco de inmunomodulación puede ser al menos uno seleccionado de inmunosupresores, vacunas o por lo menos un toxoide, antitoxina o al menos una antivenina, suero inmune, y modificador de la respuesta biológica.

El al menos un corticosteroide puede ser al menos uno seleccionado de betametasona, acetato de betametasona o fosfato sódico de betametasona, fosfato sódico de betametasona, acetato de cortisona, dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, acetato de fludrocortisona, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato sódico de hidrocortisona, metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, succinato sódico de metilprednisolona, prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, tebutato de prednisolona, prednisona, triamcinolona, acetónido de triamcinolona y diacetato de triamcinolona.

El al menos un inmunodepresor puede ser al menos uno seleccionado de azatioprina, basiliximab, ciclosporina, daclizumab, inmunoglobulina de linfocitos, muromonab-CD3, micofenolato mofetilo, clorhidrato de micofenolato mofetilo, sirolimus y tacrolimus. El al menos un corticosteroide tópico puede ser al menos uno seleccionado de dipropionato de betametasona, valerato de betametasona, propionato de clobetasol, desonida, desoximetasona, dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, diacetato de diflorasona, acetónido de fluocinolona, fluocinonida, flurandrenolida, propionato de fluticasona, halcionida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, furoato de mometasona y acetónido de triamcinolona (véase, por ejemplo, pág. 1098-1136 de Nursing 2001 Drug Handbook.)

Las composiciones de anticuerpo anti-IL-23p19 de la presente invención pueden comprender además al menos uno de cualquier cantidad adecuada y eficaz de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 adecuado para poner en contacto o administrar a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia, que opcionalmente comprende además al menos uno seleccionado de al menos un antagonista de TNF (por ejemplo, pero no se limita a, un producto químico de TNF o antagonista de proteína, anticuerpo monoclonal o policlonal para TNF o fragmento, un receptor de TNF soluble (por ejemplo, p55, p70 o p85) o fragmento, polipéptidos de fusión de los mismos, o un antagonista de TNF de molécula pequeña, por ejemplo, proteína I o II de unión a TNF (TBP-1 o TBP-II), nerelimonmab, infliximab, etanercept, CDP-571, CDP-870, afelimomab, lenercept, y similares), un antirreumático (por ejemplo, metotrexato, auranofina, aurotioglucosa, azatioprina, etanercept, tiomalato de oro y sodio, sulfato de hidroxycloquinina, leflunomida, sulfasalazina), un relajante muscular, un narcótico, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueante neuromuscular, un antimicrobiano (por ejemplo, aminoglucósido, un antifúngico, un antiparasítico, un antivirico, un carbapenem, cefalosporina, una fluoroquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina, otro antimicrobiano), un antipsoriásico, un corticosteroide, un esteroide anabólico, un agente relacionado con la diabetes, un mineral, un nutritivo, un agente tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con el calcio, un antiidiarréico, un antitúxico, un antiemético, un antiulceroso, un laxante, un anticoagulante, una eritropoyetina (por ejemplo, epoetina alfa), un filgrastim (por ejemplo, G-CSF, Neupogen), un sargramostim (GM-CSF, Leukine), una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (por ejemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una hormona de crecimiento, un fármaco de reemplazo hormonal, un modulador de receptores estrogénicos, un midriático, un cicloplégico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, agente antimaniaco, un antipsicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpatomimético, un estimulante, donepezilo, tacrina, una medicación para el asma, un beta-agonista, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una metilxantina, una cromolina, una epinefrina o análogo, dornasa alfa (Pulmozyme), una citocina o un antagonista de citocina. Ejemplos no limitantes de tales citocinas incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de IL-1 a IL-28 (por ejemplo, IL-1, IL-2, etc.). Dosificaciones adecuadas son muy conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Wells y col., eds., Pharmacotherapy Handbook, 2ª edición, Appleton y Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, edición Deluxe, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000).

Los compuestos, composiciones o combinaciones de anticuerpos anti-IL-23p19 de la presente invención pueden comprender además al menos uno de cualquier auxiliar adecuado tal como, pero no se limitan a, diluyente, aglutinante, estabilizador, tampones, sales, disolventes lipófilos, conservante, adyuvante o similares. Se prefieren auxiliares farmacéuticamente aceptables. Ejemplos no limitantes de, y procedimientos de preparación de tales disoluciones estériles, son muy conocidos en la técnica tales como, pero se limitan a, Gennaro, Ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, Mack Publishing Co. (Easton, PA) 1990. Pueden seleccionarse rutinariamente vehículos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para el modo de administración, solubilidad y/o estabilidad del anticuerpo anti-IL-23p19, fragmento o composición de variante como es muy conocido en la técnica o como se describe en el presente documento.

Excipientes y aditivos farmacéuticos útiles en la presente composición incluyen, pero no se limitan a, proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos e hidratos de carbono (por ejemplo, azúcares, que incluyen monosacáridos, di-, tri-, tetra- y oligosacáridos; azúcares derivatizados tales como alditoles, ácidos aldónicos, azúcares esterificados y similares; y polisacáridos o polímeros de azúcar), que pueden estar presentes individualmente o en combinación, que comprenden solos o en combinación el 1-99,99% en peso o volumen.

Excipientes de proteína a modo de ejemplo incluyen albúmina de suero tal como albúmina de suero humano (HSA), albúmina humana recombinante (rHA), gelatina, caseína y similares. Componentes de aminoácido/anticuerpo representativos que también pueden funcionar en una capacidad de tamponamiento incluyen alanina, glicina, arginina, betaína, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, cisteína, lisina, leucina, isoleucina, valina, metionina, fenilalanina, aspartamo y similares. Un aminoácido preferido es glicina.

Excipientes de hidrato de carbono adecuados para su uso en la invención incluyen, por ejemplo, monosacáridos tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa, sorbosa y similares; disacáridos tales como lactosa, sacarosa, trehalosa, celobiosa y similares; polisacáridos tales como rafinosa, melezitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones y similares; y alditos tales como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol, sorbitol (glucitol), mioinositol y similares. Excipientes de hidrato de carbono preferidos para su uso en la presente invención son manitol, trehalosa y rafinosa.

Las composiciones de anticuerpo anti-IL-23p19 también pueden incluir un tampón o un agente de ajuste del pH; normalmente, el tampón es una sal preparada a partir de un ácido o base orgánico. Tampones representativos incluyen sales de ácido orgánico tales como sales de ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido glucónico, ácido carbónico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético o ácido ftálico; tampones Tris, clorhidrato de trometamina o fosfato. Tampones preferidos para su uso en las presentes composiciones son sales de ácido orgánico tales como citrato.

Adicionalmente, las composiciones de anticuerpo anti-IL-23p19 de la invención pueden incluir excipientes/aditivos poliméricos tales como polivinilpirrolidonas, Ficoll (un azúcar polimérico), dextratos (por ejemplo, ciclodextrinas tales como 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina), polietilenglicoles, aromatizantes, agentes antimicrobianos, edulcorantes, antioxidantes, agentes antiestáticos, tensioactivos (por ejemplo, polisorbatos tales como "TWEEN 20" y "TWEEN 80"), lípidos (por ejemplo, fosfolípidos, ácidos grasos), esteroides (por ejemplo, colesterol) y agentes quelantes (por ejemplo, EDTA).

Estos excipientes y/o aditivos farmacéuticos conocidos y adicionales adecuados para su uso en las composiciones de anticuerpo anti-IL-23p19, porción o variante según la invención se conocen en la técnica, por ejemplo, como se enumeran en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19ª ed., Williams & Williams, (1995), y en "Physician's Desk Reference", 52ª ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), cuyas divulgaciones se incorporan en su totalidad en el presente documento por referencia. Materiales de vehículo o excipiente preferidos son hidratos de carbono (por ejemplo, sacáridos y alditos) y tampones (por ejemplo, citrato) o agentes poliméricos. Una molécula de vehículo a modo de ejemplo es el mucopolisacárido, ácido hialurónico, que puede ser útil para administración intraarticular.

Formulaciones

Como se ha observado anteriormente, la invención proporciona formulaciones estables que preferentemente comprenden un tampón fosfato con solución salina o una sal elegida, además de disoluciones y formulaciones conservadas que contienen un conservante, además de formulaciones conservadas de múltiples usos adecuadas para uso farmacéutico o veterinario, que comprenden al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 en una formulación farmacéuticamente aceptable. Formulaciones conservadas contienen al menos un conservante conocido u opcionalmente seleccionado del grupo que consiste en al menos un fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico, nitrito fenilmercúrico, fenoxietanol, formaldehído, clorobutanol, cloruro de magnesio (por ejemplo, hexahidratado), alquilparabeno (metilo, etilo, propilo, butilo y similares), cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, dehidroacetato de sodio y timerosal, polímeros, o mezclas de los mismos en un diluyente acuoso. Cualquier concentración adecuada o mezcla puede usarse como se conoce en la técnica, tal como aproximadamente 0,0015%, o cualquier intervalo, valor o fracción en su interior. Ejemplos no limitantes incluyen ningún conservante, aproximadamente 0,1-2% de m-cresol (por ejemplo, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,9, 1,0%), aproximadamente 0,1-3% de alcohol bencílico (por ejemplo, 0,5, 0,9, 1,1, 1,5, 1,9, 2,0, 2,5%), aproximadamente 0,001-0,5% de timerosal (por ejemplo, 0,005, 0,01), aproximadamente 0,001-2,0% de fenol (por ejemplo, 0,05, 0,25, 0,28, 0,5, 0,9, 1,0%), 0,0005-1,0% de alquilparabeno(s) (por ejemplo, 0,00075, 0,0009, 0,001, 0,002, 0,005, 0,0075, 0,009, 0,01, 0,02, 0,05, 0,075, 0,09, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,75, 0,9, 1,0%), y similares.

Como se ha observado anteriormente, la invención proporciona un artículo de fabricación que comprende material de envasado y al menos un vial que comprende una disolución de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 con los tampones y/o conservantes prescritos, opcionalmente en un diluyente acuoso, en el que dicho material de envasado comprende una etiqueta que indica que tal disolución puede mantenerse durante un periodo de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 20, 24, 30, 36, 40, 48, 54, 60, 66, 72 horas o más. La invención comprende además un artículo de fabricación, que comprende material de envasado, un primer vial que comprende liofilizado al menos un anticuerpo anti-IL-23p19, y un segundo vial que comprende un diluyente acuoso de tampón o conservante prescrito, en el que dicho material de envasado comprende una etiqueta que instruye a un paciente para reconstituir el al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 en el diluyente acuoso para formar una disolución que puede mantenerse durante un periodo de veinticuatro horas o más.

El al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 usado según la presente invención puede producirse por medios recombinantes que incluyen preparaciones de células de mamífero o transgénicas, o pueden purificarse a partir de otras fuentes biológicas, como se describen en el presente documento o como se conocen en la técnica.

El intervalo de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 en el producto de la presente invención incluye cantidades que dan tras la reconstitución, si es un sistema húmedo/seco, concentraciones de aproximadamente 1,0 µg/ml a aproximadamente 1000 mg/ml, aunque concentraciones menores o mayores son operables y dependen del vehículo de administración previsto, por ejemplo, las formulaciones de disolución se diferenciarán de parche transdérmico, procedimientos pulmonares, transmucosos, o de bombas osmóticas o microbombas.

Preferentemente, el diluyente acuoso comprende opcionalmente además un conservante farmacéuticamente aceptable. Conservantes preferidos incluyen aquellos seleccionados del grupo que consiste en fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico, alquilparabeno (metilo, etilo, propilo, butilo y similares), cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, dehidroacetato de sodio y timerosal, o mezclas de los mismos. La concentración de conservante usada en la formulación es una concentración suficiente para dar un efecto antimicrobiano. Tales concentraciones dependen del conservante seleccionado y son fácilmente determinadas por el experto.

Otros excipientes, por ejemplo, agentes de isotonicidad, tampones, antioxidantes y potenciadores conservantes puede añadirse opcionalmente y preferentemente al diluyente. Un agente de isotonicidad, tal como glicerina, se usa comúnmente a concentraciones conocidas. Un tampón fisiológicamente tolerado se añade preferentemente para proporcionar control de pH mejorado. Las formulaciones pueden cubrir un amplio intervalo de pH, tal como de aproximadamente pH 4 a aproximadamente pH 10, e intervalos preferidos de aproximadamente pH 5 a aproximadamente pH 9, y un intervalo más preferido de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,0. Preferentemente, las formulaciones de la presente invención tienen un pH entre aproximadamente 6,8 y aproximadamente 7,8. Tampones preferidos incluyen tampones fosfato, lo más preferentemente fosfato sódico, particularmente solución salina tamponada con fosfato (PBS).

Otros aditivos, tales como un solubilizante farmacéuticamente aceptable como Tween 20 (polioxietileno (20)-monolaurato de sorbitano), Tween 40 (polioxietileno (20)-monopalmitato de sorbitano), Tween 80 (polioxietileno (20)-monooleato de sorbitano), Pluronic F68 (copolímeros de bloques de polioxietileno-polioxipropileno) y PEG (polietilenglicol) o tensioactivos no iónicos, tales como polisorbato 20 ó 80 o poloxámero 184 ó 188, polioles de Pluronic®, otros co-polímeros de bloques y quelantes tales como EDTA y EGTA, pueden añadirse opcionalmente a las formulaciones o composiciones para reducir la agregación. Estos aditivos son particularmente útiles si una bomba o recipiente de plástico se usa para administrar la formulación. La presencia de tensioactivo farmacéuticamente aceptable mitiga la propensión a que la proteína se agregue.

Las formulaciones de la presente invención pueden prepararse mediante un procedimiento que comprende mezclar al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 y un conservante seleccionado del grupo que consiste en fenol, m-cresol, p-cresol, o-cresol, clorocresol, alcohol bencílico, alquilparabeno (metilo, etilo, propilo, butilo y similares), cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, dehidroacetato de sodio y timerosal, o mezclas de los mismos, en un diluyente acuoso. La mezcla de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 y conservante en un diluyente acuoso se lleva a cabo usando procedimientos de disolución y mezcla convencionales. Para preparar una formulación adecuada, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 en disolución tamponada se combina con el conservante deseado en una disolución tamponada en cantidades suficientes para proporcionar la proteína y conservante a las concentraciones deseadas. Variaciones de este procedimiento serían reconocidas por un experto en la materia. Por ejemplo, el orden en el que se añaden los componentes, si se usan aditivos adicionales, la temperatura y el pH al que la formulación se prepara son todos factores que pueden optimizarse para la concentración y medios de administración usados.

Las formulaciones reivindicadas pueden proporcionarse a pacientes como disoluciones transparentes o como viales duales que comprenden un vial de liofilizado al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 que se reconstituye con un segundo vial que contiene agua, un conservante y/o excipientes, preferentemente un tampón fosfato y/o solución salina y una sal elegida, en un diluyente acuoso. Tanto un vial de una única disolución como un vial dual que requiere reconstitución puede reutilizarse múltiples veces y puede ser suficiente para un único ciclo o múltiples ciclos de tratamiento del paciente y, por tanto, pueden proporcionar una pauta de tratamiento más conveniente que la actualmente disponible.

