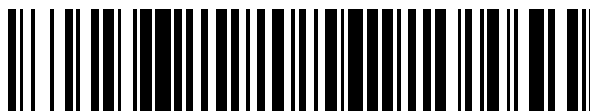


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 208**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.09.2013 PCT/US2013/058773**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.03.2014 WO14039975**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2013 E 13836030 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 2892562**

54 Título: **Anticuerpos anti-MCAM y métodos de uso asociados**

30 Prioridad:

10.09.2012 US 201261698916 P

30.11.2012 US 201261797179 P

05.12.2012 US 201261797356 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.06.2019

73 Titular/es:

PROTHENA BIOSCIENCES LIMITED (100.0%)
77 Sir John Rogerson's Quay, Block C, Grand
Canal Docklands
Dublin 2 D02 T804, IE

72 Inventor/es:

FLANAGAN, KENNETH;
BAKER, JEANNE y
YEDNOCK, THEODORE A.

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 718 208 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-MCAM y métodos de uso asociados

Referencias cruzadas a solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica prioridad de la Solicitud Provisional de EE. UU. Número 61/698.916, presentada el 10 de septiembre de 2012, de la Solicitud Provisional de EE. UU. Número 61/797.179, presentada el 30 de noviembre de 2012, y de la Solicitud Provisional de EE. UU. Número 61/797.356, presentada el 15 de diciembre de 2012.

Campo de la invención

10 La presente invención se dirige a anticuerpos que se unen a la molécula de adhesión a células de melanoma (MCAM) que son capaces de bloquear la interacción entre MCAM y su ligando, la cadena alfa-4 de laminina. La presente invención también se dirige a métodos de uso de los nuevos anticuerpos anti-MCAM descritos en la presente memoria.

Referencia a un "Listado de Secuencias",**Una tabla o un listado de programas informáticos**

15 El Listado de Secuencias escrito en el archivo 436599SEQLIST.txt, se creó el 16 de septiembre de 2013 para "ANTICUERPOS ANTI-MCAM Y MÉTODOS DE USO ASOCIADOS" y es de 144.190 bytes.

Antecedentes

20 Un nuevo subconjunto de células T CD4+, denominadas células TH17 (células T auxiliares 17), se ha implicado en la patogénesis de varias enfermedades autoinmunitarias, en particular las afecciones neuroinflamatorias que involucran la infiltración en el SNC de células T, como la esclerosis múltiple y el modelo animal, encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE). Véase, por ejemplo, Cua et al., Nature 421: 744-748 (2003); véase también Iwonov et al., Cell 126: 1121-1133 (2006). Gran parte de la atención sobre la patogenidad mejorada de las células TH17 se ha centrado en su capacidad para segregar varias citoquinas seleccionadas, incluidas la IL-17 y la IL-22. Sin embargo, el papel de estas citoquinas de TH17 en sí mismo ha sido cuestionado, ya que una inactivación condicional de IL-17 es insuficiente para afectar a la progresión de la EAE. Véase, por ejemplo, Haak et al., J. Clin. Invest. 119: 61-69 (2009); véase también Kreymborg et al., J. Immunol. 179: 8098-8104 (2007). Aunque la IL-17 afecta a aspectos tan vitales de la EAE como la permeabilidad de las células endoteliales, las células TH17 parecen hacer más que producir únicamente una citoquina. Los determinantes moleculares de la función patógena de las células TH17 siguen siendo esquivos.

30 La patogenidad de las células TH17 puede explicarse parcialmente por su patrón de migración único como lo demuestra su expresión de receptores de quimioquinas. Véase, por ejemplo, Kim, Inflamm. Allergy Drug Targets 8: 221-228 (2009). Se ha establecido que las células productoras de IL-17 están enriquecidas dentro de la población CCR6+ de células T CD4+, lo que probablemente confiere un patrón de migración único a lo largo de la vasculatura. Véase, por ejemplo, Acosta-Rodriguez et al., Nat. Immunol. 8:639-646 (2007). De hecho, la expresión de CCR6 en las células T es necesaria para la migración de las células T al SNC y la progresión de la EAE. Reboldi et al., Nat. Immunol. 10: 514-523 (2009). Surgió una hipótesis de dos olas de células T, la primera es una pequeña población de células TH17 que expresan CCR6 que acumula y recluta una segunda ola más amplia de células T con un repertorio de receptores de quimioquinas más diverso. Se ha sugerido que el sitio anatómico de esta infiltración es el plexo coroideo debido a la expresión constitutiva de CCL20, un ligando conocido de CCR6. Ransohoff et al., Nat. Rev. Immunol. 3: 569-581 (2003). Se ha hecho la implicación de que la verdadera función patógena de las células TH17 reside en su reclutamiento e infiltración de tejido específicos. El documento WO 2012/170071, Yun et al., Anticancer Research, 27(6B): 4219-4224, (2007), Flanagan et al., PLOS ONE, 7(7): e40443, (2012), McGary et al., Clinical Cancer Research, 9: 6560-6566, (2003), el documento WO 03/05783, Zhang et al. Hybridoma, 27(5): 345-352, (2008) y el documento WO 03/057006 describen anticuerpos anti-MCAM.

45 Por lo tanto, todavía existe la necesidad en la técnica de identificar moléculas que estén involucradas en la infiltración de células TH17 en el SNC y contribuyan a su patogenidad. Estas moléculas pueden ser dianas para diseñar agentes terapéuticos para afecciones neuroinflamatorias, como la esclerosis múltiple (EM) y la enfermedad de Parkinson, así como otras afecciones inflamatorias mediadas por TH17 no asociadas con el sistema nervioso central. También existe la necesidad de identificar nuevos anticuerpos que puedan unirse y sean capaces de reducir, interferir o, por otra parte, bloquear la interacción entre MCAM expresada en la superficie de TH17 y su ligando identificado.

Compendio de la invención

50 Las células TH17 desempeñan un papel importante en la patogénesis de diversas enfermedades autoinmunitarias, particularmente aquellas que presentan afecciones neuroinflamatorias que involucran la infiltración de células T en el SNC. Se ha descubierto recientemente que (1) la MCAM está enriquecida selectivamente en células TH17; y (2) la

MCAM interactúa con una cadena $\alpha 4$ de laminina, tal como, por ejemplo, la cadena $\alpha 4$ de la laminina 411, presente en la membrana basal endotelial. Un antagonista de MCAM, *p.ej.*, un anticuerpo monoclonal, capaz de inhibir la unión de MCAM a una molécula que contiene una cadena $\alpha 4$ de laminina, tal como, por ejemplo, una molécula de laminina 411, puede inhibir la migración de células TH17 al SNC, y por lo tanto puede usarse como agente terapéutico para prevenir o tratar enfermedades que presentan afecciones neuroinflamatorias mediadas por TH17. Los antagonistas de MCAM, como un anticuerpo monoclonal de MCAM o un fragmento de unión a antígeno del mismo, también pueden ser útiles para prevenir o tratar una enfermedad mediada por TH17, que incluye, por ejemplo, una enfermedad autoinmunitaria, por ejemplo, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, psoriasis y artritis reumatoide.

La presente invención se dirige a nuevos anticuerpos que son capaces de unirse a la proteína MCAM en la superficie de las células y, a su vez, que son capaces de interferir con la interacción de la MCAM con su ligando, una proteína que comprende una cadena $\alpha 4$ de laminina. Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, un fragmento de anticuerpo, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo de cadena sencilla o un anticuerpo que inhibe de manera competitiva la unión de un anticuerpo anti-MCAM a su epítipo antigénico respectivo. La presente invención proporciona un anticuerpo anti-MCAM aislado, una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo, un artículo de fabricación que comprende dichos usos farmacéuticos y médicos del anticuerpo, como se define en las reivindicaciones adjuntas.

La descripción describe vectores que comprenden ADN que codifica cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente memoria y células hospedadoras que comprenden dichos vectores, en donde dichas células hospedadoras pueden ser células CHO, células de *E. coli* o células de levadura. Se describe adicionalmente, un proceso para producir cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente memoria y comprende las etapas de cultivar células hospedadoras en condiciones adecuadas para la expresión del anticuerpo deseado, y recuperar el anticuerpo deseado del cultivo celular.

En una realización, la presente invención se dirige a un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende tres regiones hipervariables de cadena ligera (HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3) y tres regiones hipervariables de cadena pesada (HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3), y en donde:

La HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74, la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75, la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79, y la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-MCAM puede ser un anticuerpo quimérico o humanizado. En otra realización, el anticuerpo anti-MCAM puede ser un anticuerpo IgG1 que puede producirse opcionalmente en bacterias o células CHO.

En otra realización más, la presente invención se dirige a un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprendiendo dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada, en donde:

(e) la región variable de la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO:70, 71 o 72 y la región variable de la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:77.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-MCAM puede ser un anticuerpo quimérico o humanizado. En otra realización, el anticuerpo anti-MCAM puede ser un anticuerpo IgG1 que puede producirse opcionalmente en bacterias o células CHO.

La presente descripción se dirige a un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une sustancialmente al mismo epítipo que, o compite por unirse a, cualquiera de los anticuerpos anti-MCAM descritos en la presente memoria.

La presente descripción se dirige a un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que bloquea la interacción entre una proteína MCAM que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:22 y una proteína que comprende una cadena $\alpha 4$ de laminina. La presente descripción se dirige a un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que bloquea la interacción entre una proteína MCAM que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO:22 y 23 y una proteína que comprende una cadena $\alpha 4$ de laminina. La presente descripción se dirige a un anticuerpo anti-MCAM aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo que no bloquea la interacción entre una proteína MCAM que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:22 y una proteína que comprende una cadena $\alpha 4$ de laminina. La presente descripción se dirige a un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que bloquea la interacción entre una proteína MCAM que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:22, 23 y 24 y una proteína que comprende una cadena $\alpha 4$ de laminina. La presente descripción se dirige a anticuerpos anti-MCAM aislados, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen a epítopos antigénicos definidos por

los dominios 1 y 2, o dominio 3 de la proteína MCAM humana. El anticuerpo anti-MCAM o fragmento del mismo no se une a una proteína que consiste en los aminoácidos 19-129 de la proteína MCAM humana.

Otras realizaciones adicionales de la presente invención se dirigen a composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente memoria, o fragmento de unión a antígeno de los mismos, y artículos de fabricación que comprenden los mismos.

La presente descripción se dirige al uso de un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno inflamatorio caracterizado por infiltración de células que expresan MCAM en un sitio de inflamación en el cuerpo. El trastorno inflamatorio puede ser un trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC) caracterizado por la infiltración de células que expresan MCAM en el SNC.

La invención también proporciona un anticuerpo anti-MCAM, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, para uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple o la enfermedad de Parkinson. La invención también proporciona un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para uso en el tratamiento de la dermatitis de contacto alérgica. La invención también proporciona un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para uso en el tratamiento de psoriasis. La invención también proporciona un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para uso en el tratamiento de artritis psoriásica. La descripción también describe el uso de un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer, por ejemplo, un tumor sólido, tal como un melanoma. La descripción también describe el uso de un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la sarcoidosis.

La presente descripción se dirige a un método para el tratamiento de un trastorno inflamatorio caracterizado por infiltración de células que expresan MCAM en un sitio de inflamación, comprendiendo el método administrar a un sujeto mamífero que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-MCAM o fragmento de unión a antígeno del mismo que inhibe la unión de MCAM a una proteína que comprende una cadena α -4 de laminina. El sujeto mamífero puede ser un ser humano y las células que expresan MCAM pueden ser células TH17.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-MCAM h2120 aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo. En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende tres regiones hipervariables de cadena ligera (HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3) y tres regiones hipervariables de cadena pesada (HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3), en donde la HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73, la HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74, la HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75, la HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:141, la HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 y la HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80. En otra realización, el anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región marco 2 (FR2) de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:134 y/o una región marco 3 (FR3) de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:135. En otra realización, el anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende además una región marco 1 (FR1) de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147; una región marco 2 (FR2) de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:148; una región marco 3 (FR3) de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149; o cualquier combinación de las mismas.