Los presentes artículos de fabricación reivindicados son útiles para el administración durante un periodo que oscila de inmediato a veinticuatro horas o más. Por consiguiente, los artículos de fabricación presentemente reivindicados ofrecen ventajas significativas al paciente. Las formulaciones de la invención pueden almacenarse con seguridad opcionalmente a temperaturas de aproximadamente 2°C a aproximadamente 40°C y retienen la actividad biológica de la proteína durante periodos prolongados de tiempo, permitiendo así que una etiqueta del envase indique que la disolución puede mantenerse y/o usarse durante un periodo de 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 ó 96 horas o más. Si se usa diluyente conservado, tal etiqueta puede incluir uso hasta 1-12 meses, medio año, un año y medio

y/o dos años.

Las disoluciones de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 de la invención pueden prepararse mediante un procedimiento que comprende mezclar al menos un anticuerpo en un diluyente acuoso. La mezcla se lleva a cabo usando procedimientos de disolución y mezcla convencionales. Para preparar un diluyente adecuado, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un anticuerpo en agua o tampón se combina en cantidades suficientes para proporcionar la proteína y, opcionalmente, un conservante o tampón a las concentraciones deseadas. Variaciones de este procedimiento serían reconocidas por un experto en la materia. Por ejemplo, el orden en el que los componentes se añaden, si se usan aditivos adicionales, la temperatura y pH al que la formulación se prepara, son todos factores que pueden optimizarse para la concentración y medios de administración usados.

Los productos reivindicados pueden proporcionarse a pacientes como disoluciones transparentes o como viales duales que comprenden un vial de liofilizado al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 que se reconstituye con un segundo vial que contiene el diluyente acuoso. Tanto un vial de una única disolución como un vial dual que requiere reconstitución pueden reutilizarse múltiples veces, y puede ser suficiente para un único ciclo o incluso de mayor tratamiento del paciente y, por tanto, proporciona una pauta de tratamiento más conveniente que la actualmente disponible.

Los productos reivindicados pueden proporcionarse indirectamente a pacientes proporcionándose a farmacias, clínicas u otras instituciones y centros tales, comprendiendo las disoluciones transparentes o viales duales un vial de liofilizado al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 que se reconstituye con un segundo vial que contiene el diluyente acuoso. La disolución transparente en este caso puede ser hasta un litro o incluso de mayor tamaño, proporcionando un recipiente más grande del que porciones más pequeñas de la menos una disolución de anticuerpo pueden recuperarse una o múltiples veces para la transferencia a viales más pequeños y proporcionarse por la farmacia o clínica a sus clientes y/o pacientes.

Dispositivos reconocidos que comprenden sistemas de un único vial incluyen dispositivos de inyector de pluma para la administración de una disolución tal como plumas BD, BD Autojector®, Humaject®, NovoPen®, B-D®Pen, AutoPen® y OptiPen®, GenotropinPen®, Genotronorm Pen®, Humatro Pen®, Reco-Pen®, Roferon Pen®, Biojector®, Iject®, J-tip Needle-Free Injector®, Intraject®, Medi-Ject®, por ejemplo, como se preparan o desarrollan por Becton Dickinson (Franklin Lakes, NJ, www.bectondickinson.com), Disetronic (Burgdorf, Suiza, www.disetronic.com), Bioject, Portland, Oregon (www.bioject.com); National Medical Products, Weston Medical (Peterborough, UK, www.weston-medical.com), Medi-Ject Corp (Mineápolis, MN, www.mediject.com), y dispositivos adecuados similares. Dispositivos reconocidos que comprenden un sistema de vial dual incluyen aquellos sistemas de inyector de pluma para la reconstitución de un fármaco liofilizado en un cartucho para la administración de la disolución reconstituída, tal como HumatroPen®. Ejemplos de otros dispositivos adecuados incluyen jeringuillas precargadas, autoinyectores, inyectores sin aguja y conjuntos para infusión IV sin aguja.

Los productos presentemente reivindicados incluyen material de envase. El material de envase proporciona, además de la información requerida por las agencias reguladoras, las condiciones bajo las cuales puede usarse el producto. El material de envase de la presente invención proporciona instrucciones al paciente para reconstituir el al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 en el diluyente acuoso para formar una disolución y para usar la disolución durante un periodo de 2-24 horas o más para el producto húmedo/eco de dos viales. Para el producto de disolución en un único vial, la etiqueta indica que tal disolución puede usarse durante un periodo de 2-24 horas o más. Los productos presentemente reivindicados son útiles para uso de producto farmacéutico humano.

Las formulaciones de la presente invención pueden prepararse mediante un procedimiento que comprende mezclar al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 y un tampón seleccionado, preferentemente un tampón fosfato que contiene solución salina o una sal elegida. La mezcla del al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 y tampón en un diluyente acuoso se lleva a cabo usando procedimientos de disolución y mezcla convencionales. Para preparar una formulación adecuada, por ejemplo, una cantidad medida de al menos un anticuerpo en agua o tampón se combina con el agente de tamponamiento deseado en agua en cantidades suficientes para proporcionar la proteína y tampón a las concentraciones deseadas. Las variaciones de este procedimiento serían reconocidas por un experto en la materia. Por ejemplo, el orden en el que los componentes se añaden, si se usan aditivos adicionales, la temperatura y pH al que la formulación se prepara, son todos factores que pueden optimizarse para la concentración y medios de administración usados.

Las formulaciones estables o conservadas reivindicadas pueden proporcionarse a pacientes como disoluciones transparentes o como viales duales que comprenden un vial de liofilizado de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 que se reconstituye con un segundo vial que contiene un conservante o tampón y excipientes en un diluyente acuoso. Tanto un vial de una única disolución como un vial dual que requiere reconstitución pueden reutilizarse múltiples veces y puede ser suficiente para un único ciclo o múltiples ciclos de tratamiento del paciente y, por tanto, proporciona una pauta de tratamiento más conveniente que la actualmente disponible.

Otras formulaciones o procedimientos de estabilización del anticuerpo anti-IL-23p19 pueden resultar en

otras distintas de una disolución transparente de polvo liofilizado que comprende el anticuerpo. Entre la disolución no transparente están formulaciones que comprenden suspensiones particuladas, siendo dichas partículas una composición que contiene el anticuerpo anti-IL-23p19 en una estructura de dimensión variable y conocida de diversas formas como una microesfera, micropartícula, nanopartícula, nanoesfera o liposoma. Tales formulaciones particuladas relativamente homogéneas, esencialmente esféricas, que contienen un agente activo pueden formarse poniendo en contacto una fase acuosa que contiene el agente activo y un polímero y un fase no acuosa, seguido de la evaporación de la fase no acuosa para producir la coalescencia de partículas de la fase acuosa como se enseña en el documento U.S. 4.589.330. Pueden prepararse micropartículas porosas usando una primera fase que contiene agente activo y un polímero disperso en un disolvente continuo y eliminando dicho disolvente de la suspensión por liofilización o dilución-extracción-precipitación como se enseña en el documento U.S. 4.818.542. Polímeros preferidos para tales preparaciones son copolímeros o polímeros naturales o sintéticos seleccionados del grupo que consiste en gelatina, agar, almidón, arabinogalactano, albúmina, colágeno, ácido poliglicólico, ácido poliláctico, glicolida-L(-)lactida poli(épsilon-caprolactona), poli(épsilon-caprolactona-CO-ácido láctico), poli(épsilon-caprolactona-CO-ácido glicólico), poli(ácido β -hidroxibutírico), poli(óxido de etileno), polietileno, poli(2-cianoacrilato de alquilo), poli(hidroximetacrilato de etilo), poliamidas, poli(aminoácidos), poli(DL-aspartamida de 2-hidroxietilo), poli(éster urea), poli(L-fenilalanina/etilenglicol/1,6-diisocianatoheptano) y poli(metacrilato de metilo). Polímeros particularmente preferidos son poliésteres tales como ácido poliglicólico, ácido poliláctico, glicolida-L(-)lactida poli(épsilon-caprolactona), poli(épsilon-caprolactona-CO-ácido láctico) y poli(épsilon-caprolactona-CO-ácido glicólico). Disolventes útiles para disolver el polímero y/o el activo incluyen: agua, hexafluoroisopropanol, cloruro de metileno, tetrahidrofurano, hexano, benceno o hexafluoroacetona sesquihidratada. El procedimiento de dispersar la fase que contiene el activo con una segunda fase puede incluir forzar a presión dicha primera fase a través de un orificio en una boquilla para afectar la formación de gotitas.

Las formulaciones en polvo seco pueden resultar de procedimientos distintos de liofilización, tales como por secado por pulverización o extracción con disolvente mediante evaporación o mediante precipitación de una composición cristalina, seguido de una o más etapas para eliminar disolvente acuoso o no acuoso. La preparación de una preparación de anticuerpo secado por pulverización se enseña en el documento U.S. 6.019.968. Las composiciones en polvo seco basadas en anticuerpo pueden producirse secando por pulverización disoluciones o suspensiones del anticuerpo y, opcionalmente, excipientes, en un disolvente en condiciones para proporcionar un polvo seco respirable. Los disolventes pueden incluir compuestos polares tales como agua y etanol, que pueden secarse fácilmente. La estabilidad de los anticuerpos puede potenciarse realizando los procedimientos de secado por pulverización en ausencia de oxígeno, tal como bajo una inertización de nitrógeno o usando nitrógeno como gas de secado. Otra formulación relativamente seca es una dispersión de una pluralidad de microestructuras perforadas dispersas en un medio de suspensión que normalmente comprende un propulsor de hidrofluoroalcano como se enseña en el documento WO 9916419. Las dispersiones estabilizadas pueden administrarse al pulmón de un paciente usando un inhalador de dosis medida. Equipos útiles en la fabricación comercial de medicamentos secados por pulverización se fabrican por Buchi Ltd o Niro Corp.

Al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 en tanto las formulaciones como disoluciones estables o conservadas descritas en el presente documento puede administrarse a un paciente según la presente invención mediante una variedad de procedimientos de administración que incluyen inyección SC o IM; transdérmica, pulmonar, transmucosa, implante, bomba osmótica, cartucho, microbomba, u otros medios apreciados por el experto, como es muy conocido en la técnica.

Aplicaciones terapéuticas

En el presente documento se desvela un procedimiento para modular o tratar al menos una enfermedad relacionada con IL-23 en una célula, tejido, órgano, animal o paciente, como se conoce en la técnica o como se describe en el presente documento, usando al menos un anticuerpo para IL-23p19 de la presente invención, por ejemplo, administrando o poniendo en contacto la célula, tejido, órgano, animal o paciente con una cantidad terapéutica eficaz de anticuerpo para IL-23p19. También se desvela un procedimiento para modular o tratar al menos una enfermedad relacionada con IL-23 en una célula, tejido, órgano, animal o paciente que incluye, pero no se limita a, al menos una de obesidad, una enfermedad inmunorrelacionada, una enfermedad cardiovascular, una enfermedad infecciosa, una enfermedad maligna o una enfermedad neurológica.

En el presente documento también se desvela un procedimiento para modular o tratar al menos una enfermedad inmunorrelacionada relacionada con IL-23 en una célula, tejido, órgano, animal o paciente que incluye, pero no se limita a, al menos una de artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, artritis reumatoide juvenil de aparición sistémica, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, úlcera gástrica, artropatías seronegativas, osteoartritis, osteólisis, aflojamiento aséptico de implantes ortopédicos, enfermedad inflamatoria del intestino, colitis ulcerosa, lupus eritematoso sistémico, síndrome antifosfolípidos, iridociclitis/uveítis/neuritis óptica, fibrosis pulmonar idiopática, vasculitis sistémica/granulomatosis de Wegener, sarcoidosis, orquitis/procedimientos de inversión de la vasectomía, enfermedades alérgicas/atópicas, asma, rinitis alérgica, eccema, dermatitis alérgica de contacto, conjuntivitis alérgica, neumonitis por hipersensibilidad, trasplantes, rechazo de trasplante de órgano, enfermedad de injerto frente a huésped, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, síndrome por septicemia, septicemia por

Gram-positiva, septicemia por Gram-negativa, septicemia negativa en cultivo, septicemia fúngica, fiebre neutropénica, urosepticemia, meningococcemia, traumatismo/hemorragia, quemaduras, exposición a radiación ionizante, pancreatitis aguda, síndrome disneico del adulto, artritis reumatoide, hepatitis inducida por alcohol, patologías inflamatorias crónicas, sarcoidosis, patología de Crohn, anemia de células falciformes, diabetes, nefrosis, enfermedades atópicas, reacciones de hipersensibilidad, rinitis alérgica, fiebre del heno, rinitis perenne, conjuntivitis, endometriosis, asma, urticaria, anafilaxia sistémica, dermatitis, anemia perniciosa, enfermedad hemolítica, trombocitopenia, rechazo de injerto de cualquier órgano o tejido, rechazo de trasplante de riñón, rechazo de trasplante de corazón, rechazo de trasplante de hígado, rechazo de trasplante de páncreas, rechazo de trasplante de pulmón, rechazo de trasplante de médula ósea (TMO), rechazo de aloinjerto de piel, rechazo de trasplante de cartílago, rechazo de injerto de hueso, rechazo de trasplante de intestino delgado, rechazo de implante de timo fetal, rechazo de trasplante paratiroideo, rechazo de xenoinjerto de cualquier órgano o tejido, rechazo de aloinjerto, reacciones de hipersensibilidad anti-receptor, enfermedad de Graves, enfermedad de Raynaud, diabetes resistente a insulina tipo B, asma, miastenia grave, citotoxicidad mediada por anticuerpo, reacciones de hipersensibilidad de tipo III, síndrome de POEMS (polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, gammapatía monoclonal y síndrome de cambios cutáneos), polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, gammapatía monoclonal, síndrome de cambios cutáneos, síndrome antifosfolípidos, pénfigo, esclerodermia, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, enfermedad idiopática de Addison, diabetes mellitus, hepatitis activa crónica, cirrosis biliar primaria, vitíligo, vasculitis, síndrome de cardiomiopatía post-MI, hipersensibilidad de tipo IV, dermatitis de contacto, neumonitis por hipersensibilidad, rechazo de aloinjerto, granulomas debidos a organismos intracelulares, sensibilidad a fármacos, enfermedad metabólica/idiopática, de Wilson, hemocromatosis, deficiencia de alfa-1-antitripsina, retinopatía diabética, tiroiditis de Hashimoto, osteoporosis, evaluación del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal, cirrosis biliar primaria, tiroiditis, encefalomiелitis, caquexia, fibrosis quística, enfermedad pulmonar crónica neonatal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), linfocitosis hematofagocítica familiar, afecciones dermatológicas, psoriasis, alopecia, síndrome nefrótico, nefritis, nefritis glomerular, insuficiencia renal aguda, hemodiálisis, uremia, toxicidad, preeclampsia, terapia con okt3, terapia con anti-cd3, terapia con citocinas, quimioterapia, radioterapia (por ejemplo, que incluye, pero no se limita a, astenia, anemia, caquexia y similares), intoxicación crónica por salicilato y similares. Véanse, por ejemplo, the Merck Manual, 12^a-17^a ediciones, Merck & Company, Rahway, NJ (1972, 1977, 1982, 1987, 1992, 1999), Pharmacotherapy Handbook, Wells y col., eds., segunda edición, Appleton y Lange, Stamford, Conn. (1998, 2000).

En el presente documento también se desvela un procedimiento para modular o tratar psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple y neuritis óptica, entre las otras enfermedades enumeradas anteriormente como relacionadas con IL-23, en una célula, tejido, órgano, animal o paciente que incluyen, pero no se limitan a, al menos una de enfermedad inmunorrelacionada, enfermedad cardiovascular, enfermedad infecciosa, maligna y/o neurológica. Un procedimiento tal puede comprender opcionalmente administrar una cantidad eficaz de al menos una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia.

Cualquier procedimiento de la presente divulgación puede comprender administrar una cantidad eficaz de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia. Un procedimiento tal puede comprender opcionalmente además co-administración o terapia de combinación para tratar tales enfermedades o trastornos, en el que la administración de dicho al menos un anticuerpo anti-IL-23p19, porción especificada o variante del mismo comprende además administrar, antes, simultáneamente y/o después, al menos uno seleccionado de al menos un antagonista de TNF (por ejemplo, pero no se limita a, un producto químico de TNF o antagonista de proteína, anticuerpo monoclonal o policlonal de TNF o fragmento, un receptor de TNF soluble (por ejemplo, p55, p70 o p85) o fragmento, polipéptidos de fusión de los mismos, o un antagonista de TNF de molécula pequeña, por ejemplo, proteína de unión a TNF I o II (TBP-I o TBP-II), nerelimonmab, infliximab, etanercept (EnbrelTM), adalimumab (HumiraTM), CDP-571, CDP-870, afelimomab, lenercept, y similares), un antirreumático (por ejemplo, metotrexato, auranofina, aurotioglucosa, azatioprina, tiomalato de oro y sodio, sulfato de hidroxycloquinina, leflunomida, sulfasalazina), un relajante muscular, un narcótico, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueante neuromuscular, un antimicrobiano (por ejemplo, aminoglucósido, un antifúngico, un antiparasítico, un antivírico, un carbapenem, cefalosporina, una fluoroquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina, otro antimicrobiano), un antipsoriásico, un corticosteroide, un esteroide anabólico, un agente relacionado con la diabetes, un mineral, un nutritivo, un agente tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con el calcio, un antidiarreico, un antitusivo, un antiemético, un antiulceroso, un laxante, un anticoagulante, una eritropoyetina (por ejemplo, epoetina alfa), un filgrastim (por ejemplo, G-CSF, Neupogen), un sargramostim (GM-CSF, Leukine), una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (por ejemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una hormona de crecimiento, un fármaco de reemplazo hormonal, un modulador de receptores estrogénicos, un midriático, un ciclopéptico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, agente antimaníaco, un antipsicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpatomimético, un estimulante, donepezilo, tacrina, una medicación para el asma, un beta-agonista, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una metilxantina, una cromolina, una epinefrina o análogo, dornasa alfa (Pulmozyme), una citocina o un antagonista de citocina. Dosificaciones adecuadas son muy conocidas en la técnica. Véanse, por ejemplo, Wells y col., eds.,

Pharmacotherapy Handbook, 2ª edición, Appleton y Lange, Stamford, CT (2000); PDR Pharmacopoeia, Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2000, edición Deluxe, Tarascon Publishing, Loma Linda, CA (2000); Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21ª edición, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, NJ.

Antagonistas de TNF adecuados para composiciones, terapia de combinación, co-administración, dispositivos y/o procedimientos de la presente invención (que comprenden además al menos un anticuerpo, porción especificada y variante de del mismo, de la presente invención), incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos anti-TNF (por ejemplo, al menos un antagonista de TNF como se define anteriormente), fragmentos de unión a antígeno de los mismos y moléculas de receptor que se unen específicamente a TNF; compuestos que previenen y/o inhiben la síntesis de TNF, liberación de TNF o su acción sobre células diana tales como talidomida, tenidap, inhibidores de fosfodiesterasa (por ejemplo, pentoxifilina y rolipram), agonistas de receptores de adenosina A2b y potenciadores de receptores de adenosina A2b; compuestos que previenen y/o inhiben la señalización de receptores de TNF tales como inhibidores de proteínas cinasas activadas por mitógeno (MAP); compuestos que bloquean y/o inhiben la escisión de TNF de la membrana tales como inhibidores de metaloproteínasa; compuestos que bloquean y/o inhiben actividad de TNF tales como inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) (por ejemplo, captopril); y compuestos que bloquean y/o inhiben la producción y/o síntesis de TNF tales como inhibidores de cinasas MAP.

Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo para factor de necrosis tumoral", "anticuerpo para TNF", "anticuerpo para TNF α ", o fragmento y similares, disminuye, bloquea, inhibe, deroga o interfiere con la actividad de TNF $\square$ *in vitro*, *in situ* y/o, preferentemente, *in vivo*. Por ejemplo, un anticuerpo humano para TNF adecuado de la presente invención puede unirse a TNF α e incluye anticuerpos anti-TNF, fragmentos de unión a antígeno de los mismos y mutantes o dominios especificados de los mismos que se unen específicamente a TNF $\square$. Un anticuerpo de TNF adecuado o fragmento también puede disminuir, bloquear, derogar, interferir, prevenir y/o inhibir la síntesis de ARN, ADN o proteína de TNF, liberación de TNF, señalización de receptores de TNF, escisión de TNF de membrana, actividad de TNF, producción y/o síntesis de TNF.

Un ejemplo de un anticuerpo para TNF o antagonista es el anticuerpo quimérico cA2. Ejemplos adicionales de anticuerpos anti-TNF monoclonales que pueden usarse en la presente invención se describen en la materia (véanse, por ejemplo, la patente de EE.UU. n° 5.231.024; Möller, A. y col., Cytokine 2(3):162-169 (1990); solicitud de EE.UU. n° 07/943.852 (presentada el 11 de septiembre de 1992); Rathjen y col., publicación internacional n° WO 91/02078 (publicada el 21 de febrero de 1991); Rubin y col., publicación de patente EPO n° 0 218 868 (publicada el 22 de abril de 1987); Yone y col., publicación de patente EPO n° 0 288 088 (26 de octubre de 1988); Liang y col., Biochem. Biophys. Res. Comm. 137:847-854 (1986); Meager y col., Hybridoma 6:305-311 (1987); Fendly y col., Hybridoma 6:359-369 (1987); Bringman y col., Hybridoma 6:489-507 (1987); y Hirai y col., J. Immunol. Meth. 96:57-62 (1987).

Moléculas de receptores de TNF

Moléculas de receptores de TNF preferidas útiles en la presente invención son aquellas que se unen a TNF α con alta afinidad (véase, por ejemplo, Feldmann y col., publicación internacional n° WO 92/07076 (publicada el 30 de abril de 1992); Schall y col., Cell 61:361-370 (1990); y Loetscher y col., Cell 61:351-359 (1990), referencias que se incorporan en su totalidad en el presente documento por referencia) y opcionalmente poseen baja inmunogenicidad. En particular, los receptores de TNF de 55 kDa (p55 TNF-R) y 75 kDa (p75 TNF-R) de la superficie celular son útiles en la presente invención. Formas truncadas de estos receptores, que comprenden los dominios extracelulares (ECD) de los receptores o porciones funcionales de los mismos (véase, por ejemplo, Corcoran y col., Eur. J. Biochem. 223:831-840 (1994)), también son útiles en la presente invención. Formas truncadas de los receptores de TNF, que comprenden el ECD, se han detectado en orina y suero como proteínas de unión inhibitoras de TNF α de 30 kDa y 40 kDa (Engelmann, H. y col., J. Biol. Chem. 265:1531-1536 (1990)). Las moléculas multímeras de receptores de TNF y moléculas de fusión de inmunorreceptores de TNF, y derivados y fragmentos o porciones de los mismos, son ejemplos adicionales de moléculas de receptores de TNF que son útiles en los procedimientos y composiciones de la presente invención.

Las moléculas multímeras de receptores de TNF útiles en la presente invención comprenden toda o una porción funcional de la ECD de dos o más receptores de TNF ligados por uno o más glicoles de polipéptido (PEG). Un ejemplo de una molécula de fusión de inmunorreceptores de TNF tal es la proteína de fusión de receptor de TNF/IgG. Las moléculas de fusión de inmunorreceptores de TNF y procedimientos para su producción se han descrito en la materia (Lesslauer y col., Eur. J. Immunol. 22:2883-2886 (1991); Ashkenazi y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539 (1991); Peppel y col., J. Exp. Med. 274:1483-1489 (1991); Kolls y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92:215-219 (1994); Butler y col., Cytokine 6(6):616-623 (1994); Baker y col., Eur. J. Immunol. 24:2040-2048 (1994); Beutler y col., patente de EE.UU. n° 5.447.851; y solicitud de EE.UU. n° 08/442.133 (presentada el 16 de mayo de 1995). Procedimientos para producir moléculas de fusión de inmunorreceptores también pueden encontrarse en Capon y col., patente de EE.UU. n° 5.116.964; Capon y col., patente de EE.UU. n° 5.225.538; y Capon y col., Nature 337:525-531 (1989).

Las citocinas incluyen cualquier citocina conocida. Véase, por ejemplo, CopewithCytokines.com. Los antagonistas de citocinas incluyen, pero no se limitan a, cualquier anticuerpo, fragmento o mimético, cualquier receptor soluble, fragmento o mimético, cualquier antagonista de molécula pequeña, o cualquier combinación de los mismos.

5

Tratamientos terapéuticos

Cualquier procedimiento de la presente divulgación puede comprender un procedimiento para tratar un trastorno mediado por IL-23 que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición o composición farmacéutica que comprende al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 a una célula, tejido, órgano, animal o paciente en necesidad de tal modulación, tratamiento o terapia. Un procedimiento tal puede comprender opcionalmente además co-administración o terapia de combinación para tratar tales enfermedades o trastornos, en el que la administración de dicho al menos un anticuerpo anti-IL-23p19, porción especificada o variante del mismo comprende además administrar antes, simultáneamente y/o después al menos uno seleccionado de un fármaco antiinfeccioso, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (CNS), un fármaco para el sistema nervioso autónomo (SNA), un fármaco para las vías respiratorias, un fármaco para el tubo gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el equilibrio en fluidos o electrolitos, un fármaco hematológico, un antineoplásico, un fármaco para inmunomodulación, un fármaco oftálmico,ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutricional o similares, al menos un antagonista de TNF (por ejemplo, pero no se limita a, un anticuerpo de TNF o fragmento, un receptor de TNF soluble o fragmento, proteínas de fusión de los mismos, o un antagonista de TNF de molécula pequeña), un antirreumático (por ejemplo, metotrexato, auranofina, aurotioglucosa, azatioprina, etanercept, tiomalato de oro y sodio, sulfato de hidroxilcloroquina, leflunomida, sulfasalazina), un relajante muscular, un narcótico, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un analgésico, un anestésico, un sedante, un anestésico local, un bloqueante neuromuscular, un antimicrobiano (por ejemplo, aminoglucósido, un antifúngico, un antiparasítico, un antivírico, un carbapenem, cefalosporina, una fluoroquinolona, un macrólido, una penicilina, una sulfonamida, una tetraciclina, otro antimicrobiano), un antipsoriásico, un corticosteroide, un esteroide anabólico, un agente relacionado con la diabetes, un mineral, un nutritivo, un agente tiroideo, una vitamina, una hormona relacionada con el calcio, un antidiarréico, un antitussivo, un antiemético, un antiulceroso, un laxante, un anticoagulante, una eritropoyetina (por ejemplo, epoetina alfa), un filgrastim (por ejemplo, G-CSF, Neupogen), un sargramostim (GM-CSF, Leukine), una inmunización, una inmunoglobulina, un inmunosupresor (por ejemplo, basiliximab, ciclosporina, daclizumab), una hormona de crecimiento, un fármaco de reemplazo hormonal, un modulador de receptores estrogénicos, un diurético, un ciclopéptico, un agente alquilante, un antimetabolito, un inhibidor mitótico, un radiofarmacéutico, un antidepresivo, agente antimaníaco, un antipsicótico, un ansiolítico, un hipnótico, un simpatomimético, un estimulante, donepezilo, tacrina, una medicación para el asma, un beta-agonista, un esteroide inhalado, un inhibidor de leucotrieno, una metilxantina, una cromolina, una epinefrina o análogo, dornasa alfa (Pulmozyme), una citocina o un antagonista de citocina. Tales fármacos son muy conocidos en la técnica, que incluyen formulaciones, indicaciones, dosificación y administración para cada uno presentado en el presente documento (véase, por ejemplo, Nursing 2001 Handbook of Drugs, 21ª edición, Springhouse Corp., Springhouse, PA, 2001; Health Professional's Drug Guide 2001, ed., Shannon, Wilson, Stang, Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ; Pharmacotherapy Handbook, Wells y col., ed., Appleton & Lange, Stamford, CT).

Normalmente, el tratamiento de afecciones patológicas se efectúa administrando una cantidad eficaz o dosificación de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19, composición que asciende a, en promedio, un intervalo de al menos aproximadamente 0,01 a 500 miligramos de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 por kilogramo de paciente por dosis, y, preferentemente de al menos aproximadamente 0,1 a 100 miligramos de anticuerpo/kilogramo de paciente por administración única o múltiple, dependiendo de la actividad específica del agente activo contenido en la composición. Alternativamente, la concentración en suero eficaz puede comprender 0,1-5000 µg/ml de concentración en suero por administración única o múltiple. Dosificaciones adecuadas son conocidas para los médicos y, por supuesto, dependen del estado de enfermedad particular, actividad específica de la composición que se administra y el paciente particular que se somete a tratamiento. En algunos casos, para lograr la cantidad terapéutica deseada, puede ser necesario proporcionar administraciones repetidas, es decir, administraciones individuales repetidas de una dosis monitorizada o medida particular, en las que las administraciones individuales se repiten hasta que se logra la dosis diaria o efecto deseado.

Dosis preferidas pueden incluir opcionalmente aproximadamente 0,1-99 y/o 100-500 mg/kg/administración, o cualquier intervalo, valor o fracción de los mismos, o para lograr una concentración en suero de aproximadamente 0,1-5000 µg/ml de concentración en suero por administración única o múltiple, o cualquier intervalo, valor o fracción de los mismos. Un intervalo de dosificación preferido para el anticuerpo anti-IL-23p19 de la presente invención es de aproximadamente 1 mg/kg hasta aproximadamente 3, aproximadamente 6 o aproximadamente 12 mg/kg de peso corporal del paciente.

Alternativamente, la dosificación administrada puede variar dependiendo de factores conocidos tales como las características farmacodinámicas del agente particular, y su modo y vía de administración; edad, salud y peso del receptor; naturaleza y grado de los síntomas, tipo de tratamiento simultáneo, frecuencia de tratamiento y el efecto deseado. Normalmente, una dosificación de principio activo puede ser aproximadamente 0,1 a 100 miligramos por

kilogramo de peso corporal. Generalmente, 0,1 a 50, y, preferentemente 0,1 a 10 miligramos por kilogramo por administración o en forma de liberación sostenida es eficaz para obtener resultados deseados.

Como ejemplo no limitante, el tratamiento de seres humanos o animales puede proporcionarse como una dosificación de una vez o periódica de al menos un anticuerpo de la presente invención, aproximadamente 0,1 a 100 mg/kg o cualquier intervalo, valor o fracción de los mismos por día, o al menos uno del día 1-40, o alternativamente o adicionalmente, al menos uno de la semana 1-52, o alternativamente o adicionalmente, al menos uno de 1-20 años, o cualquier combinación de los mismos, usando dosis única, de infusión o repetidas.