Breve descripción de los dibujos

FIGS. 1A-C. Las FIGS. 1A y 1B representan la presencia de MCAM en células CD4⁺ humanas productoras de IL-17. La FIG. 1A representa el análisis de micromatrices que muestra que MCAM es un gen regulado al alza en células TH17 tanto circulantes como activadas. La FIG. 1B representa los resultados de la clasificación de células que muestran que MCAM existe casi exclusivamente en una pequeña población de células T de memoria (células T CD45RO⁺). La FIG. 1C representa los resultados de la clasificación celular que muestran que MCAM está enriquecida en células T CD4⁺ humanas productoras de IL-17.

Las FIGS. 2A, B representan los marcadores de superficie de las células T que expresan MCAM. La FIG. 2A representa células T que expresan MCAM como células T de memoria efectoras (CCR6⁺ si bien CCR7⁻). La FIG. 2B representa el patrón de expresión de integrina de células T que expresan MCAM. La mayoría de las células T que expresan MCAM son positivas para la integrina α 4, pero en su mayoría son negativas para la integrina β 7 y positivas para β 1.

Las FIGS. 3A-F representan los efectos de diversas citoquinas en las células T de memoria CD4⁺/CD45RO⁺. La FIG. 3A representa los efectos de diversas citoquinas sobre la producción de IL-17 en células T MCAM positivas. La FIG. 3B representa el porcentaje de células que expresan MCAM después de la estimulación por varias citoquinas. Las FIGS. 3C, 3D y 3E representan los niveles de IL-17 (FIG. 3C), IL-22 (FIG. 3D) y CCL20 (FIG. 3E) en células tanto MCAM positivas como MCAM negativas después de estimulaciones con diversas citoquinas. La FIG. 3F representa los niveles intracelulares de FOXP3 en células tanto MCAM positivas como MCAM negativas.

después de estimulaciones con diversas citoquinas.

Las FIGS. 4A-H representan la identificación de la laminina 411 como el ligando de MCAM. La FIG. 4A representa la colocación del ligando de MCAM y la laminina en el plexo coroideo de ratones sanos. La FIG. 4B representa la ausencia de tinción de MCAM en el plexo coroideo de ratones sanos (se usó 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) como colorante de contraste). La FIG. 4C representa la presencia de MCAM en células endoteliales vasculares dentro del cerebro de ratones sanos (se usó DAPI como colorante de contraste). La FIG. 4D representa el patrón de expresión del ligando de MCAM tiñendo secciones de médula espinal de ratones sanos con proteína MCAM-Fc. La FIG. 4E representa la colocación del ligando de MCAM y la laminina en la médula espinal de ratones sanos. La FIG. 4F representa la localización en la matriz extracelular (MEC) del ligando de MCAM. La tinción con CD31 se usó para mostrar que la tinción de MCAM es externa a la capa de células endoteliales dentro de la vasculatura. La FIG. 4G representa la localización del ligando de MCAM dentro de las lesiones de EAE. Se ha demostrado que MCAM-Fc se coloca en la laminina dentro de la membrana basal de células endoteliales, pero no dentro de la membrana basal parenquimatosa. La FIG. 4H representa la colocación del ligando de MCAM y la laminina 411 (o cadena α -4 de laminina).

FIGS. 5A-C. La FIG 5A representa la unión específica de anticuerpos MCAM a MCAM humana y de ratón. La FIG 5B representa el bloqueo de la unión de MCAM-Fc a los tejidos por los anticuerpos MCAM. La FIG 5C representa la inhibición de la interacción entre la MCAM humana y su ligando laminina 411 por un anticuerpo monoclonal.

FIGS. 6A, B. La FIG. 6A representa la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal clon 17. La FIG 6A describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:1) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:2), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRL1 (SEQ ID NO:3), CDRL2 (SEQ ID NO:4) y CDRL3 (SEQ ID NO:5). B. La FIG. 6A representa la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal clon 17. La FIG 6B describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:6) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:7), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRH1 (SEQ ID NO:8), CDRH2 (SEQ ID NO:9) y CDRH3 (SEQ ID NO:10).

FIGS. 7A, B. La FIG. 7A representa la ausencia de MCAM en células T de un ratón no tratado previamente. La FIG 7B representa los niveles de expresión de MCAM entre esplenocitos en presencia de diversas citoquinas. Los esplenocitos se obtuvieron de ratones SJL inmunizados con PLP y se reestimularon *in vitro* con PLP.

Las FIGS. 8A, B representan los efectos del bloqueo de MCAM sobre la progresión de la enfermedad en un modelo terapéutico de EAE. Después de que aparecieran los síntomas de EAE, los ratones inmunizados con PLP se trataron por vía intraperitoneal con (1) anticuerpo anti-MCAM (clon 15) a 10 mg/kg de peso corporal, (2) el control de isotipo (Bioxcell) a 10 mg/kg de peso corporal y (3) PBS todos los días a partir de entonces. La progresión de la enfermedad (Figura 8A) y los pesos corporales (Figura 8B) se controlaron cada 2-3 días. Los datos representan la media de 15 ratones $\pm$ sem (error estándar de la media).

FIGS. 9A, B. La FIG. 9A representa la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal clon 15. La FIG 9A divulga la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:12) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:13), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRL1 (SEQ ID NO:14), CDRL2 (SEQ ID NO:15) y CDRL3 (SEQ ID NO:16). La FIG. 9B representa la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal clon 15. La FIG 9B divulga la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:17) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:18), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRH1 (SEQ ID NO:19), CDRH2 (SEQ ID NO:20) y CDRH3 (SEQ ID NO:21).

Las FIGS. 10A, B representan los resultados de una prueba de unión de dominio para anticuerpos MCAM.

Las FIGS. 11A, B representan la secuencia de aminoácidos (A) (SEQ ID NO:11 - N.º de Acceso CAA48332) y la estructura (B) para MCAM humana. En la Fig. 11A, las posiciones de los restos de aminoácidos correspondientes a los cinco dominios de inmunoglobulina de la MCAM humana son las siguientes - 1: restos de aminoácidos 19 -129; 2: restos de aminoácidos 139 -242; 3: restos de aminoácidos 244 -321; 4: restos de aminoácidos 335 -424; y 5: restos de aminoácidos 430-510) (SEQ ID N:O 22-26), que también se representan esquemáticamente en la FIG. 11B.

Las FIG. 12A, B muestran las secuencias de aminoácidos de dos isoformas de cadena α 4 de la laminina 411 humana. La FIG 12A muestra la secuencia de aminoácidos correspondiente al Número de Acceso de GenBank NP001098676 (SEQ ID NO:27) y la FIG. 12B muestra la secuencia de aminoácidos correspondiente al Número de Acceso de GenBank NP001098677 (SEQ ID NO:28).

La FIG. 13 representa la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal clon 1174.1.3. La FIG 13 describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:29) y la

secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:30), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRL1 (SEQ ID NO:31), CDRL2 (SEQ ID NO:32) y CDRL3 (SEQ ID NO:33).

La FIG. 14 representa la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal clon 1174.1.3. La FIG 14 describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:34) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:35), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRH1 (SEQ ID NO:36), CDRH2 (SEQ ID NO:37) y CDRH3 (SEQ ID NO:38).

La FIG. 15 representa la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal clon 1414.1.2. La FIG 15 describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:39) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:40), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRL1 (SEQ ID NO:41), CDRL2 (SEQ ID NO:42) y CDRL3 (SEQ ID NO:43).

La FIG. 16 representa la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal clon 1414.1.2. La FIG 16 describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:44) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:45), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRH1 (SEQ ID NO:46), CDRH2 (SEQ ID NO:47) y CDRH3 (SEQ ID NO:48).

La FIG. 17 representa la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal clon 1415.1.1. La FIG 17 divulga la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:49) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:50), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRL1 (SEQ ID NO:51), CDRL2 (SEQ ID NO:52) y CDRL3 (SEQ ID NO:53).

La FIG. 18 representa la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal clon 1415.1.1. La FIG 18 describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:54) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:55), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRH1 (SEQ ID NO:56), CDRH2 (SEQ ID NO:57) y CDRH3 (SEQ ID NO:58).

La FIG. 19 representa la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal clon 1749.1.3. La FIG 19 describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:59) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:60), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRL1 (SEQ ID NO:61), CDRL2 (SEQ ID NO:62) y CDRL3 (SEQ ID NO:63).

La FIG. 20 representa la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal clon 1749.1.3. La FIG 20 describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:64) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:65), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRH1 (SEQ ID NO:66), CDRH2 (SEQ ID NO:67) y CDRH3 (SEQ ID NO:68).

Las FIGS. 21A, B representan diferentes versiones de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal clon 2120.4.19. La FIG 21A-B describe una versión de la secuencia de ácido nucleico que codifica una región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:69), la secuencia de aminoácidos de la versión 1 de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:70), la secuencia de aminoácidos de la versión 2 de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:71), y la secuencia de aminoácidos de la versión 3 de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:72). Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRL1 (SEQ ID NO:73), CDRL2 (SEQ ID NO:74) y CDRL3 (SEQ ID NO:75).

La FIG. 22 representa la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal clon 2120.4.19. La FIG 22 describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:76) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:77), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRH1 (SEQ ID NO:78), CDRH2 (SEQ ID NO:79) y CDRH3 (SEQ ID NO:80).

Las FIGS. 23A, B representan diferentes versiones de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo monoclonal clon 2107.4.10. La FIG. 23A-B describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la versión 1 de una región variable de cadena ligera (SEQ ID NO:81), la secuencia de ácido nucleico que codifica la versión 2 de una región variable de cadena ligera (SEQ ID NO:83), la secuencia de aminoácidos de la versión 1 de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:82), y la secuencia de aminoácidos de la versión 2 de la región variable de la cadena ligera (SEQ ID NO:84). Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRL1 (SEQ ID NO:85), CDRL2 (SEQ ID NO:86) y CDRL3 (SEQ ID NO:87).

La FIG. 24 representa la región variable de la cadena pesada del anticuerpo monoclonal clon 2107.4.10. La FIG 24 describe la secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:88) y la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (SEQ ID NO:89), en orden de aparición. Las tres regiones hipervariables también se indican como CDRH1 (SEQ ID NO:90), CDRH2 (SEQ ID NO:91) y CDRH3 (SEQ ID NO:92).

La FIG 25A muestra la alineación de secuencias de las cadenas pesadas variables para los siguientes: anticuerpo anti-MCAM murino 1749.1.3 (1749.1.3_VH_pro; SEQ ID NO:93); anticuerpo anti-MCAM humanizado 1749 VH1 (h1749VH1; SEQ ID NO:94); anticuerpo anti-MCAM humanizado 1749 VH2 (h1749VH2; SEQ ID NO:95); y la secuencia variable humana IGHV3-7*02 de cadena pesada utilizada como donante de marco (U96282_VH; SEQ ID NO:96). Se utiliza la numeración de Kabat y se encierran en un recuadro las regiones hipervariables (HVR) injertadas del anticuerpo 1749.1.3 murino al marco de IGHV3-7*02 variable de cadena pesada variable. Los restos de aminoácidos en negrita en las secuencias de anticuerpos humanizados difieren de los restos correspondientes en la secuencia de anticuerpos murinos. La posición de los restos de aminoácidos canónicos y de la interfaz que pueden afectar el contacto de la CDR o la estructura de la CDR se indica con un asterisco.

La FIG 25B muestra la alineación de secuencias de las cadenas ligeras variables para los siguientes: anticuerpo anti-MCAM murino 1749.1.3 (1749.1.3_VL_pro; SEQ ID NO:97); anticuerpo anti-MCAM humanizado 1749 VL1 (h1749VL1 SEQ ID NO:98); anticuerpo anti-MCAM humanizado 1749 VL2 (h1749VL2 SEQ ID NO:99); y la secuencia variable humana X02990 IGKV4-1*01 de cadena ligera utilizada como donante de marco (X02990_VL SEQ ID NO:100). Se utiliza la numeración de Kabat y se encierran en un recuadro las regiones hipervariables (HVR) injertadas del anticuerpo 1749.1.3 murino al marco de X02990 IGKV4-1*01 variable de cadena ligera variable. Los restos de aminoácidos en negrita en las secuencias de anticuerpos humanizados difieren de los restos correspondientes en la secuencia de anticuerpos murinos. La posición de los restos de aminoácidos canónicos y de la interfaz que pueden afectar el contacto de la CDR o la estructura de la CDR se indica con un asterisco.