Formas de dosificación (composición) adecuadas para administración interna generalmente contienen de aproximadamente 0,001 miligramos a aproximadamente 500 miligramos de principio activo por unidad o recipiente. En estas composiciones farmacéuticas, el principio activo estará generalmente presente en una cantidad de aproximadamente el 0,5-99,999% en peso basado en el peso total de la composición.

Para administración parenteral, el anticuerpo puede formularse como una disolución, suspensión, emulsión, partícula, polvo o polvo liofilizado en asociación, o proporcionado por separado, con un vehículo parenteral farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de tales vehículos son agua, solución salina, disolución de Ringer, disolución de dextrosa y aproximadamente 1-10% de albúmina de suero humano. También pueden usarse liposomas y vehículos no acuosos, tales como aceites no volátiles. El vehículo o polvo liofilizado puede contener aditivos que mantienen la isotonicidad (por ejemplo, cloruro sódico, manitol) y estabilidad química (por ejemplo, tampones y conservantes). La formulación se esteriliza por técnicas conocidas o adecuadas.

Vehículos farmacéuticos adecuados se describen en la edición más reciente de Remington's Pharmaceutical Sciences, A. Osol, un texto de referencia estándar en este campo.

Administración alternativa

Muchos modos conocidos y desarrollados pueden usarse según la presente invención para administrar cantidades farmacéuticamente eficaces de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 según la presente invención. Aunque se usa la administración pulmonar en la siguiente descripción, pueden usarse otros modos de administración según la presente invención con resultados adecuados. Anticuerpos para IL-23p19 de la presente invención pueden administrarse en un vehículo, como una disolución, emulsión, coloide o suspensión, o como un polvo seco, usando cualquiera de una variedad de dispositivos y procedimientos adecuados para administración por inhalación u otros modos descritos aquí dentro o conocidos en la técnica.

Formulaciones parenterales y administración

Las formulaciones para administración parenteral pueden contener como excipientes comunes agua estéril o solución salina, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, naftalenos hidrogenados y similares. Suspensiones acuosas o aceitosas para inyección pueden prepararse usando un emulsionante apropiado o humidificador y un agente de suspensión, según procedimientos conocidos. Agentes para inyección pueden ser un agente de dilución no administrable por vía oral no tóxico tal como disolución acuosa, una disolución inyectable estéril o suspensión en un disolvente. Como vehículo o disolvente utilizable se permiten agua, disolución de Ringer, solución salina isotónica, etc.; como disolvente o disolvente de suspensión habitual, aceite no volátil estéril puede usarse. Para estos fines puede usarse cualquier tipo de aceite y ácido graso no volátil, que incluye aceites grasos o ácidos grasos naturales o sintéticos o semisintéticos; mono- o di- o triglicéridos naturales o sintéticos o semisintéticos. La administración parental se conoce en la técnica e incluye, pero no se limita a, medios convencionales de inyecciones, un dispositivo de inyección sin aguja presurizado con gas como se describe en la patente de EE.UU. n° 5.851.198, y un dispositivo perforador láser como se describe en la patente de EE.UU. n° 5.839.446.

Administración alternativa

La divulgación se refiere además a la administración de al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 por medios parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intra-articular, intrabronquial, intra-abdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelular, intracerebeloso, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraóseo, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretiniano, intraespinal, intrasinovial, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal o transdérmico. Al menos una composición de anticuerpo anti-IL-23p19 puede prepararse para su uso para administración parenteral (subcutánea, intramuscular o intravenosa) o cualquier otra administración, particularmente en forma de disoluciones o suspensiones líquidas; para su uso en administración vaginal o rectal, particularmente en formas semisólidas tales como, pero no se limitan a, cremas y supositorios; para administración bucal o sublingual tal como, pero no se limitan a, en forma de comprimidos o cápsulas; o intranasalmente tal como, pero no se limitan a, la forma de polvos, gotas nasales o aerosoles o ciertos agentes; o transdérmicamente, tal como, no limitado a, un gel, pomada, loción,

suspensión o sistema de administración por parche con potenciadores químicos tales como sulfóxido de dimetilo para tanto modificar la estructura de la piel como para aumentar la concentración de fármaco en el parche transdérmico (Junginger y col. en "Drug Permeation Enhancement"; Hsieh, D. S., Eds., pp. 59-90 (Marcel Dekker, Inc. New York 1994), o con agentes de oxidación que permiten la aplicación de formulaciones que contienen proteínas y péptidos sobre la piel (documento WO 98/53847), o aplicaciones de campos eléctricos para crear rutas de transporte transitorias tales como electroporación, o para aumentar la movilidad de fármacos cargados por la piel, tal como iontoforesis, o aplicación de ultrasonidos, tal como sonoforesis (patentes de EE.UU. n° 4.309.989 y 4.767.402).

Administración pulmonar/nasal

Para administración pulmonar, preferentemente, al menos una composición de anticuerpo anti-IL-23p19 se administra en un tamaño de partícula eficaz para alcanzar las vías respiratorias inferiores del pulmón o senos. Según la invención, al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 puede administrarse por cualquiera de una variedad de dispositivos de inhalación o nasales conocidos en la técnica para administración de un agente terapéutico por inhalación. Estos dispositivos que pueden depositar formulaciones aerosolizadas en la cavidad del seno o alvéolos de un paciente incluyen inhaladores de dosis medida, nebulizadores, generadores de polvo seco, pulverizadores y similares. Otros dispositivos adecuados para dirigir la administración pulmonar o nasal de anticuerpos también se conocen en la técnica. Todos aquellos dispositivos pueden usar formulaciones adecuadas para la administración para la dispensación de anticuerpo en un aerosol. Tales aerosoles pueden estar compuestos por tanto disoluciones (tanto acuosas como no acuosas) como partículas sólidas.

Formulaciones transdérmicas y administración

Para administración transdérmica, el al menos un anticuerpo anti-IL-23p19 se encapsula en un dispositivo de administración tal como un liposoma o nanopartículas poliméricas, micropartícula, microcápsula o microesferas (denominadas conjuntamente micropartículas, a menos que se establezca de otro modo). Se conocen varios dispositivos adecuados que incluyen micropartículas hechas de polímeros sintéticos tales como polihidroxiácidos tales como ácido poliláctico, ácido poliglicólico y copolímeros de los mismos, poliortoésteres, polianhídridos y polifosfacenos, y polímeros naturales tales como colágeno, poliaminoácidos, albúmina y otras proteínas, alginato y otros polisacáridos, y combinaciones de los mismos (patente de EE.UU. n° 5.814.599).

Administración prolongada y formulaciones

Puede desearse administrar los compuestos de la presente invención al sujeto durante periodos de tiempo prolongados, por ejemplo, durante periodos de una semana a un año de una única administración. Pueden utilizarse diversas formas de dosificación de liberación lenta, de liberación prolongada o de implante. Por ejemplo, una forma de dosificación puede contener una sal no tóxica farmacéuticamente aceptable de los compuestos que tiene un bajo grado de solubilidad en fluidos corporales, por ejemplo, (a) una sal de adición de ácido con un ácido polibásico tal como ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido tánico, ácido pamoico, ácido algínico, ácido poliglutámico, ácidos mono- o di-naftalenosulfónicos, ácido poligalacturónico y similares; (b) una sal con un catión metálico polivalente tal como cinc, calcio, bismuto, bario, magnesio, aluminio, cobre, cobalto, níquel, cadmio y similares, o con un catión orgánico formado a partir de, por ejemplo, N,N'-dibencil-etilendiamina o etilendiamina; o (c) combinaciones de (a) y (b), por ejemplo, una sal de tannato de cinc. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención o, preferentemente, una sal relativamente insoluble, tal como aquellas precisamente descritas, pueden formularse en un gel, por ejemplo, un gel de monoestearato de aluminio con, por ejemplo, aceite de sésamo, adecuado para inyección. Sales particularmente preferidas son sales de cinc, sales de tannato de cinc, sales de pamoato, y similares. Otro tipo de formulación de liberación prolongada de liberación lenta para inyección contendría el compuesto o sal dispersa para encapsulación en un polímero no antigénico no tóxico de lenta degradación tal como un polímero de ácido poliláctico/ácido poliglicólico, por ejemplo, como se describe en la patente de EE.UU. n° 3.773.919. Los compuestos o, preferentemente, sales relativamente insolubles tales como aquellas descritas anteriormente también pueden formularse en pellas silásticas de matriz de colesterol, particularmente para su uso en animales. Formulaciones de liberación lenta de liberación prolongada o de implante adicionales, por ejemplo, liposomas de gas o líquido, son conocidos en la bibliografía (patente de EE.UU. n° 5.770.222 y "Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems", J. R. Robinson ed., Marcel Dekker, Inc., N.Y., 1978).

Habiendo descrito generalmente la invención, la misma se entenderá más fácilmente por referencia a los siguientes ejemplos, que se proporcionan a modo de ilustración y no están previstos como limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Especificidad de subunidad de anticuerpos monoclonales para IL-23p19

mAb de ratón anti-IL-23 humana purificados se evaluaron en ELISA de captura de citocinas para determinar su especificidad por subunidad de antígeno. Brevemente, mAb para IL-23 se recubrieron sobre placas y se

incubaron con 100 ng/ml de hrIL-23, hrIL-12 y hrp40 (hr = humano recombinante), respectivamente. Tras la incubación con mAb anti-p40 biotinilado, la unión se detectó usando estreptavidina conjugada con HRP. Como controles se usaron un mAb anti-p40 y un mAb anti-IL-12 (20C2, catálogo nº 555065, BD Pharmingen, San Diego, CA) con especificidad conocida.

La Figura 1 demuestra que cuatro mAb se unen específicamente a hrIL-23 y no a hrIL-12 o monómero de hrp40. Debido a que la subunidad de IL-23p19 debe asociarse covalentemente con p40 para ser secretada de células de mamífero, los mAb para IL-23 que no reconocen el monómero p40 deben unirse tanto a la subunidad IL-23p19 sola como a un epítipo de unión del heterodímero p19-p40. Por tanto, estos mAb para IL-23 se denominan mAb para IL-23p19. Los cuatro mAb anti-IL-23p19 humana demuestran curvas de unión similares a hrIL-23 (Figura 2) y análisis de BIAcore posteriores demuestran afinidades que oscilan de 43-338 pM. Se determinó adicionalmente que estos mAb para IL-23 no reaccionan de forma cruzada con IL-23 murina (datos no mostrados).

Ejemplo 2 - Inhibición de la unión de receptores de IL-23 por mAb para IL-23p19

Para demostrar que los mAb para IL-23p19 son anticuerpos neutralizantes contra la subunidad p19, los mAb se probaron para su inhibición de la unión de IL-23 y IL-23R. En este experimento, IL-23R se inmovilizó sobre una placa. Se añadió hrIL-23 biotinilada a la placa tanto sola como después de preincubación con mAb para IL-23p19 individual. Se usó IL-23R soluble (IL-23R-Fc) como control positivo. La unión de IL-23 se detectó con estreptavidina conjugada con HRP. Como se muestra en la Figura 3, los cuatro mAb para IL-23p19 pudieron prevenir la unión de IL-23/IL-23R con potencia comparable a IL-23R-Fc soluble. A diferencia, cuando IL-12Rβ1 se inmovilizó sobre una placa, ninguno de los mAb para IL-23p19 pudo inhibir la unión de IL-23/IL-12Rβ1 (datos no mostrados). Similarmente, los mAb para IL-23p19 no bloquean la unión de IL-12/IL-12Rβ1 (datos no mostrados). La inhibición selectiva de la unión de IL-23/IL-23R y la falta de interferencia con la unión de IL-12 o IL-23 a IL-12Rβ1 demuestra adicionalmente que estos mAb para IL-23p19 no se unen a la subunidad p40 y, por tanto, son anticuerpos anti-IL-23p19 humana neutralizantes.

Ejemplo 3 - Neutralización de la función biológica de IL-23 por mAb para IL-23p19

Se sabe que IL-23 induce la fosforilación intracelular de STAT3 y la producción de IL-17 por linfocitos T. Por tanto, los mAb para IL-23p19 se probaron para su capacidad para inhibir estas funciones biológicas de IL-23 humana.

En un experimento, linfocitos citolíticos espontáneos (NKL) se estimularon con hrIL-23 tanto sola como después de la preincubación con mAb para IL-23p19 individual. Las células tratadas se tiñeron con anticuerpos anti-fosfo-STAT3 conjugados con fluorocromo y se analizaron por citometría de flujo intracelular. Se mostró que los cuatro mAb para IL-23p19 inhibían la fosforilación de STAT3 con potencia comparable a un mAb anti-p40 neutralizante.

En otro experimento, esplenocitos murinos recientemente aislados se trataron con hrIL-23 preincubada con mAb para IL-23p19 valorados o mAb de control. hrIL-23 con preincubación sin anticuerpo se usó como control positivo. Después de 3 días en cultivo, los sobrenadantes de células se recogieron y se ensayaron por ELISA usando el conjunto de IL-17 ELISA duo (R&D Systems). Como se muestra en la Figura 4, los mAb para IL-23p19 inhiben la producción de IL-17 mediada por hrIL-23. También se mostró que estos mAb inhibieron la producción de IL-17 mediada por IL-23 humana nativa (producida por PBMC humanas).

En comparación, los mAb para IL-23p19 también se probaron para su capacidad para inhibir la producción de IFNγ inducida por IL-12. Brevemente, células NK92MI se trataron con IL-12 preincubada con mAb para IL-23p19 valorados o mAb de control. IL-12 con preincubación sin anticuerpo se usó como control positivo. El análisis de ELISA realizado 24 horas después de la estimulación no mostró efecto de mAb para IL-23p19 sobre la producción de IFNγ inducida por IL-12, demostrando que los anticuerpos no se unen a la subunidad p40 compartida por IL-12 y IL-23.

Ejemplo 4 - Identificación de epítopes de mAb para IL-23p19 y unión competitiva

El análisis de unión por competencia se realizó para determinar si los cuatro mAb para IL-23p19 neutralizantes se unían a epítopes de IL-23p19 similares o diferentes. mAb para IL-23 se recubrieron individualmente sobre placas de ELISA. Los mAb de competencia se añadieron, seguido de la adición de hrIL-23 biotinilada. Para el control positivo se usó el mismo mAb para el recubrimiento que el mAb de competencia ("auto-competencia"). La unión de IL-23 se detectó usando estreptavidina. C1269, C1273 y C1275 muestran todos competencia cruzada, indicando unión a un sitio espacialmente similar. C1249 muestra poca o ninguna competencia con C1269 o C1273 e inhibición parcial de C1275. Estos resultados indican que los mAb reconocen epítopes similares o que se solapan parcialmente sobre IL-23.

El ELISA de competencia del anticuerpo C1269 marcado unido a IL-23 se realizó como se muestra en la

Figura 7. 5 μ l de 20 μ g/ml de hIL-23 se recubrieron sobre placa, se mezclaron con 10 nM de C1269 marcado y se diluyeron seriadamente competidores sin marcar de 3000 nM a 0, C1269 y C1249, en 25 μ l. La unión relativa se calculó fijando la señal en ausencia de competidor al 100%. Los resultados indican que los anticuerpos C1249 y C1269 no compiten por el mismo epítipo de unión.