La FIG 26A muestra la alineación de secuencias de las cadenas pesadas variables para los siguientes: anticuerpo anti-MCAM murino 2107.4.10.18 (2107.4.10.18_VH_topo_pro; SEQ ID NO:101); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2107 VH1 (h2107VH1; SEQ ID NO:102); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2107 VH2 (h2107VH2; SEQ ID NO:103); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2107 VH3 (h2107VH3; SEQ ID NO:104); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2107 VH4 (h2107VH4; SEQ ID NO:105); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2107 VH5 (h2107VH5; SEQ ID NO:106); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2107 VH6 (h2107VH6; SEQ ID NO:107); y la secuencia variable humana AF062133 IGHV2-26*01 de cadena pesada utilizada como donante de marco (AF062133_VH; SEQ ID NO:108). Se utiliza la numeración de Kabat y se encierran en un recuadro las regiones hipervariables (HVR) injertadas del anticuerpo 2107.4.10.18 murino al marco de AF062133 IGHV2-26*01 variable de cadena pesada variable en ambas FIG.26A. Las mutaciones S30T, I37V, L48I y K71R combinadas con (i) mutaciones de los restos N/D encerrados en un recuadro entre CDR-H2 y CDR-H3 (D78N) restablecen la N-glicosilación murina; o una mutación en una secuencia NG en CDR-H1, por ejemplo, N32S (VH4); N32Q (VH5); o G33A (VH6)), proporciona un mutante por desamidación de N. Los restos de aminoácidos en negrita en las secuencias de anticuerpos humanizados difieren de los restos correspondientes en la secuencia de anticuerpos murinos. La posición de los restos de aminoácidos canónicos y de la interfaz que pueden afectar el contacto de la CDR o la estructura de la CDR se indica con un asterisco.

La FIG 26B muestra la alineación de secuencias de las cadenas ligeras variables para los siguientes: anticuerpo anti-MCAM murino 2107_L7-6 (2107_L7-6_pro; SEQ ID NO:109); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2107 VL1 (h2107VL1; SEQ ID NO:110); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2107 VL2 (h2107VL2; SEQ ID NO:111); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2107 VL3 (h2107VL3 SEQ ID NO:112); y la secuencia variable humana U86803 IGKV1-27*01 de cadena ligera utilizada como donante de marco (U86803_VL SEQ ID NO:113). Se utiliza la numeración de Kabat y se encierran en un recuadro las regiones hipervariables (HVR) injertadas del anticuerpo 2107_L7-6 murino al marco de U86803 IGKV1-27*01 variable de cadena ligera variable. Los restos de aminoácidos en negrita en las secuencias de anticuerpos humanizados difieren de los restos correspondientes en la secuencia de anticuerpos murinos. La posición de los restos de aminoácidos canónicos y de la interfaz que pueden afectar el contacto de la CDR o la estructura de la CDR se indica con un asterisco.

La FIG 27A muestra la alineación de secuencias de las cadenas pesadas variables para los siguientes: anticuerpo anti-MCAM murino 2120.4.19,6 (2120.4.19.6_VH_topo_pro; SEQ ID NO:114); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2120 VH1 (h2120VH1; SEQ ID NO:115); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2120 VH2 (h2120VH2; SEQ ID NO:116); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2120 VH3 (h2120VH3; SEQ ID NO:117); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2120 VH4 (h2120VH4; SEQ ID NO: 118); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2120 VH5 (h2120VH5; SEQ ID NO: 119); y la secuencia variable humana AF062133 IGHV2-26*01 de cadena pesada utilizada como donante de marco (AF062133_VH; SEQ ID NO: 108). Se utiliza la numeración de Kabat y se encierran en un recuadro las regiones hipervariables (HVR) injertadas del anticuerpo 2120.4.19,6 murino al marco de AF062133 IGHV2-26*01 variable de cadena pesada variable. Las mutaciones S30T, I37V, L48I y K71R combinadas con (i) mutaciones de los restos N/D encerrados en un recuadro entre CDR-H1, *p.ej.*, N32S (VH3); N32Q (VH4); o G33A (VH5)), proporciona un mutante por desamidación de N. Los restos de aminoácidos en

negrita en las secuencias de anticuerpos humanizados difieren de los restos correspondientes en la secuencia de anticuerpos murinos. La posición de los restos de aminoácidos canónicos y de la interfaz que pueden afectar el contacto de la CDR o la estructura de la CDR se indica con un asterisco. Los restos donde se dirigen las mutaciones debido a la presencia de sitios de *N*-desaminación o sitios de *N*-glicosilación se muestran en el recuadro entre corchetes.

La FIG 27B muestra la alineación de secuencias de las cadenas ligeras variables para los siguientes: anticuerpo anti-MCAM murino 2120.4.19,6 (2120.4.19.6_VL_topo_pro; SEQ ID NO:120); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2120 VL1 (h2120VL1 SEQ ID NO:121); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2120 VL2 (h2120VL2 SEQ ID NO:122); anticuerpo anti-MCAM humanizado 2120 VL3 (h2120VL3; SEQ ID NO: 123); y la secuencia variable humana X84343 IGKV2-26*01 de cadena ligera utilizada como donante de marco (X84343_VL SEQ ID NO:124). Se utiliza la numeración de Kabat y se encierran en un recuadro las regiones hipervariables (HVR) injertadas del anticuerpo 2120.4.19,6 murino al marco de X84343 IGKV2-26*01 variable de cadena ligera variable. Los restos de aminoácidos en negrita en las secuencias de anticuerpos humanizados difieren de los restos correspondientes en la secuencia de anticuerpos murinos. La posición de los restos de aminoácidos canónicos y de la interfaz que pueden afectar el contacto de la CDR o la estructura de la CDR se indica con un asterisco.

Las FIGS. 28A-C comparan el bloqueo de varios anticuerpos 1749, 2120 y 2107 de la unión de MCAM a la laminina 411.

Las FIGS. 29A, B muestran el % de inhibición para ciertos anticuerpos anti-MCAM humanizados en comparación con anticuerpos anti-MCAM quiméricos.

FIG. 30: El tratamiento con un anticuerpo anti-MCAM reduce la inflamación en el modelo de inflamación de la piel.

FIGS. 31A, B: Los anticuerpos anti-MCAM inhiben el crecimiento de melanoma en volumen (A) y peso (B) en un modelo de xenoinjerto.

Descripción detallada

1. Definiciones y abreviaturas

1.1. Definiciones

Un "individuo" o "sujeto" como se emplea en esta memoria puede ser cualquiera de los animales mamíferos (por ejemplo, animales domesticados), incluyendo ser humano, perro, gato, vaca, caballo, cabra, cerdo, oveja, mono, cobaya, rata y ratón. En una realización el individuo o sujeto puede ser un ser humano.

"MCAM" (molécula de adhesión a células de melanoma, también conocida como CD146 y MUC18) se refiere a una glicoproteína de la superficie celular que pertenece a la superfamilia de inmunoglobulinas involucrada en la adhesión celular, y en la cohesión de la monocapa endotelial en las uniones intercelulares en el tejido vascular. También promueve la progresión tumoral de muchos cánceres, como los tumores sólidos, incluyendo melanoma y cáncer de próstata. Se sabe que interactúa de manera homotípica/homófila y también puede unirse a otros ligandos. La MCAM humana tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 (Figura 11A), que incluye cinco dominios de inmunoglobulina (1: restos de aminoácidos 19-129; 2: restos de aminoácidos 139-242; 3: restos de aminoácidos 244-321; 4: restos de aminoácidos 335-424; y 5: restos de aminoácidos 430-510) mostrados como SEQ ID NO: 22-26, que también se representan esquemáticamente en la FIG. 11B.

Una "cadena $\alpha 4$ de laminina " se refiere a una de las cadenas polipeptídicas encontradas en las moléculas de laminina, que se expresan en la lámina basal (de la membrana basal), una base de red de proteínas para la mayoría de las células y órganos. Se sabe que las lamininas se unen a las membranas celulares a través de las moléculas de la membrana plasmática y contribuyen a la unión celular. La cadena $\alpha 4$ de laminina forma generalmente un complejo con una cadena β de laminina, y una cadena γ de laminina. La cadena $\alpha 4$ de laminina se encuentra en numerosas moléculas de laminina que incluyen, sin limitación, laminina 411 (laminina 8 o $\alpha 4\beta 1\gamma 1$); laminina 421 (laminina 9 o $\alpha 4\beta 2\gamma 1$) y laminina 423 (laminina 14 o $\alpha 4\beta 2\gamma 3$). Existen dos isoformas principales de la cadena $\alpha 4$ de laminina humana: los números de Acceso de GenBank NP001098676 y NP001098677 como se muestra en las Figuras. 12A-B (secuencias de aminoácidos SEQ ID NO:27-28). "Laminina 411" se refiere a un complejo polipeptídico trimérico formado por tres subunidades o cadenas polipeptídicas: una cadena $\alpha 4$, una cadena $\beta 1$ y una cadena $\gamma 1$.

El término "antagonista" se usa en el sentido más amplio e incluye cualquier molécula que bloquee, inhiba o neutralice parcial o totalmente una actividad biológica cualitativa de un polipéptido MCAM. Para los fines de la presente invención, la actividad biológica es preferiblemente la capacidad de inhibir la capacidad de MCAM (i) para unirse específicamente a su ligando: una cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, la cadena $\alpha 4$ de la laminina 411; y/o (ii) para facilitar que una célula que expresa MCAM, por ejemplo, una célula TH17, se infiltre o migre al tejido de un sujeto. Los antagonistas de MCAM pueden identificarse, por ejemplo, en función de su capacidad para inhibir o bloquear la unión específica de MCAM a su ligando: una cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, la cadena $\alpha 4$ de la

laminina 411. Los antagonistas de MCAM incluyen específicamente, sin limitación, anticuerpos (por ejemplo, antagonistas o anticuerpos neutralizantes), incluyendo anticuerpos quiméricos, humanizados y humanos y sus fragmentos funcionales, moléculas pequeñas, ribozimas, aptámeros, péptidos y ácidos nucleicos que codifican antagonistas de polipéptidos o anticuerpos antagonistas.

- 5 La expresión "anticuerpo antagonista de MCAM" se refiere a un anticuerpo que inhibe o neutraliza la actividad de MCAM. Dicho anticuerpo se une específicamente a una diana polipeptídica involucrada en la infiltración de una célula que expresa MCAM en el SNC, por ejemplo, MCAM o una cadena $\alpha 4$ de laminina (por ejemplo, la cadena $\alpha 4$ de la laminina 411).

- 10 Un anticuerpo "bloqueante", un anticuerpo "neutralizante" o un anticuerpo "antagonista" es uno que inhibe o reduce una actividad biológica del antígeno al que se une. Tales anticuerpos pueden inhibir sustancialmente o completamente la actividad biológica del antígeno.

- 15 Las expresiones "se une específicamente" o "específicamente se une" ,como se emplean en esta memoria, significan que un elemento de un par de unión específico no mostrará ninguna unión estadísticamente significativa a moléculas que no sean su compañero de unión específico. Un compañero de unión puede mostrar al menos 1000 veces la afinidad de unión (medida como una constante de asociación aparente) por su compañero del par de unión específico que un compañero de unión no específico. Por ejemplo, se dice que los anticuerpos que se unen a MCAM con una afinidad de unión de 10^7 mol/l o más, generalmente 10^8 mol/l o más, se unen específicamente a MCAM.

- 20 Las expresiones "actividad biológica" y "biológicamente activo" con respecto a MCAM se refieren a su capacidad para unirse específicamente a su ligando (una cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, la cadena $\alpha 4$ de la laminina 411) y/o para facilitar la infiltración de células que expresan MCAM, por ejemplo, células TH17, en el SNC.

La expresión una "célula que expresa MCAM" se refiere a una célula del sistema inmunitario que expresa MCAM. Por ejemplo, la expresión de MCAM se enriquece en linfocitos T de memoria, por ejemplo, células TH17.

- 25 La expresión "molécula de unión", como se emplea en esta memoria, se refiere a una molécula que se une específicamente a una diana. La expresión incluye específicamente, pero sin limitación, anticuerpos y fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, aquellos que comprenden una o más de las CDR descritas en la presente memoria), y moléculas pequeñas peptídicas y no peptídicas.

- 30 "Anticuerpos" (Ab) e "inmunoglobulinas" (Ig) son glucoproteínas que tienen algunas características estructurales comunes. Mientras que los anticuerpos presentan especificidad de unión a un antígeno específico, las inmunoglobulinas incluyen tanto anticuerpos como otras moléculas similares a anticuerpos que carecen de especificidad antigénica. Los polipéptidos de este último tipo pueden producirse, por ejemplo, a niveles bajos en el sistema linfático y a niveles altos en mielomas.

- 35 El término "anticuerpo" como se emplea en la presente memoria, puede abarcar anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos, y fragmentos de anticuerpos, siempre y cuando presenten la actividad biológica deseada. La expresión "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo se refiere a una porción de la molécula de inmunoglobulina de longitud completa que se une específicamente al antígeno. Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo incluye, de este modo, un dímero de cadena pesada, cadena ligera, cadena ligera-cadena de unión a antígeno, fragmento Fab, fragmento F (ab')₂, fragmento Fv, Fv de cadena sencilla (scFv), diacuerpos, anticuerpos lineales y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

- 40 La expresión "anticuerpo monoclonal", como se emplea en esta memoria, se refiere a un anticuerpo de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son sustancialmente similares y se unen al (a los) mismo(s) epítipo(s), excepto por las posibles variantes que pueden surgir durante la producción del anticuerpo monoclonal, tales variantes generalmente están presentes en cantidades menores. Dicho anticuerpo monoclonal incluye típicamente un anticuerpo que comprende una región variable que se une a una diana, en donde el anticuerpo se obtuvo mediante un proceso que incluye la selección del anticuerpo de una pluralidad de anticuerpos. Por ejemplo, el proceso de selección puede ser la selección de un clon único de una pluralidad de clones, como un conjunto de clones de hibridoma, clones de fagos o clones de ADN recombinante. Debe entenderse que el anticuerpo seleccionado puede alterarse adicionalmente, por ejemplo, para mejorar la afinidad por la diana, para humanizar el anticuerpo, para mejorar su producción en cultivo celular, para reducir su inmunogenicidad *in vivo*, para crear un anticuerpo multiespecífico, etc., y que un anticuerpo que comprende la secuencia de la región variable alterada es también un anticuerpo monoclonal de esta invención. Además de su especificidad, las preparaciones de anticuerpos monoclonales son ventajosas porque típicamente no están contaminadas con otras inmunoglobulinas. El modificador "monoclonal" indica que la naturaleza del anticuerpo se obtiene de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea y no debe interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo por ningún método concreto. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se usarán según la presente invención se pueden producir mediante una variedad de técnicas, que incluyen el método del hibridoma (por ejemplo, Kohler et al., Nature, 256:495 (1975); Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2^a ed. 1988); Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas

- 563-681, (Elsevier, N. Y., 1981), métodos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos No. 4.816.567), tecnologías de presentación en fagos (véase, por ejemplo, Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2):299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101(34):12467-12472 (2004); y Lee et al. *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132 (2004) y tecnologías para producir anticuerpos humanos o similares a los humanos de animales que tienen parte o la totalidad de los loci o genes de inmunoglobulinas humanas que codifican secuencias de inmunoglobulinas humanas (véanse, por ejemplo, los documentos WO98/24893, WO/9634096, WO/9633735 y WO/91 10741, Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature*, 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immune*, 7:33 (1993); las patentes de Estados Unidos N.º 5.545.806, 5.569.825, 5.591.669 (todas de GenPharm); 5.545.807; el documento WO 97/17852, las patentes de Estados Unidos n.º 5.545.807; 5.545.806; 5.569.825; 5.625.126; 5.633.425; y 5.661.016, y Marks et al., *Bio/Technology*, 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., *Nature*, 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature*, 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnology*, 14: 845-851 (1996); Neuberger, *Nature Biotechnology*, 14: 826 (1996); y Lonberg y Huszar, *Intern. Rev. Immunol.*, 13: 65-93 (1995).
- 15 Los anticuerpos monoclonales en esta memoria incluyen específicamente anticuerpos "quiméricos" en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o pertenecientes a una clase o subclase de anticuerpos particular, mientras que el resto de la(s) cadena(s) es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpos, así como a fragmentos de dichos anticuerpos,
- 20 siempre que presenten la actividad biológica deseada (Patente de EE. UU. No. 4.816.567; y Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos de interés en la presente memoria incluyen anticuerpos "primatizados" que comprenden secuencias de unión a antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano (por ejemplo, Mono del Viejo Mundo, Simio, etc.) y secuencias de región constante humanas, así como anticuerpos "humanizados".
- 25 Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, roedores) son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las cuales los restos de una región hipervariable del receptor se reemplazan por restos de una región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante) como ratón, rata, conejo o primate no humano que tiene la especificidad, afinidad y capacidad
- 30 deseadas. En algunos casos, los restos de la región marco (FR) de la inmunoglobulina humana están sustituidos por los correspondientes restos no humanos. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender restos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se realizan para refinar adicionalmente el funcionamiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente al menos uno, y típicamente dos, dominios variables, en los que todos o sustancialmente todos los
- 35 bucles hipervariables corresponden a los de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado comprenderá también opcionalmente al menos una porción de una región constante de la inmunoglobulina (Fc), típicamente la de una inmunoglobulina humana. Para detalles adicionales, véase Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-329 (1988); y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992).
- 40 Un "anticuerpo intacto" en la presente memoria, es uno que comprende dos regiones de unión a antígeno, y una región Fc. Preferiblemente, el anticuerpo intacto tiene una región Fc funcional.
- Un "anticuerpo (o cualquier otra molécula de unión) que se une al mismo epítipo" como un anticuerpo de referencia (o cualquier otra molécula de unión) se refiere a un anticuerpo (o cualquier otra molécula de unión) que bloquea la unión del anticuerpo de referencia (o cualquier otra molécula de unión) a su antígeno en un ensayo de competencia
- 45 en un 50 % o más, y a la inversa, el anticuerpo de referencia (o cualquier otra molécula de unión) bloquea la unión del anticuerpo a su antígeno en un ensayo de competencia en un 50 % o más.
- Un anticuerpo "madurado por afinidad" es uno con una o más alteraciones en una o más regiones hipervariables del mismo, que da como resultado una mejora en la afinidad del anticuerpo por el antígeno, en comparación con un anticuerpo parental que no posee esas alteraciones. Los anticuerpos madurados por afinidad preferentes tendrán
- 50 afinidades nanomolares o incluso picomolares para el antígeno diana. Los anticuerpos madurados por afinidad se producen mediante procedimientos conocidos en la técnica. Marks et al. *Bio/Technology* 10:779-783 (1992) describe la maduración por afinidad por la redistribución de dominios VH y VL. La mutagénesis aleatoria de CDR y/o restos de marcos se describe por: Barbas et al. *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91:3809-3813 (1994); Schier et al. *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton et al. *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., *J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); y
- 55 Hawkins et al, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992).
- Las "cadenas ligeras" de anticuerpos de cualquier especie de vertebrado pueden asignarse a uno de dos tipos claramente distintos, denominados κ y λ , basándose en las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos intactos pueden asignarse a diferentes "clases". Hay cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varios de estos pueden dividirse en "subclases" (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se

denominan α , δ , ϵ , γ , y μ , respectivamente. Las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

El término "variable" se refiere al hecho de que determinadas porciones de los dominios variables difieren extensamente en secuencia entre los anticuerpos y se usan en la unión y especificidad de cada anticuerpo concreto a su antígeno concreto. Sin embargo, la variabilidad no está distribuida uniformemente en todos los dominios variables de los anticuerpos. Se concentra en tres segmentos denominados regiones determinantes de la complementariedad (CDR) o regiones hipervariables (HVR), tanto en los dominios variables de cadena ligera como de cadena pesada. Las porciones más altamente conservadas de los dominios variables se denominan "regiones marco" (FR). Los dominios variables de las cadenas pesada y ligera naturales incluyen, cada uno, cuatro regiones FR, que adoptan principalmente una configuración de lámina β , conectadas por tres CDR, que forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte de, la estructura de lámina β . Las CDR de cada cadena se mantienen juntas y próximas a las FR y, con las regiones hipervariables de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión a antígeno de los anticuerpos. Los dominios constantes no están involucrados directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero presentan varias funciones efectoras, como la participación del anticuerpo en la toxicidad celular dependiente de anticuerpos.

"Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio de reconocimiento de antígeno y de unión completo. En una especie Fv de dos cadenas, esta región consiste en un dímero de un dominio variable de cadena pesada y de cadena ligera en asociación estrecha no covalente. En una especie Fv de cadena sencilla, un dominio variable de cadena pesada y de cadena ligera se puede unir covalentemente mediante un enlazador peptídico flexible de modo que las cadenas ligera y pesada se puedan asociar en una estructura "dimérica" análoga a la de una especie Fv de dos cadenas. Es en esta configuración que las tres CDR de cada dominio variable interaccionan para definir un sitio de unión a antígeno en la superficie del dímero VH-VL. En conjunto, las seis CDR confieren especificidad de unión al antígeno al anticuerpo. Sin embargo, incluso un único dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende solo tres CDR específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque con una afinidad más baja que el sitio de unión completo.

"Región hipervariable" o "HVR" se refiere a los restos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la unión al antígeno. La región hipervariable generalmente comprende restos de aminoácidos de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)) y/o aquellos restos de un "bucle hipervariable" (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (1987)).

La expresión "regiones determinantes de la complementariedad" o "CDR" cuando se usan en la presente memoria, se refiere a partes de receptores inmunitarios que hacen contacto con un ligando específico y determinan su especificidad. Las CDR de los receptores inmunitarios son la parte más variable de la proteína receptora, dando a los receptores su diversidad, y se llevan en seis bucles en el extremo distal de los dominios variables del receptor, procediendo tres bucles de cada uno de los dos dominios variables del receptor.

El término "epítopo" se usa para referirse a sitios de unión para anticuerpos (monoclonales o policlonales) en antígenos de proteínas. Típicamente, un epítopo se refiere a una unidad de estructura unida convencionalmente por un par VH-VL de inmunoglobulina. Los epítopos definen el sitio de unión mínimo para un anticuerpo y, por lo tanto, representan la diana de especificidad de un anticuerpo. Los epítopos pueden ser lineales o conformacionales, y pueden ser tan pequeños como tres aminoácidos.

En la presente memoria, una "molécula pequeña" se define como que tiene un peso molecular inferior a aproximadamente 600, preferiblemente inferior a aproximadamente 1000 daltons. En general, una molécula pequeña es una molécula orgánica pequeña no peptídica.

"Aislado", cuando se usa para describir los diversos polipéptidos, proteínas y anticuerpos descritos en la presente memoria, significa un polipéptido, proteína o anticuerpo que se ha identificado y separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que podrían interferir típicamente con los usos de diagnóstico o terapéuticos para el polipéptido, proteína o anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteicos o no proteicos. En realizaciones preferidas, el polipéptido, proteína o anticuerpo se purificará (1) en un grado suficiente para obtener al menos 15 restos de la secuencia de aminoácidos N-terminal o interna utilizando un secuenciador de taza giratoria, o (2) hasta la homogeneidad mediante SDS-PAGE en condiciones no reductoras o reductoras usando azul de Coomassie o, preferiblemente, tinción con plata. Un polipéptido, proteína o anticuerpo aislado incluye el polipéptido, proteína o anticuerpo in situ con células recombinantes, ya que no estará presente al menos un componente del entorno natural asociado. Sin embargo, normalmente, el polipéptido, proteína o anticuerpo aislado se preparará mediante al menos una etapa de purificación.

Los términos "afinidad", "afinidad de unión" y " K_d " se refieren a la constante de disociación de equilibrio (expresada en unidades de concentración) asociada con cada complejo molécula de unión a MCAM-diana, tal como entre un anticuerpo anti-MCAM y MCAM. La afinidad de unión está directamente relacionada con la proporción de la constante de disociación (generalmente indicada en unidades de tiempo inverso, por ejemplo, segundos⁻¹) con la

constante de asociación (generalmente indicada en unidades de concentración por unidad de tiempo, por ejemplo, molar/segundo). La afinidad de unión puede determinarse, por ejemplo, mediante un ensayo ELISA, un ensayo de exclusión cinética o resonancia de plasmón superficial. Se observa que ciertos epítomos pueden aparecer repetitivamente (multivalentes) en una superficie celular y que la constante de disociación (k_{off}) para la unión de un anticuerpo a un epítomo repetitivo puede disminuir considerablemente con respecto a la constante de disociación para la reacción del mismo anticuerpo con el ligando correspondiente en forma univalente. La constante de disociación disminuida surge porque cuando un enlace anticuerpo-ligando se disocia, otros enlaces mantienen el anticuerpo bivalente (o multivalente) con el ligando multivalente, permitiendo que se forme nuevamente el enlace disociado. La constante de disociación de la reacción entre el Ab bivalente (o multivalente) y el ligando multivalente se ha denominado afinidad funcional para contrastarla con la afinidad intrínseca, que es la constante de asociación para un sitio individual representativo de anticuerpos.