Para mapear directamente sus epítipos de unión, los mAb para IL-23p19, 75 μ g de C1249 o IgG de ratón, se mezcló con aproximadamente 65 μ g de IL-23 y se incubó a 4°C durante la noche. El complejo de antígeno-anticuerpo se aisló por cromatografía en gel y se transfirió a tampón de digestión (Tris-HCl 0,1 M a pH 8,5) usando una unidad de filtro de 100.000 NMWL. Entonces se añadieron 4 μ g de tripsina (0,16 unidades) en tampón de digestión y se incubaron durante 2 horas a 37°C. Después de la incubación, los complejos se capturaron por perlas de proteína G, se lavaron dos veces con PBS y una vez con bicarbonato de amonio, y los péptidos capturados se eluyeron en 30 μ l de tampón de elución (10% de acetonitrilo, 0,5% de TFA). La formación de complejos y la digestión con tripsina de C1269 se llevó a cabo del mismo modo.

Los péptidos eluidos se analizaron por espectrometría de masas de MALDI-TOF como se describe más adelante. Los eluyentes del complejo de tripsina-digesto se desalaron pipeteando la muestra a través de una C18 Zip Tip, Zip Tip se humedeció con 100% de acetonitrilo, seguido de equilibrio con 0,1% de TFA. Entonces, el eluyente se unió al medio, se lavó con 0,1% de TFA y se eluyó en un volumen de 2 μ l de matriz de α -ciano (10 mg/ml de α -ciano, 0,1% de TFA, 50% de acetonitrilo en agua) y se aplicó directamente en puntos sobre la diana de MALDI-TOF. MALDI-TOF (Voyager-DE™ STR, ABI) se calibró con mezcla de calibración 2 (ABI). Los espectros se obtuvieron a la intensidad láser entre 1500-1800 unidades y el intervalo de masa de adquisición de 800 a 5000 m/z.

Un péptido p19 a m/z = 1248 (${}_{74}$ IQGLIFYEK ${}_{83}$) fue capturado por tanto los mAb C1249 como C1269. Sin embargo, con C1269, este péptido fue menos intenso y puede unirse no específicamente. Estos resultados indican que la región ${}_{74}$ IQGLIFYEK ${}_{83}$ contribuye al epítipo de unión para C1249 y C1269.

Análisis de epítipos por mutagénesis por intercambio de proteínas hIL-23p19/mIL-23p19

Se ha observado que C1269 y C1249 no se unen a IL-23 de ratón, sin embargo, C1269, pero no C1249, neutraliza IL-23 nativa de mono cinomolgo. Por tanto, las diferencias de secuencias entre IL-23p19 humana, de mono cinomolgo y de ratón se analizaron para identificar regiones de unión putativas para estos anticuerpos monoclonales. La subunidad p19 de mono cinomolgo se clonó y se secuenció en Centocor. El alineamiento de las secuencias de p19 de ser humano, cinomolgo y ratón se muestra de la región identificada como que comprende al menos una parte de la región de epítipo para los anticuerpos de la presente invención - ${}_{74}$ IQGLIFYEK ${}_{83}$. En esta región de aminoácidos de 10 residuos sólo hay una única diferencia en H75 entre IL-23p19 humana y de mono cinomolgo. Esto indica que H75 es crítico para la unión de C1249, que no neutraliza IL-23p19 de cinomolgo, pero que no parece ser crítico para la unión de C1269.

Basándose en el alineamiento de secuencias se realizó mutagénesis por intercambio de especies. Se generó una proteína IL-23 humana mutante (designada "3220") en la que la región del péptido triptico se mutó a la secuencia de ratón, ${}_{74}$ IRQGLAFYKH ${}_{83}$, con las cuatro mutaciones marcadas en negrita (cuatro mutaciones puntuales individuales en 3220 - Humana ${}_{75}$ His $\rightarrow$ Ratón ${}_{75}$ Arg, Humana ${}_{79}$ Ile $\rightarrow$ Ratón ${}_{79}$ Ala, Humana ${}_{82}$ Glu $\rightarrow$ Ratón ${}_{82}$ Lys y Humana ${}_{83}$ Lys $\rightarrow$ Ratón ${}_{83}$ His). Se construyó una segunda proteína mutante (designada "3397") que incorporaba las sustituciones D y K inmediatamente al extremo C de este péptido- ${}_{74}$ IRQGLAFYKHLLDSDIFK ${}_{91}$ (de ${}_{74}$ IQGLIFYEKLLGSDOFT ${}_{91}$ natural) con las seis mutaciones marcadas en negrita (las cuatro mutaciones de 3220 junto con dos mutaciones puntuales adicionales - Humana ${}_{75}$ His $\rightarrow$ Ratón ${}_{75}$ Arg, Humana ${}_{79}$ Ile $\rightarrow$ Ratón ${}_{79}$ Ala, Humana ${}_{82}$ Gu $\rightarrow$ Ratón ${}_{82}$ Lys y Humana ${}_{83}$ Lys $\rightarrow$ Ratón ${}_{83}$ His, Humana ${}_{86}$ Gly $\rightarrow$ Ratón ${}_{86}$ Asp y Humana ${}_{91}$ Thr $\rightarrow$ Ratón ${}_{91}$ Lys).

Para evaluar la especificidad de unión por las proteínas mutantes se llevó a cabo unión por ELISA para C1249, C1269, además del anticuerpo CNTO 209 sustituto de control (de rata anti-IL-23p19 de ratón). Los resultados se muestran en las Figuras 8A, 8B y 9. Los resultados de ELISA muestran que las mutaciones en IL-23 p19 (3220) redujeron la actividad de unión a C1249 y C1269 más del 80% (Figura 5 y Figuras 8A y 8B). Las sustituciones adicionales en 3397 mutante redujeron adicionalmente la unión el 95% en C1249 y el 90% en C1269.

Aproximadamente 65 μ g de IL-23 se mezclaron con 75 μ g de C1249, C1269, IgG de ratón, respectivamente, y se incubaron durante la noche a 4°C durante la noche. El complejo de antígeno-anticuerpo se transfirió a tampón de digestión usando una unidad de filtro de 100.000 NMWL. Entonces se añadieron 4 μ g de tripsina (0,16 unidades) en tampón de digestión y se incubaron durante 2 horas a 37°C. Después de la digestión, perlas de proteína G se añadieron a anticuerpo de captura y los fragmentos se unieron por anticuerpo. Entonces, las perlas de proteína G se lavaron una vez con PBS y dos veces con bicarbonato de amonio 50 mM, y los complejos capturados se eluyeron con 30 μ l de tampón de elución (10% de acetonitrilo, 0,5% de ácido trifluoroacético).

Los eluyentes del complejo de tripsina-digesto se desalaron pipeteando la muestra a través de ZipTip C18, se lavó con 0,1% de TFA en agua, luego se eluyeron en 2 μ l de matriz de α -ciano (10 mg/ml de α -ciano, 0,1% de

TFA, 50% de acetonitrilo en agua) y se aplicaron en puntos sobre una diana de MALDI-TOF. MALDI-TOF (Voyager-DET™ STR, ABI) se calibró con mezcla de calibración 2 (ABI). Los espectros se obtuvieron a la intensidad láser entre 1.500-1.800 unidades y el intervalo de masa de adquisición de 800-5.000 m/z.

Placas de alta unión de MSD (Meso Scale Diagnostics, Gaithersburg, MD) se recubrieron, a 4°C durante la noche, con 5 nL de muestras seriadamente diluidas, de 100 a 0 µg/ml, de diferentes reactivos de proteína, que incluían IL-23 humana, IL-23 murina y dos proteínas mutantes de segmentos intercambiados, 3220 y 3397. Ciento cincuenta µl de 5% de tampón de bloqueante A de MSD se añadieron a cada pocillo y se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. Las placas se lavaron tres veces con tampón HEPES 0,1 M, pH 7,4. Estos micro-pocillos de ELISA cargados con proteína se incubaron con 25 µl de 2 µg/ml de mAb C1249, C1269, o CNTO 209 marcados con Sulfo-TAG de MSD. Después de la incubación durante 2 horas con agitación a temperatura ambiente, las placas se lavaron 3 veces con tampón HEPES 0,1 M (pH 7,4). El tampón T de lectura de MSD se diluyó con agua destilada (4 veces) y se dispensó a una volumen de 150 µl/pocillo y se analizó con SECTOR imager 6000.

Análisis estructural de IL-23

La Figura 6 muestra el modelo estructural para IL-23 humana basándose en la estructura cristalina de IL-12 humana (código de pdb 1f45). Es evidente que los residuos (H75, I79, E82, K83 y G86) están expuestos en la superficie y agrupados juntos. Esta disposición es típica de epítopes conformacionales para la unión a anticuerpo. Por tanto, este segmento (₇₄IHQGLIFYEKLLG₈₆) puede constituir parte del epítipo de unión para C1249, además de determinantes de especificidad de especies del epítipo. La unión de Ab/Ag típica entierra aproximadamente 1000 Å² de área superficial. Esto sugiere que residuos expuestos adicionales de IL-23p19 en la proximidad del segmento anterior también serían requeridos para un sitio de unión típico. La inspección del modelo molecular sugiere que los residuos de la hélice C vecina (residuos L109, L110, S113, Q114, L116 y Q117) están expuestos y formarían una agrupación de superficie extendida junto con los residuos en el segmento 74-86. Los residuos identificados y propuestos que son parte del epítipo para C1249 se marcan y se muestran en modelos de varillas en la Figura 6. La subunidad p40 está marcada 2 y la subunidad p19 marcada 1.

La secuencia para esta parte de la hélice C es idéntica entre p19 humana y murina. Es plausible que como parte del epítipo estos residuos contribuyeran a la unión residual de los mutantes de intercambio humano a murino descritos anteriormente. Por tanto, el epítipo puede estar comprendido por dos segmentos de p19 (74-85 y 108-118), siendo los residuos expuestos (H75, I79, E82, K83, G86, L109, L110, S113, Q114, L116 y Q117) los más probablemente implicados en las interacciones directas de anticuerpos.

El análisis de mutagénesis se realiza con el segmento de IL-23p19 que abarca los residuos 108-118 en el que los residuos se cambian selectivamente individualmente y/o en grupos (es decir, múltiples cambios). La actividad de IL-23 se monitoriza después de hacerse mutaciones como en los experimentos anteriores usando el segmento de IL-23p19 que abarca los residuos de aminoácidos 74-86. El epítipo se confirma basándose en el cambio en la actividad que guarda relación con las diversas combinaciones de mutaciones.

Para los fines de la presente invención, el 70-100% de la identidad de secuencias de aminoácidos o nucleótidos (es decir, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 o cualquier intervalo o valor en su interior) se determina usando un algoritmo informático adecuado, como se conoce en la técnica.

Será evidente que la invención puede ponerse en práctica de otro modo distinto al particularmente descrito en la descripción y ejemplos anteriores. Numerosas modificaciones y variaciones de la presente invención son posibles en vista de las enseñanzas anteriores.

Tablas de secuencias

SEQ ID NO:1 (IL humana subunidad 23p19)

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

SEQ ID NO:2 – Secuencia de Nucleotidos de la cadena pesada C1273

Atgagcagtgaaacacagacccctcaccatgaacttcgggctcagattgattttccttgctccttacttt
 aaaaggtgtccagtggtgacgtgaacttggtggagctctgggggaggcttagtgaagcctggaggggtccc
 tgaaactctcctgtgcagcctctggattcactttcagtagctataccatgtcttggttcgccagact
 ccggagaagaggctggagtggtcgcaaccattagtagtggtggtacttacacctactatccagacag
 tgtgaagggccgattcaccatctccagagacaatgccaagaacaccctgtacctgcaaagtgagcagtc
 tgaagtctgaggacacagccatgttttactgtacaagagataaccatgcttacgacaggggcccctttc
 tttgactactggggccaaggcgccactctcacagtctcctca

SEQ ID NO:3 – Secuencia de aminoácido de la cadena pesada C1273 (Secuencias CDR en negrita y subrayadas)

MSSEHRPLTMNFGRLRLIFLVLTALKGVQCDVNLVESGGGLVKPGGSLKLSCAAS**GFTFSSYTMS**WVRQT
 PEKRLEWVAT**TISSGGTYTYYPDSVKGRFTISR**DNAKNTLYLQMS**SLKSEDTAMFYCTR**DNHAYDRGPF
FDYWGQGATLTVSS

SEQ ID NO:4 – Secuencia de aminoácido CDR1 de la cadena pesada C1273

GFTFSSYTMS

SEQ ID NO:5 – Secuencia de aminoácido CDR2 de la cadena pesada C1273

TISSGGTYTYYPDSVKG

SEQ ID NO:6 – Secuencia de aminoácido CDR3 de la cadena pesada C1273

DNHAYDRGPF

SEQ ID NO:7 – Secuencia de Nucleotidos de la cadena ligera C1273

Atggattcacaggccaggttcttttgttactgctgctatgggtttctggtacctgtggggacattgt
 gatgtcacagtccccatcctccctagttgtgtcagttggagagaaggttactatgagctgcaagtcca
 5 gtcagaacctcttttataggagtaataaaaagaaccacttggcctggtaccagcagaaaccagggcag
 tctcctacactgctgatttactggacgtccactaggggaatctgggggtccctgatcgcttcacaggcag
 tggatctgggacagatttctactctcaccatcagccgtgtgaaggctgaagacctggcagtttattact
 10 gtcagcaatattatagctatcctccgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaa

SEQ ID NO:8 – Secuencia de aminoácido de la cadena ligera C1273

MDSQAQVLLLLLLWVSGTCGDIVMSQSPSSLVVSVGEKVTMSCKSSQNLFYRSNQKNHLAWYQQKPGQ
 15 SPTLLIYWTSTRESGVDPDRFTGSGSGTDFTLTISRKAEDLAVYYCQQYYSYPPTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:9 – Secuencia de aminoácido CDR1 de la cadena ligera C1273

KSSQNLFYRSNQKNHLA

SEQ ID NO:10 – Secuencia de aminoácido CDR2 de la cadena ligera C1273

WTSTRES

SEQ ID NO:11 – Secuencia de aminoácido CDR2 de la cadena ligera C1273

QQYYSYPPT

SEQ ID NO:12 – Secuencia de nucleótido de la cadena pesada C1269

Atgagcagtgaacacagaccctcaccatgaacttcgggctcagattgattttccttgctcctgacttt
 aaaagggtgtccagtgtgacgtgaacttgggtggagctctgggggaggcttagtgaagcctggaggggtccc

tgaaactctcctgtgcagcctctggattcactttcagtagctataccatgtcttgggttcgccagact
 ccggagaagaggctggagtgggtcgcaaccattagtagtggtggtacttacacctactatccagacag
 40 tgtgaagggccgattcaccatttccagagacaatgccaagaatacattgtatctgcaaatagagcagtc
 tgaagtctgaggacacagccatcttttattgtacaagagataaccatgcttacgacaggggccccttcc
 ttgactcctggggccaaggcgccactctcacagtctcctca

SEQ ID NO:13 – Secuencia de aminoácido de la cadena pesada C1269

MSSEHRPLTMNFGRLRLIFLVLTALKGVQCDVNLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYTMSWVRQT
 PEKRLIEWVATISSGGTYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSLKSSEDTAIFYCTRDNHAYDRGPF
 50 FDSWGQGATLTVSS