Las expresiones "disociación", "tasa de disociación" y " k_{off} ", como se emplean en esta memoria, pretenden referirse a la constante de disociación para una disociación de una molécula de unión, tal como un anticuerpo, de la molécula/diana de unión, p. ej., complejo anticuerpo/antígeno.

Las expresiones "asociación", "tasa de asociación" y " k_{on} ", como se emplean en esta memoria, pretenden referirse a la constante de asociación de una molécula de unión con una diana, tal como un anticuerpo con un antígeno, para formar un complejo.

Las expresiones "concentración eficaz" y " EC_{50} ", como se emplean en esta memoria, pretenden referirse a la concentración de una molécula de unión (e/g/anticuerpo) capaz de interactuar con cantidades suficientes de moléculas diana para producir un efecto en aproximadamente el 50% de las células tratadas.

Como se emplea en esta memoria, "tratamiento" (y las variaciones gramaticales del mismo, tales como "tratar" o "que trata") se refiere a la intervención clínica con el objetivo de alterar el transcurso natural del individuo que se esté tratando y puede efectuarse tanto para profilaxis/prevenición como durante el transcurso de la patología. El término se refiere tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas, en donde el objetivo es prevenir o disminuir (reducir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitación, alivio de los síntomas, disminución de la extensión de la enfermedad, estado de la enfermedad estabilizado (es decir, sin empeoramiento), retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad, mejoría o paliación del estado de la enfermedad y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o no detectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya padecen la afección o trastorno así como aquellos propensos a tener la afección o trastorno o aquellos en los que se quiera prevenir la afección o trastorno.

La administración "crónica" se refiere a la administración del (de los) agente (s) en un modo continuo en lugar de en un modo agudo, para mantener el efecto deseado durante un período de tiempo prolongado.

La administración "intermitente" es un tratamiento que no se realiza consecutivamente sin interrupción, sino más bien es de naturaleza cíclica.

Una "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, en dosis y por períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico o terapéutico deseado. Una cantidad eficaz se refiere a la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o médica en un tejido, sistema, animal, individuo o ser humano que un investigador, veterinario, médico u otro clínico está buscando, que incluye uno o más de lo siguiente:

(A) prevenir la enfermedad; por ejemplo, prevenir una enfermedad inflamatoria, tal como una enfermedad, afección o trastorno neuroinflamatorio en un individuo que puede estar predispuesto a la enfermedad, afección o trastorno pero que aún no experimenta o muestra la patología o los síntomas de la enfermedad,

(B) inhibir la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad inflamatoria, tal como una enfermedad, afección o trastorno neuroinflamatorio en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o los síntomas de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, detener el desarrollo adicional de la patología y/o los síntomas) y

(C) mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad inflamatoria, tal como una enfermedad, afección o trastorno neuroinflamatorio en un individuo que está experimentando o mostrando la patología o los síntomas de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o los síntomas).

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos que se utilizan en la presente memoria tienen el mismo significado que el normalmente entendido por un experto en la técnica. En algunos casos, los términos con significados comúnmente comprendidos se definen en la presente memoria con fines de claridad y/o para tener una referencia inmediata, y la inclusión de dichas definiciones en la presente memoria no se ha de considerar necesariamente como representativa de una diferencia sustancial frente a lo que se comprende generalmente en la técnica. Las técnicas y procedimientos descritos o referenciados en la presente memoria generalmente se entienden bien y se emplean comúnmente utilizando una metodología convencional por aquellos expertos en la técnica, como, por ejemplo, las metodologías de clonación molecular ampliamente utilizadas descritas

- en Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 2ª. edición (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y. Según corresponda, los procedimientos que involucran el uso de kits y reactivos disponibles comercialmente se llevan a cabo según los protocolos y/o parámetros definidos por el fabricante, a menos que se indique lo contrario. Antes de que se describan los presentes métodos, kits y usos, debe entenderse
- 5 que esta invención no se limita a la metodología particular, protocolos, líneas celulares, especies o géneros animales, construcciones y que los reactivos descritos como tales pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología empleada en la presente memoria tiene la finalidad de describir únicamente realizaciones particulares, y no se pretende que limite el alcance de la presente invención que estará limitada únicamente por las reivindicaciones adjuntas.
- 10 Cabe señalar que como se emplea en esta memoria, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto dictamine claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia al término "un anticuerpo" incluye una pluralidad de dichos anticuerpos y la referencia al término "la dosificación" incluye la referencia a una o más dosificaciones conocidas por los expertos en la técnica, y así sucesivamente. A lo largo de la presente memoria descriptiva y de las reivindicaciones, se entenderá que la palabra
- 15 "comprender" o las variaciones tales como "comprende" o "que comprende" implican la inclusión de un número entero o un número de números enteros, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de enteros.

1.2. Abreviaturas

Ab	anticuerpos
CDR	región determinante de la complementariedad
CFA	adyuvante completo de Freund
CFSE	succinimidil éster de carboxifluoresceína
SNC	sistema nervioso central
DAPI	4',6-diamidino-2-fenilindol
DN	neurona que contiene dopamina
EAE	encefalomielitis autoinmunitaria experimental
MEC	matriz extracelular
FACS	Separación de células activadas por fluorescencia
FR	Región Marco
IFA	adyuvante incompleto de Freund
Ig	inmunoglobulina
MCAM	molécula de adhesión a células de melanoma
MOG	glicoproteína oligodendrocítica de mielina (MOG)
EM	esclerosis múltiple
EP	enfermedad de Parkinson
PMA	acetato de miristato forbol

2. MCAM

- 20 MCAM (molécula de adhesión a células de melanoma) es una glicoproteína de la superficie celular originalmente identificada como un antígeno del melanoma, cuya expresión está asociada con la progresión tumoral y el desarrollo de potencial metastásico. MCAM es una glicoproteína de membrana integral de superficie celular de 113 kDa compuesta por un péptido señal, cinco dominios similares a inmunoglobulinas (1, 2, 3, 4 y 5; o V-V-C2-C2-C2), una
- 25 región transmembrana y una cola citoplasmática corta. Véase, por ejemplo, Lehmann et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86: 9891-9895 (1989) y la FIG. 11B. MCAM es un miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas y tiene una homología de secuencia significativa con varias moléculas de adhesión celular de la superfamilia de Ig, incluida la BEN (Pourquie et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89: 5261-5265 (1992)), molécula de adhesión de células
- 30 neuronales (N-CAM) (Owens et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 84: 294-298 (1987)) glicoproteína asociada a mielina (MAG) (Lai et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 84: 4337-4341 (1987)), eliminada en la proteína del cáncer colorrectal (DCC) (Hedrick et al., Genes Devel. 8: 1174-1183 (1994)), y gicerina (Taira et al., Neuron 12: 861-872 (1994)). La expresión de MCAM se ha detectado en un espectro relativamente limitado de tejidos humanos normales y en una variedad de neoplasias malignas. En tejidos adultos normales, MCAM se expresa en células endoteliales, células del

músculo liso (Shih et al., Lab. Invest. 75: 377-388 (1996); Sers et al., Cancer Res. 54: 5689-5694 (1994)), una subpoblación de linfocitos T activados (Pickl et al., J. Immunol. 158: 2107-2115 (1997)), y trofoblastos intermedios (Shih et al., *supra*). La MCAM también se expresa en una variedad de neoplasias malignas que incluyen neoplasias de músculo liso (leiomiomas y leiomiomasarcomas), tumores de origen vascular (angiosarcomas y sarcomas de Kaposi), tumores trofoblásticos del sitio placentario, coriocarcinomas y melanomas (Shih et al., Res. De cáncer clínico. 2: 569-575 (1996); Holzmam et al., Int. J. Cancer 39: 466-471 (1987)). La expresión de MUC18 se correlaciona directamente con el potencial metastásico de las células de melanoma humano (Bar-Eli, Cancer Metastasis, 18: 377-385 (1999)).

Varios estudios han identificado la MCAM como un marcador de la progresión tumoral y la metástasis en melanomas. La expresión de MCAM está ausente en los melanocitos normales y en los nevos benignos, pero es prominente en muchos melanomas primarios y en la mayoría de las lesiones metastásicas (Lehmann et al., *supra*; Shih et al., *supra*). La expresión de MCAM se correlaciona bien con el grosor vertical del tumor y la formación de metástasis, y más del 80% de las lesiones metastásicas expresan MCAM (Lehmann et al., *supra*; Xie et al., Cancer Res. 57: 2295-2303 (1997); y Shih et al., *supra*). Se han generado moduladores de MCAM para tratar melanomas. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Número 7.067.131. Recientemente, se ha sugerido la modulación de MCAM para identificar y seleccionar las células T secretoras de citoquinas inflamatorias o sus precursores para tratar diversas afecciones inflamatorias. Véase, por ejemplo, la Solicitud de Patente Publicada de EE.UU. Nº 2011/0014183.

3. Afecciones neuroinflamatorias, esclerosis múltiple y enfermedad de Parkinson

Una afección neuroinflamatoria se refiere a una afección asociada con la inflamación del sistema nervioso, como el sistema nervioso central (SNC), y que está asociada con el daño celular/tisular. Por lo general, se caracteriza, por ejemplo, por un aumento de la activación glial, aumento de los niveles de citoquinas/quimioquinas proinflamatorias (por ejemplo, TNF α , INF γ , IL-1 β), aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y/o aumento de células inmunitarias (por ejemplo, reclutamiento/invasión de leucocitos al SNC. Puede referirse, por ejemplo, a una neuroinflamación crónica, como una inflamación asociada con la activación crónica de células del sistema inmunitario (es decir, neuroinflamación autoinmunitaria asociada). Dicha neuroinflamación crónica se puede observar, por ejemplo, en la esclerosis múltiple (EM). Además, la enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa que presenta neuroinflamación, por ejemplo, microglía activada y células T infiltrantes.

La esclerosis múltiple, como enfermedad autoinmunitaria neurológica progresiva, es el resultado de una inflamación crónica patológica (Yednock et al., Nature 356: 63-66 (1992); Baron et al., J. Exp. Med. 177: 57-68 (1993)). La EM afecta a un estimado de 250.000 a 350.000 personas en los Estados Unidos. Se cree que la esclerosis múltiple es el resultado de una reacción autoinmunitaria específica en la que determinados leucocitos atacan e inician la destrucción de la mielina, la vaina aislante que cubre las fibras nerviosas. El inicio de la EM puede ser dramático o tan leve como para no causar que un paciente busque atención médica. Los síntomas más comunes incluyen debilidad en una o más extremidades, visión borrosa debido a neuritis óptica, trastornos sensoriales, diplopía y ataxia. La evolución de la enfermedad puede clasificarse en tres categorías generales: (1) EM recurrente, (2) EM crónica progresiva y (3) EM inactiva.

La EM recurrente se caracteriza generalmente por brotes recurrentes de disfunción neurológica. Los brotes de EM evolucionan generalmente de días a semanas y pueden ir seguidos de una recuperación completa o parcial, o ninguna recuperación. La recuperación de los brotes generalmente se produce dentro de semanas a varios meses desde el pico de los síntomas, aunque rara vez la recuperación puede continuar durante 2 o más años.

La EM crónica progresiva da como resultado un empeoramiento gradual progresivo sin períodos de estabilización o remisión. Esta forma se desarrolla en pacientes con antecedentes de EM recurrente, aunque en el 20% de los pacientes no se pueden recordar las recaídas. Las recaídas agudas también se pueden producir durante la evolución progresiva de la EM.

Una tercera forma es la EM inactiva. La EM inactiva se caracteriza por deficiencias neurológicas fijas de magnitud variable. La mayoría de los pacientes con EM inactiva tienen antecedentes de EM con recaídas. La evolución de la EM también depende de la edad del paciente. Por ejemplo, los factores pronósticos favorables incluyen inicio temprano (excluyendo la infancia), un curso recurrente y poca discapacidad residual 5 años después del inicio. Por el contrario, un mal pronóstico está asociado con una edad tardía del inicio (es decir, edad de 40 años o mayor) y una evolución progresiva. Estas variables son interdependientes, ya que la EM crónica progresiva tiende a comenzar a una edad más tardía que la EM recurrente. La discapacidad derivada de la EM crónica progresiva se debe normalmente a la paraplejía o tetraplejía progresiva de un paciente individual.

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que presenta características clínicas primarias de anomalías motoras, *p.ej.*, temblor en reposo, bradicinesia y rigidez. La EP se caracteriza por la pérdida de células neuronales (DN) que contienen dopamina en la parte compacta de la sustancia negra (Forno, J. Neurophthol. Exp. Neurol. 55: 259-272 (1996)). Una de las características de la EP es la neuroinflamación caracterizada por microglía activada y células T infiltrantes. Aunque los estudios han sugerido varios mecanismos para la EP, como la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo y el deterioro de la maquinaria de degradación de

proteínas, la causa de la EP sigue siendo difícil de alcanzar (Dauer et al., Neuron 39: 889-909 (2003)). Los hallazgos recientes han indicado que tanto la inmunidad innata como la adaptativa pueden desempeñar un papel importante en la patogénesis de la EP (Stone et al., Antioxid. Redox. Signal. 11: 2151-2166 (2009)). Particularmente, se ha demostrado en el modelo animal de la EP que tanto la microglía activada como los linfocitos T contribuyen significativamente a la neurodegeneración. Véase, por ejemplo, Brochard et al., J. Clin. Invest. 119: 182-192 (2009). Se ha planteado la hipótesis de que las células T positivas para CD4 (*p.ej.*, las células T17 proinflamatorias) median la citotoxicidad al activar la microglía en la EP y/o ejercen un efecto tóxico directo en las DN de la sustancia negra (Appel, J. Clin. Invest. 119: 13-15 (2009)).

4. Enfermedades autoinmunitarias

En la presente memoria, una "enfermedad autoinmunitaria" es una enfermedad o trastorno que procede y se dirige contra los propios tejidos de un individuo o un segregado simultáneo o manifestación del mismo o dolencia resultante del anterior. Los ejemplos de enfermedades o trastornos autoinmunitarios incluyen, entre otros, artritis (artritis reumatoide como artritis aguda, artritis reumatoide crónica, gota o artritis gotosa, artritis gotosa aguda, artritis inmunológica aguda, artritis inflamatoria crónica, artritis degenerativa, artritis inducida por colágeno tipo II, artritis infecciosa, artritis de Lyme, artritis proliferativa, artritis psoriásica, enfermedad de Still, artritis vertebral y artritis reumatoide de inicio juvenil, osteoartritis, artritis crónica progrediente, artritis deformante, poliartritis crónica primaria, artritis reactiva y espondilitis anquilosante), enfermedades inflamatorias hiperproliferativas de la piel, psoriasis como la psoriasis en placas, psoriasis guttata, psoriasis pustular y psoriasis en las uñas, atopía que incluye enfermedades atópicas como la fiebre del heno y el síndrome de Job, dermatitis que incluye dermatitis de contacto, dermatitis de contacto crónica, dermatitis exfoliativa, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto alérgica, dermatitis herpetiforme, dermatitis numular, dermatitis seborreica, dermatitis inespecífica, dermatitis de contacto de irritación primaria y dermatitis atópica, síndrome de hiper IgM ligado a X, enfermedades inflamatorias intraoculares alérgicas, urticaria como urticaria alérgica crónica y urticaria idiopática crónica, incluida urticaria autoinmunitaria crónica, miositis, polimiositis / dermatomiositis, dermatomiositis juvenil, necrólisis epidérmica tóxica, esclerodermia (incluida la esclerodermia sistémica), esclerosis como esclerosis sistémica, esclerosis múltiple (EM) como EM espinóptica, EM progresiva primaria (EMP) y EM remitente recurrente, esclerosis sistémica progresiva, aterosclerosis, arteriosclerosis, esclerosis diseminada, esclerosis atáxica, neuromielitis óptica (NMO), enfermedad inflamatoria del intestino (EII) (por ejemplo, enfermedad de Crohn, enfermedades gastrointestinales mediadas por mecanismos autoinmunitarios, colitis como colitis ulcerosa, colitis ulcerosa, colitis microscópica, colitis colagenosa, colitis poliposa), enterocolitis necrotizante y colitis transmural y enfermedad inflamatoria intestinal autoinmunitaria), inflamación intestinal, pioderma gangrenoso, eritema nodoso, colangitis esclerosante primaria, síndrome de dificultad respiratoria, incluido el síndrome de dificultad respiratoria adulta o aguda (SDRA), meningitis, inflamación de toda o parte de la úvea, iritis, coroiditis, un trastorno hematológico autoinmunitario, espondilitis reumatoide, sinovitis reumatoide, angioedema hereditaria, daño del nervio craneal como en la meningitis, herpes gestacional, penfigoide gestacional, prurito del escroto, insuficiencia ovárica prematura autoinmunitaria, pérdida repentina de la audición debido a una afección autoinmunitaria, enfermedades mediadas por IgE como anafilaxia y rinitis alérgica y atópica, encefalitis como encefalitis de Rasmussen y encefalitis límbica y / o cerebral, uveítis, como uveítis anterior aguda, uveítis granulomatosa, uveítis no granulomatosa, uveítis facoantigénica, uveítis posterior o uveítis autoinmunitaria, glomerulonefritis (GN) con y sin síndrome nefrótico, como glomerulonefritis aguda o crónica, como GN primaria, GN inmunomediada, GN membranosa (nefropatía membranosa), GN idiopática membranosa o nefropatía idiopática membranosa, o GN membranoproliferativa o membranosa proliferativa (MPGN), incluyendo Tipo I y Tipo II, y GN rápidamente progresiva, nefritis proliferativa, insuficiencia endocrina poliglandular autoinmunitaria, balanitis que incluye balanitis circumscripción plasmacelularis, balanopostitis, eritema anular centrífugo, eritema discromico perstans, eritema multiforme, granuloma anular, liquen nitidus, liquen escleroso y atrófico, liquen simple crónico, liquen espinuloso, liquen plano, ictiosis lamelar, hiperqueratosis epidermolítica, queratosis premaligna, pioderma gangrenoso, afecciones y respuestas alérgicas, reacción alérgica, eccema, incluso eccema alérgico o atópico, eccema asteatótico, eccema dishidrótico y eccema palmoplantar vesicular, asma, tal como, como asma bronquial, y asma autoinmunitaria, afecciones que implican la infiltración de células T y respuestas inflamatorias crónicas, reacciones inmunitarias contra antígenos extraños como los grupos sanguíneos fetales A-BO durante el embarazo, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, miocarditis autoinmunitaria, deficiencia de adhesión de leucocitos, lupus, que incluye lupus nefritis, lupus cerebritis, lupus pediátrico, lupus no renal, lupus extra-renal, lupus discoide y lupus eritematoso discoide, alopecia lupus, lupus eritematoso sistémico (LES), como LES cutáneo o LES cutáneo subagudo, síndrome de lupus neonatal (LES) y lupus eritematoso diseminado, diabetes mellitus de aparición juvenil (Tipo I), incluida la diabetes mellitus pediátrica dependiente de insulina (DMID), diabetes mellitus de aparición en adultos (diabetes Tipo II), diabetes autoinmunitaria, diabetes insípida idiopática, retinopatía diabética, nefropatía diabética, trastorno diabético de la arteria grande, respuestas inmunitarias asociadas con hipersensibilidad aguda y retardada mediada por citoquinas y linfocitos T, tuberculosis, sarcoidosis, granulomatosis, incluyendo granulomatosis linfomatoide, granulomatosis de Wegener, agranulocitosis, vasculitis, incluyendo vasculitis, vasculitis de vasos grandes (incluyendo polimialgia reumática y arteritis de células gigantes (de Takayasu)), vasculitis de vasos medianos (incluida la enfermedad de Kawasaki y poliarteritis nodosa / periarteritis nodosa), poliarteritis microscópica, inmunovascularitis, vasculitis del SNC, vasculitis cutánea, vasculitis por hipersensibilidad, vasculitis necrotizante, como vasculitis necrotizante sistémica, y vasculitis asociada a ANCA, como vasculitis o síndrome de Churg-Strauss (CSS) y vasculitis de vasos pequeños asociada a ANCA, arteritis temporal, anemia aplásica, anemia aplásica autoinmunitaria, anemia positiva de Coombs, Anemia Diamond Blackfan, anemia hemolítica o anemia hemolítica