SEQ ID NO:14 – Secuencia de aminoácido CDR1 de la cadena pesada C1269

GFTFSSYTMS

SEQ ID NO:15 – Secuencia de aminoácido CDR2 de la cadena pesada C1269

ISSGGTYTYYPDSVKG

SEQ ID NO:16 – Secuencia de aminoácido CDR3 de la cadena pesada C1269

DNHAYDRGPFFDS

SEQ ID NO:17 – Secuencia de Nucleotidos de la cadena ligera C1269

Atggattcacaggcccaggttcttatgttactgctgctatgggtttctggtacctgtggggacattgt
gatgtcacagtctccatccctccctagctgtgtcagttggagagaaggttactatgagctgcaagtcca
5 gtcagaacctcttttataggaataatcaaaagaactacttggcctggtaccagcagaaaccagggcag
tctcctacactgctgatttactggacgtccactagggagtctggggtccctgatcgcttcacaggcag
tggatctgggacagatttctcctcaccatcagccgtgtgaaggctgaagacctggcagtttattact
10 gtcagcaatattatagctatcctccgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaa

SEQ ID NO:18 – Secuencia de aminoácido de la cadena ligera C1269

MDSQAQVLMLLLLWVSGTCGDIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSCKSSQNLFYRNNQKNYLAWYQQKPGQ
15 SPTLLIYWTSTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISR VKAEDLAVYYCQQYYSPPTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:19 – Secuencia de aminoácido CDR1 de la cadena ligera C1269

KSSQNLFYRNNQKNYLA

SEQ ID NO:20 – Secuencia de aminoácido CDR2 de la cadena ligera C1269

YWTSTRES

SEQ ID NO:21 – Secuencia de aminoácido CDR3 de la cadena ligera C1269

QQYYSPPT

SEQ ID NO:22 – Secuencia de Nucleotidos de la cadena pesada C1275

Atgtacttgggactgaactgtgtattcatagtttttctctttaaagggtgtccagagtgaagtgaacct
tgaggagtctggaggaggcttgggtgcaacctggaagatccatgaaactctcctgtgttgccctctggat
35 tcaactttcagtaactactggatgacctgggtccgccagtctccagagaaggggcttgagtgggttgct
gaaattagattgaaatctaataattatgcaacacattatgcggagtctgtgaaagggagggttcaccat
ctcaagagatgattccaaaagtagtgtctacctgcaaatgaacaacttaagagctgaagacactgcc
40 tttattactgtaccaggggggggggttacgacgtaggagcctgggttgcttactggggccaagggact
ctggctcactgtctctgca

SEQ ID NO:23 – Secuencia de aminoácido de la cadena pesada C1275

MYLGLNCVFI VFLKGVQSEVNLEESGGGLVQPGSRMKLSCVASGFTFSNYWMTWVRQSPEKGLEWVA
EIRLKSNNYATHYAESVKGRFTISRDDSKSSVYLQMNRLRAEDTAIYYCTRGGGYDVGAWFAYWGQGT
50 LVTVSA

SEQ ID NO:24 – Secuencia de aminoácido CDR1 de la cadena pesada C1275

GFTFSNYWMT

SEQ ID NO:25 – Secuencia de aminoácido CDR2 de la cadena pesada C1275

EIRLKSNNYATHYAESVKG

SEQ ID NO:26 – Secuencia de aminoácido CDR3 de la cadena pesada C1275

GGGYDVGAWFAY

SEQ ID NO:27 – Secuencia de Nucleotidos de la cadena ligera C1275

Atggagtcagacacactcctgctatgggtgctgctgctctgggtccaggctccactggtgacattgt
 5 gctcacccaatctccagcttctttggctgtgtctctagggcagagagccaccatctcctgcagagcca
 gtgaaaatgttgaatattatggcacaggtttaattcagtgggtaccaacagaaaccaggacagccaccc
 aaactcctcatctatgcttcatccaacgtagaatctgggggccctgccagggttagtggtcagtggtc
 10 tgggacagacttcagcctctacatccatcctgtggaggaggatgatattgcaatgtatttctgtcagc
 aaagtaggaagggttccttcgacgttcggtggaggcaccaagctggaaatcaaa

SEQ ID NO:28 – Secuencia de aminoácido de la cadena ligera C1275

15 MESDTLLLWVLLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASENVEYYGTGLIQWYQQKPGQPP
 KLLIYASSNVESGVPARFSGSGSGTDPSLYIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVPSTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO:29 – Secuencia de aminoácido CDR1 de la cadena ligera C1275

20 RASENVEYYGTGLIQ

SEQ ID NO:30 – Secuencia de aminoácido CDR2 de la cadena ligera C1275

25 ASSNVES

SEQ ID NO:31 – Secuencia de aminoácido CDR3 de la cadena ligera C1275

30 QQSRKVPST

SEQ ID NO:32 – Secuencia de Nucleotidos de la cadena pesada C1249

35 Atgggtgttggggctgaagtgggttttctttgttgtttttatcaagggtgtgcattgtgaggtgcaact
 tgttgagtcctgggtggaggattggtgcagcctaaaggatcattgaaactctcatgtgccgcctctggtt
 tcaacttcaatacctatgccatgcactgggtctgccaggctccaggaaagggtttggaatggattggt
 40 cgcataagaagtaaaagtcataattatgcaacagactatgccgatccagtgaagacagattcaccat
 ctccagagatgattcacaaggcttgcctctatctgctaataaaccctgaaaactgaggacacagcca
 tgtattactgtatgagggagggaatctatggtagttttgcttactggggccaagggaactctggtcact
 45 gtctctgca

SEQ ID NO:33 – Secuencia de aminoácido de la cadena pesada C1249

50 MVLGLKWVFFVVFYQGVHCEVQLVESGGGLVQPKGSLKLSAASGFNFTYAMHWVCAPGKGLEWIG
 RIRSKSHNYATDYADPVKDRFTISRDDSQGLLYLLMNNLKTEDTAMYYCMREGIYGSFAYWGQGLVT
 VSA

55 SEQ ID NO:34 – Secuencia de aminoácido CDR1 de la cadena pesada C1249

GFNFTYAMH

SEQ ID NO:35 – Secuencia de aminoácido CDR2 de la cadena pesada C1249

60 IRSKSHNYATDYADPVKD

SEQ ID NO:36 – Secuencia de aminoácido CDR3 de la cadena pesada C1249

65 EGIYGSFAY

SEQ ID NO:37 – Secuencia de Nucleotidos de la cadena ligera C1249

Atggagacagacacactcctggttatgggtactgctgctctgggttccagggtccactggtgacattgt
 5 gctgacacagtcctcctgcttccttagctgtatctctggtggcagagggccaccatctcatgcagggcca
 gcaaaagtgtcagttcatctgcctatagttttttccactggtaccaacagaagccaggacagccaccc
 aaactcctcatctatcttgcacccaacctaacaatctgggggtccctgccagggttcagtggcagtgggtc
 10 tgggacagacttcaccctcaacatccatcctgtggaggcggaggatgctgcaacctattactgtcaac
 acagtggggagcttccattcacgttcgggtcggggacaaagttggaaataaaa

SEQ ID NO:38 – Secuencia de aminoácido de la cadena ligera C1249

METDTLLLLWVLLWVPGSTGDIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSSSAYSFFHWYQQKPGQPPKL
 LIYLASNLSQSGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEAEDAATYYCQHSGLPFTFGSGTKLEIK

SEQ ID NO:39 – Secuencia de aminoácido CDR1 de la cadena ligera C1249

CRASKSVSSSAYSFFH

SEQ ID NO:40 – Secuencia de aminoácido de la cadena ligera C1249

LASNLSQ

SEQ ID NO:41 – Secuencia de aminoácido de la cadena ligera C1249

CQHSGLPFT

LISTADOS DE SECUENCIAS

<110> > Centocor, Inc.

<120> Anticuerpos Anti-IL-23, Composiciones, procedimientos y usos

<130> CEN5103PCT

<140> A ser asignado

<141> 2006-06-30

<150> 60/695,831

<151> 2005-06-30

<160> 41

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 189

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

ES 2 710 289 T3

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

<210> 2
<211> 450
30 <212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 2

35 atgagcagtg aacacagacc cctcaccatg aacttcgggc tcagattgat tttccttgct 60
cttacttttaa aagggtgtcca gtgtgacgtg aacttggtgg agtctggggg aggcttagtg 120
aagcctggag ggtccctgaa actctoctgt gcagcctctg gattcacttt cagtagctat 180
accatgtctt gggttcgcca gactccggag aagaggctgg agtgggtcgc aaccattagt 240
40 agtgggtgta cttacaccta ctatccagac agtgtgaagg gccgattcac catctccaga 300
gacaatgcca agaacaccct gtacctgcaa atgagcagtc tgaagtctga ggacacagcc 360
atgttttact gtacaagaga taaccatgct tacgacaggg gccctttctt tgactactgg 420
ggccaaggcg ccactctcac agtctctca 450

45 <210> 3
<211> 150
<212> PRT
<213> Homo sapiens

50 <400> 3

55

60

65

ES 2 710 289 T3

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

<210> 4
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser
 1 5 10

<210> 5
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 5
 Thr Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 6
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 7
 <211> 399
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<400> 7

65

ES 2 710 289 T3

```

      atggattcac aggccaggt tcttttgta ctgctgctat gggtttctgg tacctgtggg      60
      gacattgtga tgtcacagtc cccatcctcc ctagttgtgt cagttggaga gaagggttact    120
      atgagctgca agtccagtc gaacctcttt tataggagta atcaaaagaa ccacttggcc      180
      tggtagcagc agaaaccagg gcagtctcct acactgctga tttactggac gtccactagg      240
5      gaatctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc      300
      atcagccgtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat      360
      cctccgacgt tcggtggagg caccaagctg gaaatcaaa                               399

```

10 <210> 8
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 8

```

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

```

<210> 9
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 9

```

45      Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr Arg Ser Asn Gln Lys Asn His Leu
      1          5          10          15
      Ala

```

<210> 10
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 10

```

55      Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser
          1          5

```

<210> 11
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 11

65

ES 2 710 289 T3

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr
1 5

5 <210> 12
<211> 450
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 12

15	atgagcagtg aacacagacc cctcaccatg aacttcggggc tcagattgat tttccttgtc	60
	ctgacttttaa aaggtgtcca gtgtgacgtg aacttggtgg agtctggggg aggccttagtg	120
	aagcctggag ggtccctgaa actctcctgt gcagcctctg gattcacttt cagtagctat	180
	accatgtcctt gggttcgcca gactccggag aagaggctgg agtgggtcgc aaccattagt	240
	agtgggtggta cttacaccta ctatccagac agtgtgaagg gccgattcac catttccaga	300
	gacaatgcca agaatacatt gtatctgcaa atgagcagtc tgaagtctga ggacacagcc	360
	atcttttatt gtacaagaga taacctgct tacgacaggg gccctttctt tgactcctgg	420
20	ggccaaggcg ccactctcac agtctcctca	450

<210> 13
<211> 150
<212> PRT
25 <213> Homo sapiens

<400> 13

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

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
55 <213> Homo sapiens

<400> 14

60	Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser	1 5 10
----	---	--------

<210> 15
<211> 16
<212> PRT
65 <213> Homo sapiens

ES 2 710 289 T3

<400> 15

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

<210> 16

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Asp Asn His Ala Tyr Asp Arg Gly Pro Phe Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 17

<211> 399

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 17

atggattcac aggccccaggt tcttatgtta ctgctgctat gggtttctgg tacctgtggg 60
gacattgtga tgtcacagtc tccatcctcc ctagctgtgt cagttggaga gaaggttact 120
atgagctgca agtccagtc gaacctcttt tataggaata atcaaaagaa ctacttggcc 180
tggtaccagc agaaaccagg gcagtctcct acactgctga tttactggac gtccactagg 240
gagtctgggg tccctgatcg cttcacaggc agtggatctg ggacagattt cactctcacc 300

atcagccgtg tgaaggctga agacctggca gtttattact gtcagcaata ttatagctat 360
cctccgacgt tcggtggagg caccaagctg gaaatcaaa 399

<210> 18

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

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

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

ES 2 710 289 T3

<213> Homo sapiens

<400> 19

5 Lys Ser Ser Gln Asn Leu Phe Tyr Arg Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

10 <210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens

15 <400> 20

Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

20 <210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 21

Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Pro Thr
1 5

30 <210> 22
<211> 426
<212> ADN
35 <213> Homo sapiens

<400> 22

40 atgtacttgg gactgaactg tgtattcata gtttttctct taaaaggtgt ccagagtgaa 60
gtgaaccttg aggagtcttg aggaggcttg gtgcaacctg gaagatccat gaaactctcc 120
tgtgttgcct ctggattcac tttcagtaac tactggatga cctgggtccg ccagtctcca 180
gagaaggggc ttgagtgggt tgctgaaatt agattgaaat ctaataatta tgcaacacat 240
tatgcgaggt ctgtgaaagg gaggttcacc atctcaagag atgattccaa aagtagtgtc 300
tacctgcaaa tgaacaactt aagagctgaa gacactgcc a tttattactg taccaggggg 360
45 gggggttacg acgtaggagc ctggtttgct tactggggcc aagggactct ggtcactgtc 420
tctgca 426

50 <210> 23
<211> 142
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

55

60

65

ES 2 710 289 T3

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

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<400> 24

30 Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Thr
 1 5 10

<210> 25

<211> 19

<212> PRT

35 <213> Homo sapiens

<400> 25

40 Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu Ser
 1 5 10 15
 Val Lys Gly

<210> 26

<211> 12

45 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

50 Gly Gly Gly Tyr Asp Val Gly Ala Trp Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 27

<211> 393

55 <212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 27

60

65

ES 2 710 289 T3

```

      atggagtcag acacactcct gctatgggtg ctgctgctct gggttccagg ctccactggt      60
      gacattgtgc tcacccaate tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagagccacc      120
      atctcctgca gagccagtga aaatgttgaa tattatggca caggtttaat tcagtgggtac      180
      caacagaaac caggacagcc acccaaactc ctcattctatg cttcatccaa cgtagaatct      240
5      ggggtccctg ccaggtttag tggcagtggg tctgggacag acttcagcct ctacatccat      300
      cctgtggagg aggatgatat tgcaatgtat ttctgtcagc aaagtaggaa ggttccttcg      360
      acgttcgggtg gaggcaccaa gctggaaatc aaa                                393

```

10 <210> 28
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 28

```

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

```

<210> 29
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 29

```

45      Arg Ala Ser Glu Asn Val Glu Tyr Tyr Gly Thr Gly Leu Ile Gln
      1          5          10          15

```

<210> 30
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 30

```

55      Ala Ser Ser Asn Val Glu Ser
      1          5

```

<210> 31
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 31

65

ES 2 710 289 T3

Gln Gln Ser Arg Lys Val Pro Ser Thr
1 5

5 <210> 32
<211> 417
<212> ADN
<213> Homo sapiens

10 <400> 32

atggtggttg	ggctgaagtg	ggttttcttt	gttggttttt	atcaaggtgt	gcattgtgag	60
gtgcaacttg	ttgagtcttg	tggaggattg	gtgcagccta	aaggatcatt	gaaactctca	120
tgtgccgcct	ctggttttcaa	cttcaatacc	tatgccatgc	actgggtctg	ccagggtcca	180
ggaaaggggt	tggaatggat	tggtcgcata	agaagtaaaa	gtcataatta	tgcaacagac	240
tatgccgata	cagtgaaaga	cagattcacc	atctccagag	atgattcaca	aggcttgctc	300
tatctgctaa	tgaacaacct	gaaaactgag	gacacagcca	tgtattactg	tatgaggagg	360
ggaatctatg	gtagtgttgc	ttactggggc	caagggactc	tggtcactgt	ctctgca	417