inmunitaria, incluida anemia hemolítica autoinmunitaria (AIHA), anemia perniciosa (anemia perniciosa), enfermedad de Addison, anemia pura de glóbulos rojos o aplasia (PRCA), deficiencia del factor VIII, hemofilia A, neutropenia autoinmunitaria, pancitopenia, leucopenia, enfermedades que implican diapedesis de leucocitos, trastornos inflamatorios del SNC, síndrome de lesión multiorgánica como las secundarias a septicemia, traumatismo o hemorragia, enfermedades mediadas por antígeno-anticuerpo, enfermedad de la membrana basal antiglomerular, síndrome del anticuerpo antifosfolípido, neuritis alérgica, Enfermedad síndrome de Behçet, síndrome de Castleman, síndrome de Goodpasture, síndrome de Reynaud, síndrome de Sjögren, síndrome de Stevens-Johnson, penfigoide, como penfigoide ampolloso y penfigoide de la piel, pénfigo (incluido pénfigo vulgar, pénfigo foliáceo, penfigoide de pénfigo mucus-membrana, y pénfigo eritematoso), poliendocrinopatías autoinmunitarias, enfermedad o síndrome de Reiter, lesión térmica, preeclampsia, un trastorno de complejo inmunitario como nefritis por complejos inmunitarios, nefritis mediada por anticuerpos, polineuropatías, neuropatía crónica como polineuropatías IgM o neuropatía mediada por IgM, trombocitopenia (desarrollada por pacientes con infarto de miocardio, por ejemplo), incluida la púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), púrpura postransfusional (PTP), trombocitopenia inducida por heparina, y trombocitopenia autoinmunitaria o mediada por el sistema inmunitario, como la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), que incluye PTI crónica o aguda, escleritis como la cerato-escleritis idiopática, episcleritis, enfermedad autoinmunitaria de testículos y ovarios que incluye orquitis autoinmunitaria y ooforitis, hipotiroidismo primario, hipoparatiroidismo, enfermedades endocrinas autoinmunitarias que incluyen tiroiditis como tiroiditis autoinmunitaria, enfermedad de Hashimoto, tiroiditis crónica (tiroiditis de Hashimoto) o tiroiditis subaguda, enfermedad tiroidea autoinmunitaria, hipotiroidismo idiopático, enfermedad de Grave, síndromes poliglandulares como los síndromes poliglandulares autoinmunitarios (o síndromes de endocrinopatía poliglandular), síndromes paraneoplásicos, incluidos los síndromes paraneoplásicos neurológicos como el síndrome miasténico de Lambert-Eaton o el síndrome de Eaton-Lambert, el síndrome del hombre rígido o persona rígida, la encefalomiелitis como la encefalomiелitis alérgica o la encefalomiелitis alérgica y la encefalomiелitis alérgica experimental (EAE), miastenia grave, como la miastenia grave asociada a timoma, degeneración cerebelosa, neuromiotonía, síndrome opsoclon o mioclon opsoclon (OMS), y neuropatía sensorial, neuropatía motora multifocal, síndrome de Sheehan, hepatitis autoinmunitaria, hepatitis crónica, hepatitis lupoide, hepatitis de células gigantes, hepatitis crónica activa o hepatitis crónica activa autoinmunitaria, neumonitis intersticial linfocítica (LIP), bronquiolitis obliterante (sin trasplante) frente a NSIP, síndrome de Guillain-Barré, Enfermedad de Berger (nefropatía por IgA), nefropatía por IgA idiopática, dermatosis por IgA lineal, dermatosis febril neutrofílica febril, dermatosis pustular subcorneal, dermatosis acantolítica transitoria, cirrosis, como cirrosis biliar primaria y neumoциrosis, síndrome de enteropatía autoinmunitaria, enfermedad celíaca o celiaquía, celiaquía (enteropatía por gluten), enfermedad refractaria, enfermedad idiopática, crioglobulinemia, esclerosis lateral amiotrófica (ELA); enfermedad de las arterias coronarias, enfermedad autoinmunitaria del oído tal como enfermedad autoinmunitaria del oído interno (AIED), pérdida de la audición autoinmunitaria, policondritis tal como policondritis refractaria o recidivante o recurrente, proteinosis alveolar pulmonar, síndrome de Cogan/queratitis intersticial no sífilítica, Parálisis de Bell, enfermedad/síndrome de Sweet, rosácea autoinmunitaria, dolor asociado con zoster, amiloidosis, una linfocitosis no cancerosa, una linfocitosis primaria, que incluye linfocitosis monoclonal de células B (por ejemplo, gammapatía monoclonal benigna y gammapatía monoclonal de importancia indeterminada, MGUS), neuropatía periférica, síndrome paraneoplásico, canalopatías tales como epilepsia, migraña, arritmia, trastornos musculares, sordera, ceguera, parálisis periódica y canalopatías del SNC, autismo, miopatía inflamatoria, glomeruloesclerosis focal o segmentaria o focal segmentaria (FSGS), oftalmopatía endocrina, uveorretinitis, coriorretinitis, trastorno hepático autoinmunitario, fibromialgia, insuficiencia endocrina múltiple, síndrome de Schmidt, suprarrenalitis, atrofia gástrica, demencia presenil, enfermedades desmielinizantes tales como enfermedades desmielinizantes autoinmunitarias y polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, Síndrome de Dressler, alopecia areata, alopecia total, síndrome de CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, dismotilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasia), infertilidad autoinmunitaria masculina y femenina, por ejemplo, debido a los anticuerpos anti-espermatozoides, enfermedad mixta del tejido conectivo, enfermedad de Chagas, fiebre reumática, aborto recurrente, pulmón de granjero, eritema multiforme, síndrome postcardiotomía, síndrome de Cushing, pulmón de avicultor, angitis granulomatosa alérgica, angitis linfocítica benigna, síndrome de Alport, alveolitis tal como la alveolitis alérgica y alveolitis fibrosa, enfermedad pulmonar intersticial, reacción de transfusión, lepra, malaria, enfermedades parasitarias como la leishmaniosis, tripanosomiasis, esquistosomiasis, ascariasis, aspergilosis, síndrome de Sampter, Síndrome de Caplan, dengue, endocarditis, fibrosis endomiocárdica, fibrosis pulmonar intersticial difusa, fibrosis pulmonar intersticial, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis quística, endoftalmitis, eritema elevatum et diutinum, eritroblastosis fetal, fascitis eosinofílica, síndrome de Shulman, síndrome de Felty, filariasis, ciclitis tal como ciclitis crónica, ciclitis heterocrónica, iridociclitis (aguda o crónica) o ciclitis de Fuch, púrpura de Henoch-Schonlein, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), SCID, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), infección por ecovirus, septicemia, endotoxemia, pancreatitis, tiroxicosis, infección por parvovirus, infección por el virus de la rubeola, síndromes postvacunación, infección congénita de la rubeola, infección por el virus de Epstein-Barr, paperas, síndrome de Evan, insuficiencia gonadal autoinmunitaria, corea de Sydenham, nefritis postestreptocócica, tromboangitis obliterante, tirotoxicosis, tabes dorsal, coroiditis, polimialgia de células gigantes, neumonitis por hipersensibilidad crónica, queratoconjuntivitis seca, queratoconjuntivitis epidémica, síndrome nefrítico idiopático, nefropatía por cambios mínimos, lesión benigna familiar y lesión por isquemia-reperusión, reperusión por trasplante de órganos, autoinmunidad retiniana, inflamación articular, bronquitis, enfermedad obstructiva crónica de vías respiratorias/pulmonar, silicosis, aftas, estomatitis aftosa, trastornos arterioscleróticos, espermiogénesis, hemólisis autoinmunitaria, enfermedad de Boeck, crioglobulinemia, contractura de Dupuytren, endoftalmia facoanafiláctica, enteritis alérgica, eritema nodoso leproso, parálisis facial idiopática, síndrome de fatiga crónica, fiebre reumática,

enfermedad de Hamman-Rich, hipoacusia neurosensorial, hemoglobinuria paroxística, hipogonadismo, ileitis regional, leucopenia, mononucleosis infecciosa, mielitis transversal, mixedema idiopático primario, nefrosis, oftalmia simpática, orquitis granulomatosa, pancreatitis, polirradiculitis aguda, pioderma gangrenoso, tiroiditis de Quervain, atrofia espínica adquirida, timoma no maligno, vitiligo, síndrome de shock tóxico, intoxicación alimentaria, afecciones que implican la infiltración de células T, deficiencia de adhesión de leucocitos, respuestas inmunitarias asociadas con hipersensibilidad aguda y retardada mediada por citoquinas y linfocitos T, enfermedades que implican diapédesis leucocitaria, síndrome de lesión multiorgánica, enfermedades mediadas por complejos antígeno-anticuerpo, enfermedad de la membrana basal antiglomerular, neuritis alérgica, poliendocrinopatías autoinmunitarias, ooforitis, mixedema primario, gastritis atrófica autoinmunitaria, oftalmía simpática, enfermedades reumáticas, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, síndrome nefrótico, insulitis, insuficiencia poliendocrina, síndrome poliglandular autoinmunitario tipo I, hipoparatiroidismo idiopático de inicio adulto (AOIH), cardiomiopatía, como miocardiopatía dilatada, epidermolisis ampollosa adquirida (EBA), hemocromatosis, miocarditis, síndrome nefrótico, colangitis esclerosante primaria, sinusitis purulenta o no purulenta, sinusitis aguda o crónica, sinusitis etmoidal, frontal, maxilar o esfenoidal, un trastorno relacionado con los eosinófilos, como la eosinofilia, eosinofilia de infiltración pulmonar, síndrome de eosinofilia-mialgia, el síndrome de Löffler, neumonía eosinofílica crónica, eosinofilia pulmonar tropical, aspergilosis bronconeumónica, aspergiloma o granulomas que contienen eosinófilos, anafilaxia, espondiloartritis seronegativas, enfermedad autoinmunitaria poliendocrina, colangitis esclerosante, esclera, episclera, candidiasis mucocutánea crónica, síndrome de Bruton, hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de ataxia telangiectasia, angiectasia, trastornos autoinmunitarios asociados con enfermedad del colágeno, reumatismo, enfermedad neurológica, linfadenitis, reducción de la respuesta de la presión arterial, disfunción vascular, lesión tisular, isquemia cardiovascular, hiperalgesia, isquemia renal, isquemia cerebral y enfermedad que acompaña a la vascularización, trastornos de hipersensibilidad alérgica, glomerulonefritis, lesión por reperfusión, trastorno de reperfusión isquémica, lesión por reperfusión del miocardio u otros tejidos, traqueobronquitis linfomatosa, dermatosis inflamatoria, dermatosis con componentes inflamatorios agudos, insuficiencia orgánica múltiple, enfermedades ampollosas, necrosis cortical renal, meningitis purulenta aguda u otros trastornos inflamatorios del sistema nervioso central, trastornos inflamatorios oculares y orbitarios, síndromes asociados a transfusiones de granulocitos, toxicidad inducida por citoquinas, narcolepsia, inflamación aguda grave, inflamación crónica intratable, pielitis, hiperplasia endometrial, úlcera péptica, vulvitis y endometriosis.

5. Cáncer

El cáncer o una afección cancerosa es la afección fisiológica en los mamíferos que se caracteriza típicamente por un crecimiento/proliferación celular no regulado. En esta definición se incluyen los cánceres benignos y malignos, así como los cánceres metastásicos. También se incluyen tumores sólidos y neoplasias hematopoyéticas. El cáncer metastásico se refiere a un cáncer que se ha propagado desde el lugar donde comenzó a otro lugar en el cuerpo. Los tumores formados por células cancerosas metastásicas se denominan un tumor metastásico o metástasis (que también se usa para referirse al proceso mediante el cual las células cancerosas se propagan a otras partes del cuerpo). En general, el cáncer metastásico tiene el mismo nombre y el mismo tipo de células cancerosas que el cáncer original o primario. El cáncer metastásico incluye cáncer de próstata, cáncer de pulmón y cáncer de páncreas. Por cáncer de próstata o afecciones relacionadas con el cáncer de próstata se entiende el crecimiento maligno de células anormales en la glándula prostática, capaces de invadir y destruir otras células de la próstata y propagarse (hacer metástasis) a otras partes del cuerpo, incluidos los huesos, los pulmones, el hígado y los ganglios linfáticos. Por cáncer de pulmón o afecciones relacionadas con el cáncer de pulmón se entiende el crecimiento maligno de células anormales en los pulmones, capaces de invadir y destruir otras células pulmonares y de propagarse (hacer metástasis) a otras partes del cuerpo, incluidas la glándula suprarrenal y el hígado. Por cáncer de páncreas o afecciones relacionadas con el cáncer de páncreas se entiende el crecimiento maligno de células anormales en el páncreas, capaces de invadir y destruir otras células del páncreas, y de propagarse (hacer metástasis) a otras partes del cuerpo, incluyendo el hígado, los pulmones y el peritoneo.

6. Antagonistas de MCAM

La presente invención proporciona antagonistas de MCAM. Dichos antagonistas abarcan aquellos que actúan directamente sobre MCAM (p.ej., un anticuerpo anti-MCAM) y aquellos que afectan indirectamente a la actividad de MCAM (p.ej., un anticuerpo anti cadena $\alpha 4$ de laminina). Tales antagonistas son útiles, por ejemplo, para tratar un trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC) caracterizado por infiltración de células que expresan MCAM en el SNC. Una composición que comprende un antagonista de MCAM puede ser útil para reducir la inflamación en un sujeto mamífero. Dicha composición puede ser útil para inhibir parcial o totalmente la infiltración del SNC de células que expresan MCAM. Ejemplos de antagonistas de MCAM incluyen, sin limitación, anticuerpos antagonistas o neutralizantes o fragmentos de anticuerpos contra uno o más dominios, por ejemplo, un dominio de inmunoglobulina de un polipéptido MCAM de secuencia natural o un dominio de un polipéptido de cadena $\alpha 4$ de laminina de secuencia natural (por ejemplo, la cadena $\alpha 4$ de laminina 411), moléculas pequeñas, ribozimas, aptámeros, péptidos y ácidos nucleicos que codifican antagonistas de polipéptido o anticuerpos antagonistas. La referencia a "un" antagonista abarca un único antagonista. Los antagonistas de MCAM pueden ser anticuerpos que incluyen, sin limitación, anticuerpos quiméricos, humanizados y humanos y sus fragmentos funcionales.

En una realización preferida, la cadena $\alpha 4$ de laminina es una cadena $\alpha 4$ de la laminina 411. En otra realización

preferida, el antagonista de MCAM bloquea la interacción de un dominio de MCAM que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:22 y/o la SEQ ID NO:23 con una cadena $\alpha 4$ de laminina.

6.1 Ensayos de selección para identificar antagonistas de MCAM

5 La presente descripción describe ensayos de selección para identificar antagonistas de MCAM, que encuentran utilidad en el tratamiento de afecciones inflamatorias caracterizadas por infiltración de células que expresan MCAM en el sistema nervioso central (SNC).

10 La divulgación describe un método para identificar un inhibidor de la infiltración del SNC por células que expresan MCAM que comprende las etapas de: (a) incubar una población de células que expresan una cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina 411, con MCAM, en presencia o ausencia de una molécula candidata; (b) controlar el nivel de unión de MCAM a las células; y (c) identificar dicha molécula candidata como un inhibidor de la infiltración del SNC por células que expresan MCAM si el nivel de unión de MCAM es menor en presencia que en ausencia de dicha molécula candidata. La molécula candidata puede seleccionarse del grupo que consiste en una molécula pequeña, un péptido, un polipéptido y un anticuerpo. Aquellos expertos en la técnica apreciarán que pueden ser adecuados otros tipos de moléculas candidatas. El nivel de unión de MCAM puede controlarse mediante técnicas conocidas que incluyen, sin limitación, microscopía fluorescente, FACS y ELISA. Las células que expresan una cadena $\alpha 4$ de laminina pueden ser células endoteliales. La cadena $\alpha 4$ de laminina puede ser una cadena $\alpha 4$ de la laminina 411.