20 <210> 33
<211> 139
<212> PRT
<213> Homo sapiens

25 <400> 33

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

50 <210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens

55 <400> 34

Gly Phe Asn Phe Asn Thr Tyr Ala Met His
1 5 10

60 <210> 35
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

65 <400> 35

ES 2 710 289 T3

```

      Ile Arg Ser Lys Ser His Asn Tyr Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Pro Val
      1           5           10           15
      Lys Asp

5  <210> 36
   <211> 9
   <212> PRT
   <213> Homo sapiens

10 <400> 36

      Glu Gly Ile Tyr Gly Ser Phe Ala Tyr
      1           5

15 <210> 37
   <211> 393
   <212> ADN
   <213> Homo sapiens

20 <400> 37

      atggagacag acacactcct gttatgggta ctgctgctct gggttccagg ttccactggc      60
      gacattgtgc tgacacagtc tctgtcttcc ttagctgtat ctctggggca gagggccacc      120

25

      atctcatgca gggccagcaa aagtgtcagt tcatctgcct atagtttttt cacttggtac      180
      caacagaagc caggacagcc acccaaactc ctcatctatc ttgcatccaa cctacaatct      240
      ggggtccctg ccagggttcag tggcagtggg tctgggacag acttcaccct caacatccat      300
      cctgtggagg cggaggatgc tgcaacctat tactgtcaac acagtgggga gcttccattc      360
      acgttcgggt cggggacaaa gttggaata aaa                                393

35 <210> 38
   <211> 131
   <212> PRT
   <213> Homo sapiens

40 <400> 38

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

60 <210> 39
   <211> 16
   <212> PRT
   <213> Homo sapiens

```

ES 2 710 289 T3

<400> 39

	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Ser	Val	Ser	Ser	Ser	Ala	Tyr	Ser	Phe	Phe	His
5	1				5					10					15	

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 40

				Leu	Ala	Ser	Asn	Leu	Gln	Ser
15				1				5		

<210> 41

<211> 10

<212> PRT

20 <213> Homo sapiens

<400> 41

				Cys	Gln	His	Ser	Gly	Glu	Leu	Pro	Phe	Thr
25				1				5					10

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo para IL-23p19 aislado, en donde dicho anticuerpo se une a IL-23p19 humano o un fragmento del mismo en un epítipo que comprende los residuos de aminoácidos 93-102 de la SEC ID NO: 1.

2. Un anticuerpo par aaislado IL-23p19 de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos una región variable de la cadena ligera y al menos una región variable de la cadena pesada:

(i) dicha región variable de la cadena ligera comprendiendo:

una secuencia de aminoácidos de CDRL1 de la SEC ID N°: 19;
una secuencia de aminoácidos de CDRL2 de la SEC ID N°: 20; y
una secuencia de aminoácidos de CDRL3 de la SEC ID N°: 21,

y dicha región variable de la cadena pesada comprendiendo:

una secuencia de aminoácidos de CDRH1 de la SEC ID N°: 14;
una secuencia de aminoácidos de CDRH2 de la SEC ID N°: 15; y
una secuencia de aminoácidos de CDRH3 de la SEC ID N°: 16; o

(ii) dicha región variable de la cadena ligera comprendiendo:

una secuencia de aminoácidos de CDRL1 de la SEC ID N°: 39;
una secuencia de aminoácidos de CDRL2 de la SEC ID N°: 40; y
una secuencia de aminoácidos de CDRL3 de la SEC ID N°: 41,

y dicha región variable de la cadena pesada comprendiendo:

una secuencia de aminoácidos de CDRH1 de la SEC ID N°: 34;
una secuencia de aminoácidos de CDRH2 de la SEC ID N°: 35; y
una secuencia de aminoácidos de CDRH3 de la SEC ID N°: 36.

3. Un anticuerpo aislado para IL-23p19 de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende:

(i) una secuencia de aminoácidos variable de la cadena ligera de la SEC ID NO: 18 y una secuencia de aminoácidos variable de la cadena pesada de la SEC ID NO: 13; o

(ii) una secuencia de aminoácidos variable de la cadena ligera de la SEC ID NO: 38 y una secuencia de aminoácidos variable de la cadena pesada de la SEC ID NO: 33.

4. Un anticuerpo aislado para IL-23p19 de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde dicho anticuerpo se selecciona del grupo que consiste de quimérico, humanizado, CDR-injertado, y diseñado.

5. Un anticuerpo par aIL-23p19 aislado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde dicho anticuerpo se une a IL-23p19 con al menos una afinidad seleccionada de al menos 10^{-9} M, al menos 10^{-10} M y al menos 10^{-11} M, según lo determinado por resonancia de plasmones de superficie o el método Kinexa, opcionalmente en donde dicho anticuerpo se une a IL-23p19 con una afinidad entre aproximadamente $3,38 \times 10^{-10}$ M y aproximadamente $4,3 \times 10^{-11}$ M, según lo determinado por resonancia de plasmones de superficie.

6. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica un anticuerpo par aIL-23p19 aislado de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5.

7. Una molécula de ácido nucleico aislada de acuerdo con la reivindicación 6, que comprende:

(i) una secuencia de nucleótidos de cadena ligera de la SEC ID NO: 17; y/o una secuencia de nucleótidos de cadena pesada de la SEC ID N°: 12; o

(ii) una secuencia de nucleótidos de cadena ligera de la SEC ID NO: 37; y/o una secuencia de nucleótidos de cadena pesada de la SEC ID NO: 32.

8. Una célula huésped procariota o eucariota que comprende la molécula de ácido nucleico aislada de acuerdo con la reivindicación 6 o la reivindicación 7, opcionalmente en donde dicha célula huésped es al menos una seleccionada de células COS-I, COS-7, HEK293, BHK21, CHO, BSC-I, Hep G2, 653, SP2/0, 293, HeLa, de mieloma o de linfoma, o cualquier derivado, célula inmortalizada o transformada de las mismas.

9. Un método para producir al menos un anticuerpo par aIL-23p19, que comprende traducir la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 6 o la reivindicación 7 en condiciones *in vitro*, *in vivo* o *in situ*, de tal

manera que el anticuerpo par aIL-23p19 se expresa en cantidades detectables o recuperables.

10. Una composición que comprende por lo menos un anticuerpo aislado para IL-23p19 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y al menos un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, que comprende además opcionalmente al menos un compuesto o polipéptido seleccionado de un marcador o informador detectable, un antagonista de TNF, un fármaco antiinfeccioso, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (SNC), un fármaco para el sistema nervioso autónomo (ANS), un fármaco para el tracto respiratorio, un fármaco para el tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para equilibrio de líquidos o electrolitos, un fármaco hematológico, un antineoplásico, un fármaco de inmunomodulación, un fármaco oftálmico,ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutricional, una citoquina y un antagonista de citoquinas.

11. Una composición que comprende una cantidad eficaz de al menos un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para su uso en terapia.

12. Una composición que comprende una cantidad eficaz de al menos un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para su uso en un método para diagnosticar o tratar una afección relacionada con IL-23 en una célula, tejido, órgano o animal, en donde la afección relacionada con IL-23 se selecciona del grupo que consiste de psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple, neuritis óptica y síndrome clínicamente aislado.

13. La composición de acuerdo con la reivindicación 12:

(i) en donde dicha cantidad eficaz es aproximadamente 0,001-50 mg/kilogramo de dichas células, tejido, órgano o animal;

(ii) en donde dicho contacto o dicha administración es por al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intraarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelular, intracerebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraosteal, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretiniana, intraespinal, intrasinoval, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal y transdérmico;

(iii) que comprende además administrar, antes, concurrentemente o después de dicho contacto o administración, al menos una composición que comprende una cantidad eficaz de al menos un compuesto o polipéptido seleccionado de un marcador o informador detectable, un fármaco antiinfeccioso, un fármaco para el sistema cardiovascular (CV), un fármaco para el sistema nervioso central (SNC), un fármaco para el sistema nervioso autónomo (ANS), un fármaco para el tracto respiratorio, un fármaco para el tracto gastrointestinal (GI), un fármaco hormonal, un fármaco para el equilibrio de fluidos o electrolitos, un fármaco hematológico, un antineoplásico, un fármaco de inmunomodulación, un fármaco oftálmico,ótico o nasal, un fármaco tópico, un fármaco nutricional, una citoquina y un antagonista de citoquinas.

14. Un dispositivo médico, que comprende un anticuerpo par aIL-23p19 de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicho dispositivo es adecuado para poner en contacto o administrar dicho anticuerpo par IL-23p19 por al menos un modo seleccionado de parenteral, subcutáneo, intramuscular, intravenoso, intraarticular, intrabronquial, intraabdominal, intracapsular, intracartilaginoso, intracavitario, intracelular, intracerebelar, intracerebroventricular, intracólico, intracervical, intragástrico, intrahepático, intramiocárdico, intraosteal, intrapélvico, intrapericárdico, intraperitoneal, intrapleural, intraprostático, intrapulmonar, intrarrectal, intrarrenal, intrarretiniano, intraespinal, intrasinoval, intratorácico, intrauterino, intravesical, intralesional, bolo, vaginal, rectal, bucal, sublingual, intranasal y transdérmico

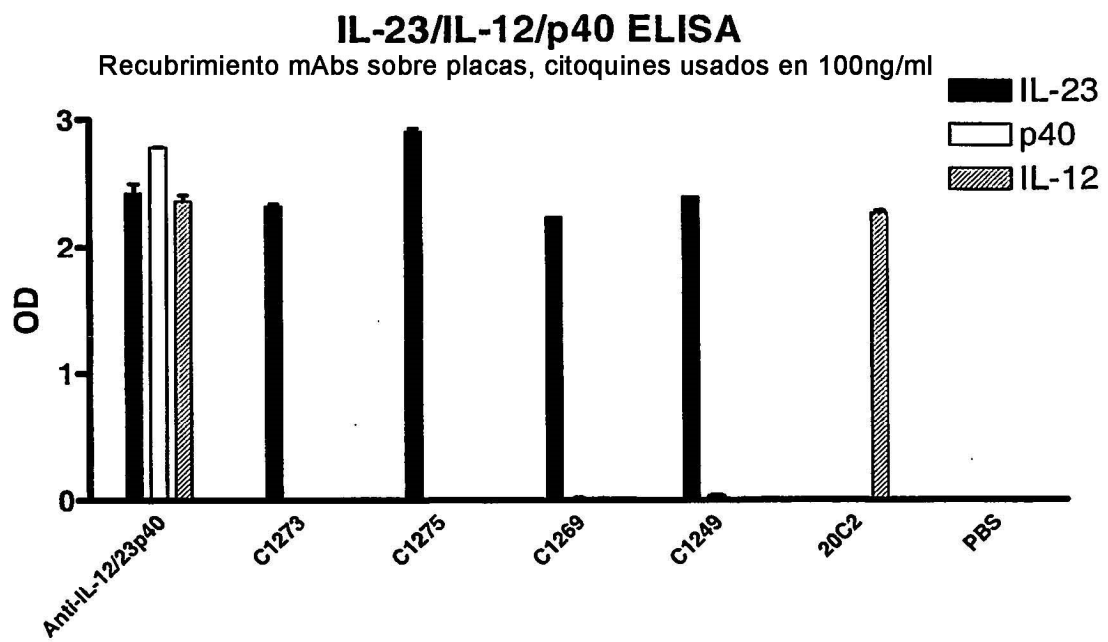


Figura 1

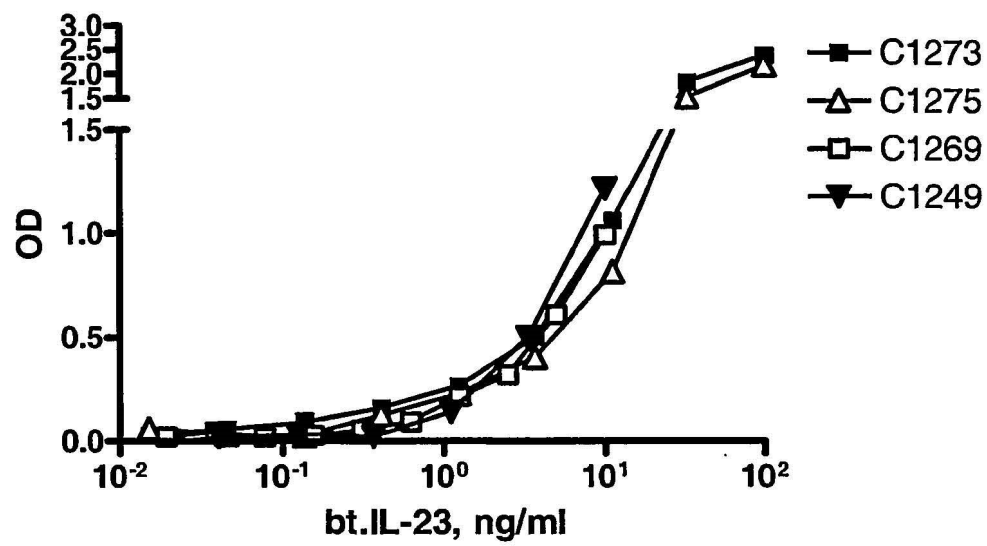


Figura 2

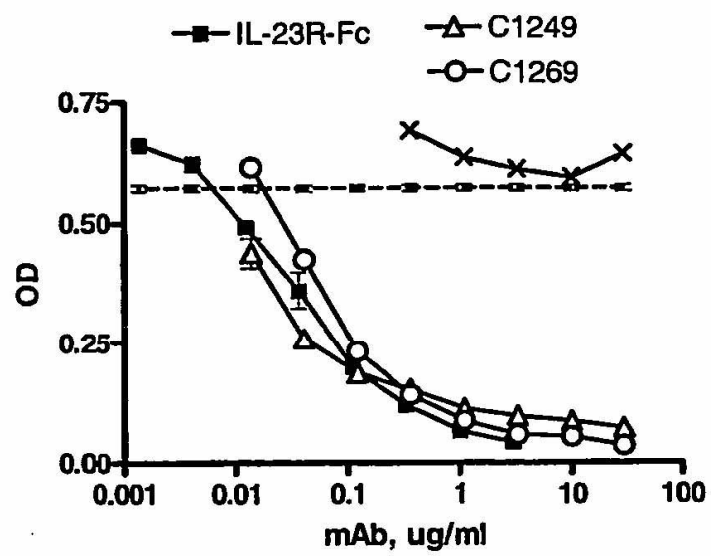


Figura 3A

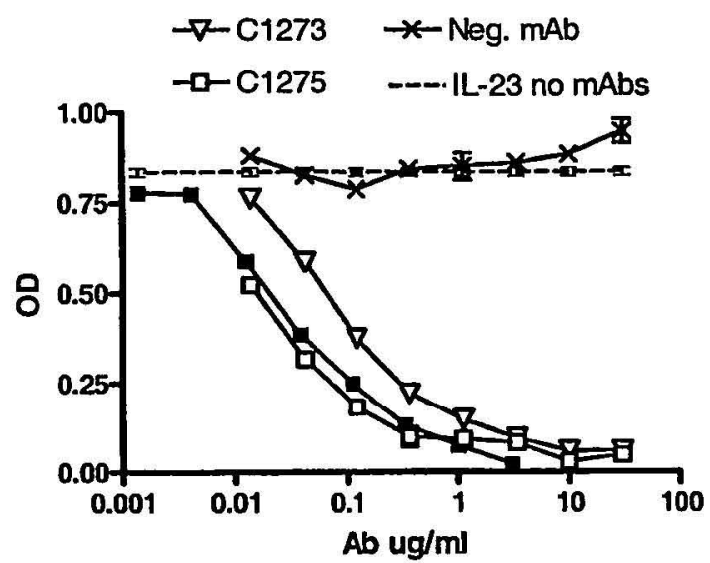


Figura 3B

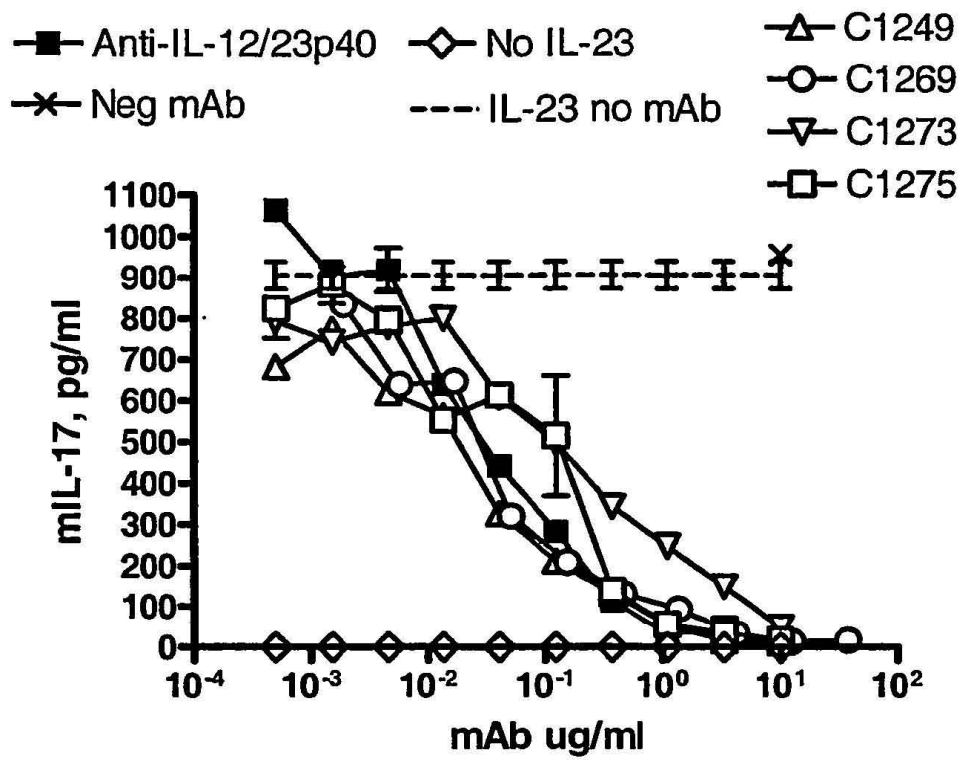


Figura 4

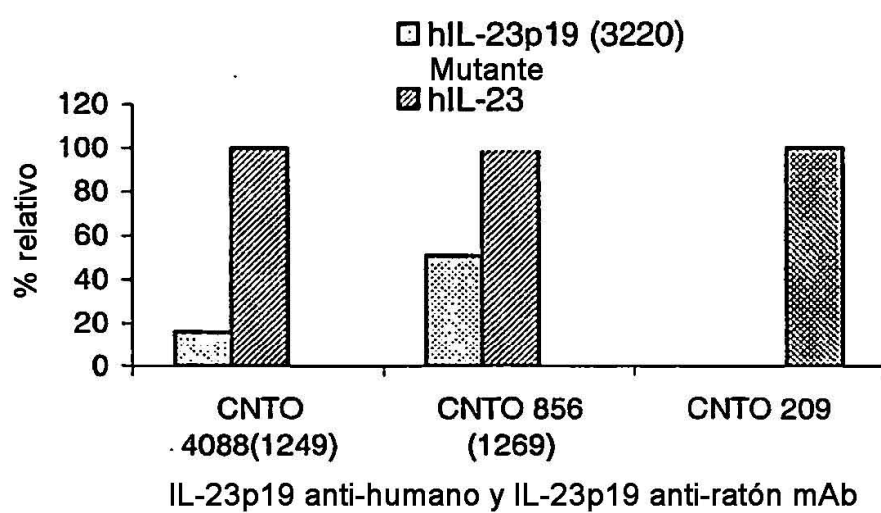


Figura 5

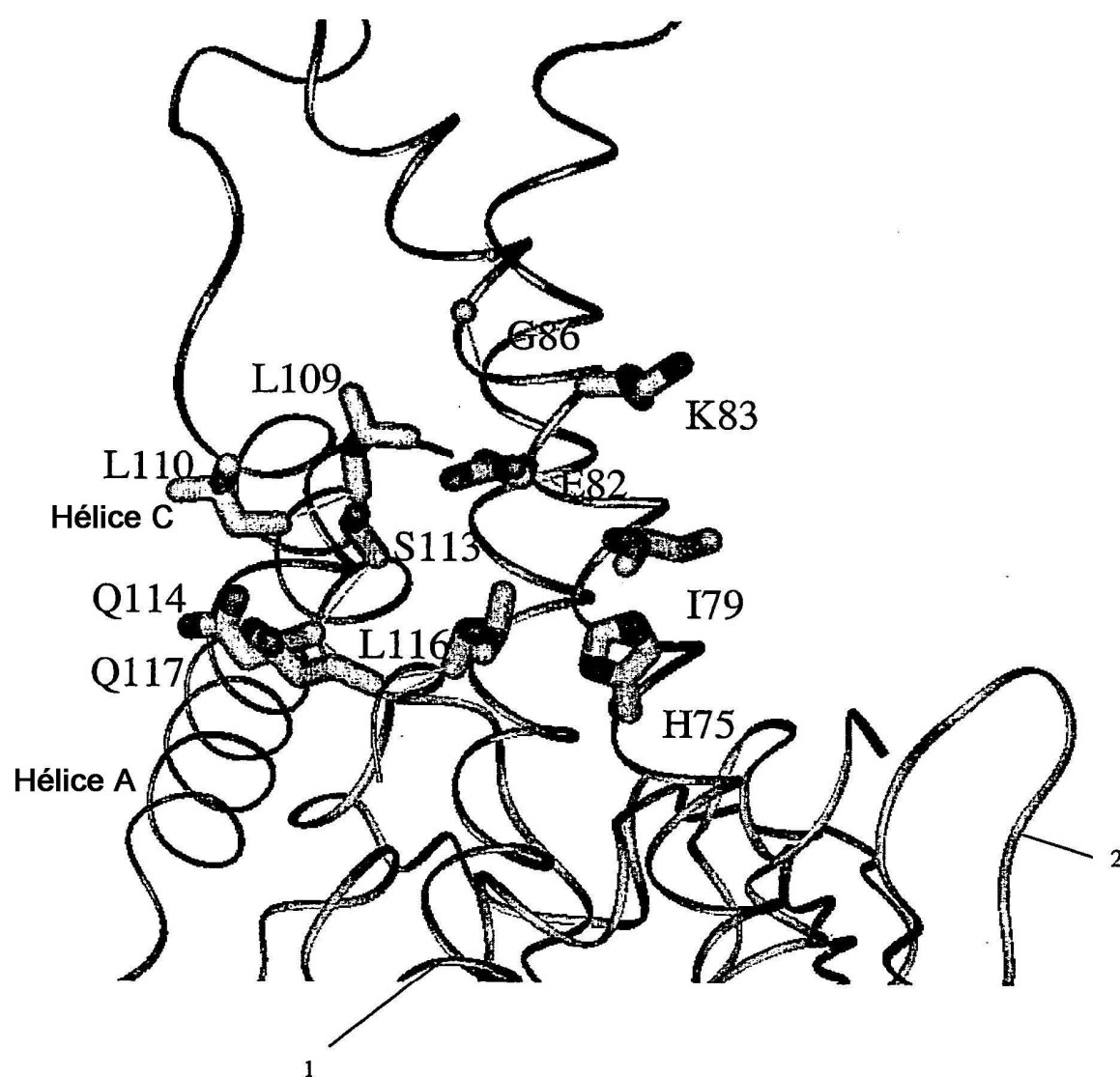


Figura 6

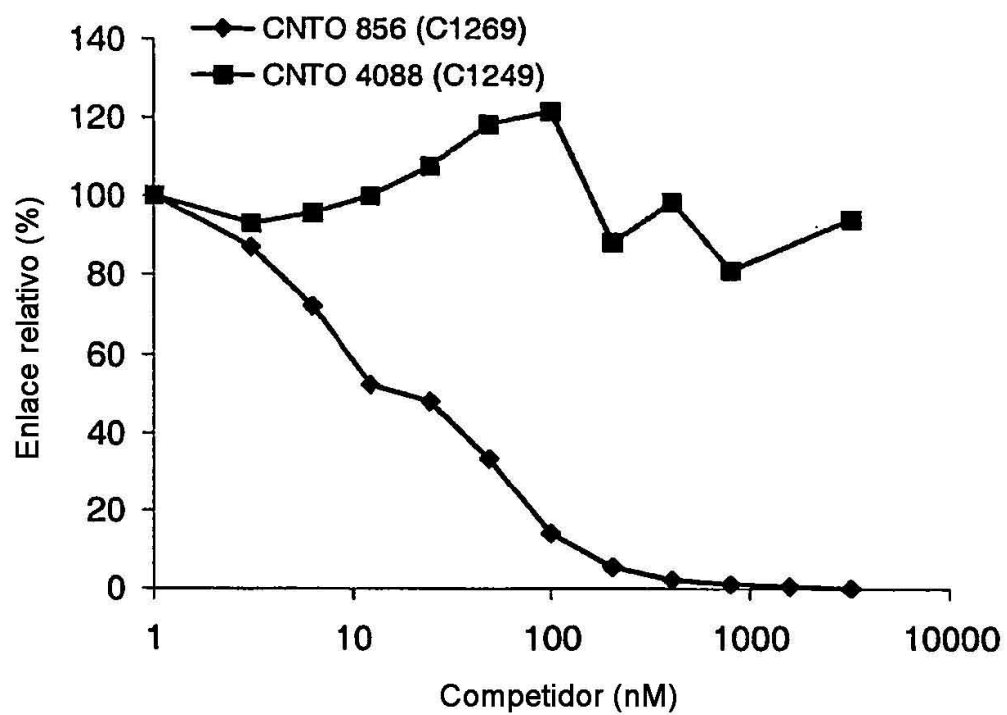


Figura 7

Impacto de las Mutaciones IL-23 en enlaces de CNTO 4088 (C1249)

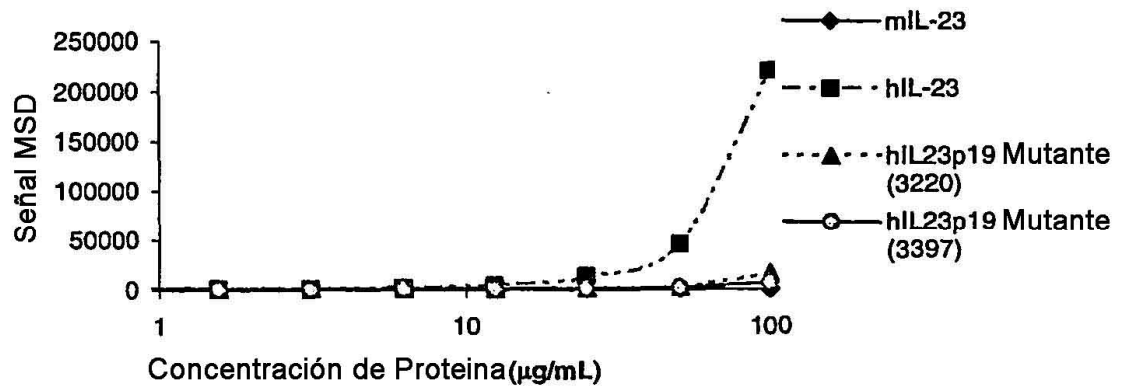


Figura 8A

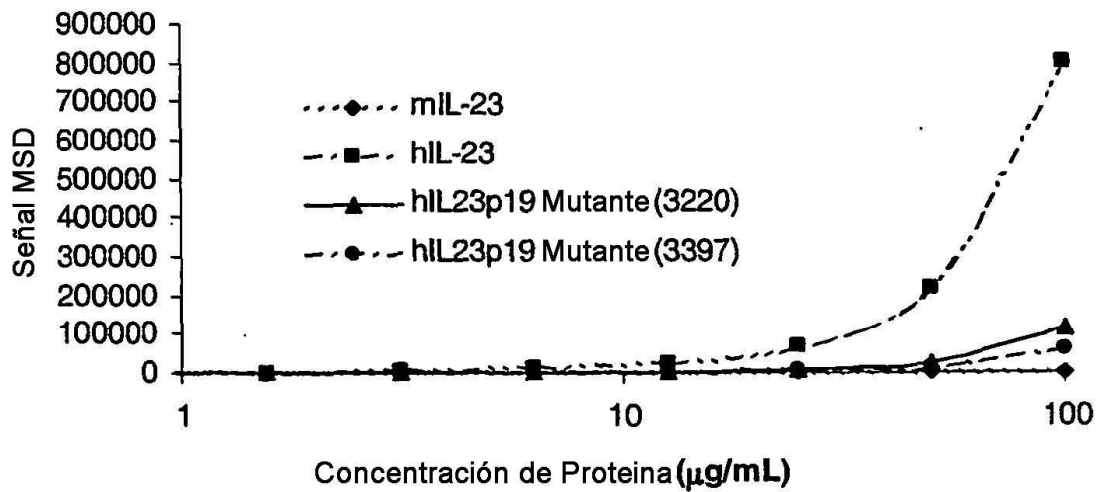


Figura 8B

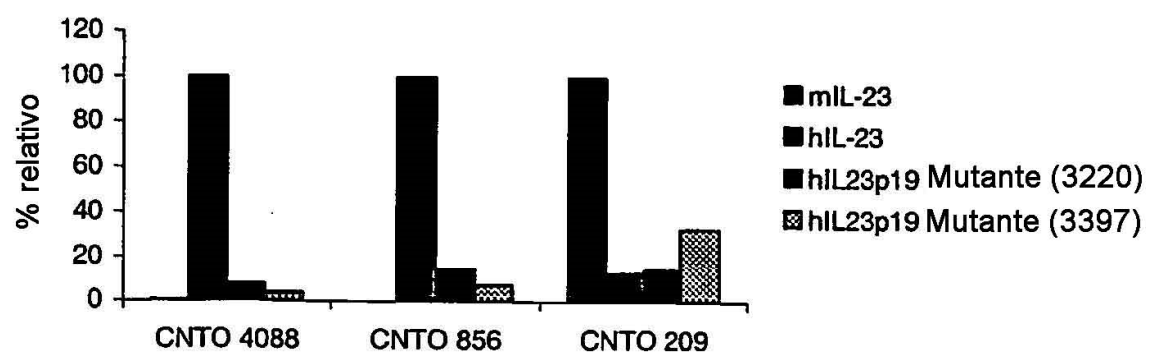


Figura 9