20 Los ensayos de selección para candidatos a fármacos antagonistas pueden diseñarse para identificar compuestos que se unen o forman complejos con MCAM (incluida una subunidad u otro fragmento de la misma) o con un ligando de MCAM, tal como una cadena $\alpha 4$ de laminina (por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina 411), o interfieren de otro modo con la interacción de MCAM con otras proteínas celulares, interfiriendo, de este modo, con la interacción de MCAM con su ligando, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina. Los ensayos de selección proporcionados en la presente memoria incluyen ensayos susceptibles de selección de alto rendimiento de bibliotecas químicas, lo que los hace particularmente adecuados para identificar fármacos candidatos de moléculas pequeñas. Generalmente, se proporcionan ensayos de unión y ensayos de actividad.

Los ensayos pueden realizarse en una variedad de formatos, que incluyen, sin limitación, ensayos de unión proteína-proteína, ensayos de selección bioquímicos, inmunoensayos y ensayos basados en células, que están bien caracterizados en la técnica.

30 Todos los ensayos para antagonistas y agonistas son comunes porque requieren el contacto del fármaco candidato con un polipéptido MCAM, o un polipéptido ligando de MCAM, p. ej., una cadena $\alpha 4$ de laminina, o un fragmento de dichos polipéptidos (incluyendo específicamente MCAM y cadenas $\alpha 4$ de laminina) en condiciones y durante un tiempo suficiente para permitir que estos dos componentes interactúen.

35 Por ejemplo, MCAM humana es un polipéptido de 646 aminoácidos, cuya secuencia está disponible en la base de datos GenBank con el Número de Acceso AAA20922.1 (CAA48332) (SEQ ID NO:11; Figura 11A). Las secuencias de aminoácidos para la cadena $\alpha 4$ de laminina humana están disponibles en la base de datos GenBank con los Números de Acceso NP001098676 y NP001098677 (las SEQ ID NO: 27-28; FIG. 12A-B). La producción de anticuerpos o pequeñas moléculas que se unen a dichos polipéptidos está dentro de la experiencia del experto en la técnica.

40 En los ensayos de unión, la interacción es la unión, y el complejo formado puede aislarse o detectarse en la mezcla de reacción. El polipéptido ligando de MCAM o MCAM o el fármaco candidato pueden inmovilizarse en una fase sólida, por ejemplo, en una placa de microtitulación, mediante uniones covalentes o no covalentes. La unión no covalente generalmente se logra recubriendo la superficie sólida con una solución del polipéptido ligando de MCAM o MCAM y secando. Alternativamente, se puede usar un anticuerpo inmovilizado, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal, específico para el polipéptido ligando de MCAM o MCAM a inmovilizar para anclarlo a una superficie sólida. El ensayo se realiza agregando el componente no inmovilizado, que puede estar marcado por un marcador detectable, al componente inmovilizado, por ejemplo, la superficie recubierta que contiene el componente anclado. Cuando se completa la reacción, los componentes que no reaccionan se eliminan, por ejemplo, mediante lavado, y se detectan los complejos anclados a la superficie sólida. Cuando el componente originalmente no inmovilizado lleva un marcador detectable, la detección del marcador inmovilizado en la superficie indica que se ha producido la formación de complejos. Cuando el componente originalmente no inmovilizado no lleva un marcador, puede detectarse la formación del complejo, por ejemplo, utilizando un anticuerpo marcado que se une específicamente al complejo inmovilizado.

55 Si el compuesto candidato es un polipéptido que interactúa pero no se une a MCAM o al polipéptido ligando de MCAM, su interacción con el polipéptido respectivo puede analizarse mediante métodos bien conocidos para detectar interacciones proteína-proteína. Tales ensayos incluyen enfoques tradicionales, tales como, por ejemplo, entrecruzamiento, co-inmunoprecipitación y co-purificación a través de gradientes o columnas cromatográficas. Además, las interacciones proteína-proteína pueden controlarse utilizando un sistema genético basado en levaduras descrito por Fields y sus colaboradores (Fields y Song, Nature (London), 340:245-246 (1989); Chien et al., Proc.

Natl. Acad. Sci. USA, 88:9578-9582 (1991)) como el descrito por Chevray y Nathans, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 5789-5793 (1991).

Pueden analizarse los compuestos que interfieren con la interacción de MCAM y otros componentes extracelulares, en particular un polipéptido ligando de MCAM, de la siguiente manera. Por lo general, se prepara una mezcla de reacción que contiene MCAM y el componente extracelular (por ejemplo, un ligando de MCAM tal como una cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina 411) en condiciones y durante un tiempo que permita la interacción de los dos productos. Para probar la capacidad de un compuesto candidato para inhibir la interacción de MCAM y su ligando, la reacción se ejecuta en ausencia y en presencia del compuesto de prueba. Además, se puede agregar un placebo a una tercera mezcla de reacción, para servir como control positivo. Debido a que se ha demostrado que MCAM se une específicamente a su ligando, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina, la capacidad del compuesto de prueba para inhibir la interacción de MCAM/ligando de MCAM se puede probar, por ejemplo, midiendo el grado de unión entre MCAM y su ligando en ausencia y presencia del compuesto de prueba. Si el grado de unión de MCAM a su ligando es menor en ausencia del compuesto candidato que en su presencia, el compuesto candidato es un antagonista de MCAM según la definición de la presente invención.

Un protocolo de selección alternativo implica el uso de una población de células que expresan una cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de la laminina 411, que puede incubarse con MCAM, en presencia y ausencia de un compuesto de prueba, y controlar la unión de MCAM a la población celular, por ejemplo por microscopía de fluorescencia (ejemplificada en el Ejemplo 5). Los expertos en la técnica apreciarán otros métodos de control, incluyendo separación de células activadas por fluorescencia (FACS) y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Si la unión de MCAM a la población celular en presencia del compuesto de prueba es menor que en su ausencia, el compuesto de prueba es un antagonista de MCAM.

Los antagonistas de MCAM identificados en función de su capacidad para inhibir la unión de MCAM a su ligando, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina, son fármacos candidatos para el tratamiento de afecciones neuroinflamatorias caracterizadas por la infiltración de células que expresan MCAM en el SNC.

Se enfatiza que los ensayos de selección específicamente analizados en la presente memoria, son solo para ilustración. Una variedad de otros ensayos, que pueden seleccionarse dependiendo del tipo de antagonistas candidatos explorados (por ejemplo, polipéptidos, péptidos, moléculas orgánicas pequeñas no peptídicas, aptámeros, ribozimas, ácido nucleico, etc.) son bien conocidos por los expertos en la técnica y son igualmente adecuados para los fines de la presente invención.

6.2 Anticuerpos

En un aspecto, un antagonista de MCAM es un anticuerpo anti-MCAM o un anticuerpo anti cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina 411, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-MCAM es un anticuerpo bloqueante que bloquea total o parcialmente la interacción de MCAM con su ligando, una cadena $\alpha 4$ de laminina. En otras realizaciones, un anticuerpo anti cadena $\alpha 4$ de laminina es un anticuerpo bloqueante que bloquea total o parcialmente la interacción de una cadena $\alpha 4$ de laminina con MCAM. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-MCAM se une al dominio extracelular de MCAM que interactúa con su ligando, una cadena $\alpha 4$ de laminina. En una realización preferida, la cadena $\alpha 4$ de laminina es una cadena $\alpha 4$ de laminina 411.

Un anticuerpo anti-MCAM puede unirse específicamente o selectivamente a un fragmento de MCAM que comprende o tiene la secuencia de aminoácidos de la posición 19 a la posición 129 de la SEQ ID NO: 11 (SEQ ID NO:22). Un anticuerpo anti-MCAM puede unirse específicamente o selectivamente a un fragmento de MCAM que comprende o tiene la secuencia de aminoácidos de la posición 139 a la posición 242 de la SEQ ID NO: 11 (SEQ ID NO:23). Un anticuerpo anti-MCAM puede unirse específicamente o selectivamente a un fragmento de MCAM que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO:22 y 23.

El anticuerpo antagonista puede bloquear la interacción de un dominio de MCAM que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:22 y/o la SEQ ID NO:23 con una cadena $\alpha 4$ de laminina.

En otras realizaciones, el anticuerpo anti-MCAM o fragmento de anticuerpo comprende las siguientes regiones hipervariables (las HVR):

- a) HVR-L1 mostrada como la SEQ ID NO:73;
- b) HVR-L2 mostrada como la SEQ ID NO:74;
- c) HVR-L3 mostrada como la SEQ ID NO:75;
- d) HVR-H1 mostrada como la SEQ ID NO:78;
- e) HVR-H2 mostrada como la SEQ ID NO:79; y/o
- f) HVR-H3 mostrada como la SEQ ID NO:80.

En otra realización, el anticuerpo anti-MCAM o fragmento de anticuerpo comprende un dominio variable de cadena ligera mostrado como una cualquiera de las SEQ ID NO:70, 71 o 72 y/o un dominio variable de cadena pesada mostrado como la SEQ ID NO:77.

5 En otras realizaciones, el anticuerpo anti-MCAM o fragmento de anticuerpo comprende las siguientes regiones hipervariables (las HVR):

- a) HVR-L1 mostrada como la SEQ ID NO:73;
- b) HVR-L2 mostrada como la SEQ ID NO:74;
- c) HVR-L3 mostrada como la SEQ ID NO:75;
- d) HVR-H1 mostrada como la SEQ ID NO:141;
- 10 e) HVR-H2 mostrada como la SEQ ID NO:79; y/o
- f) HVR-H3 mostrada como la SEQ ID NO:80.

15 En otra realización, el anticuerpo anti-MCAM o fragmento de anticuerpo comprende además (a) una región marco 2 (FR2) de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 134; (b) una región marco 3 (FR3) de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:135; (c) una región marco 1 (FR1) de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147; (d) una región marco 2 (FR2) de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:148; y/o (e) una región marco 3 (FR3) de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149.

En otra realización, el antagonista de MCAM se une a sustancialmente el mismo epítipo que, o compite por unirse con, un anticuerpo anti-MCAM que comprende las siguientes HVR:

- 20 a) HVR-L1 mostrada como la SEQ ID NO:73;
- b) HVR-L2 mostrada como la SEQ ID NO:74;
- c) HVR-L3 mostrada como la SEQ ID NO:75;
- d) HVR-H1 mostrada como la SEQ ID NO:78;
- e) HVR-H2 mostrada como la SEQ ID NO:79; y/o
- 25 f) HVR-H3 mostrada como la SEQ ID NO:80.

En otra realización, el antagonista de MCAM se une a sustancialmente el mismo epítipo que, o compite por unirse con, un anticuerpo anti-MCAM que comprende un dominio variable de cadena ligera mostrado como una cualquiera de las SEQ ID NO:70, 71 o 72 y/o un dominio variable de cadena pesada mostrado como la SEQ ID NO:77.

30 La descripción proporciona un anticuerpo que se une a MCAM, en donde el anticuerpo comprende un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, o al menos el 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104; SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118 y SEQ ID NO: 119. El anticuerpo anti-MCAM puede comprender un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, o al menos el 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122 y SEQ ID NO: 123. El anticuerpo puede comprender un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, o al menos el 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada de la SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 95, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104; SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118 y SEQ ID NO: 119 y el anticuerpo comprende adicionalmente un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos el 90 %, al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, o al menos el 99 % de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 98, SEQ ID NO: 99, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 121, SEQ ID NO: 122 y SEQ ID NO: 123.

50 La descripción describe un anticuerpo que es una variante de cualquiera de los anticuerpos anteriores que tiene una o más sustituciones, deleciones, inserciones o modificaciones de aminoácidos, y que retiene una función biológica del anticuerpo. La invención proporciona un anticuerpo que se une a MCAM expresada en la superficie celular e

inhibe la unión de MCAM a laminina 411. El anticuerpo anti-MCAM se une a MCAM expresada en la superficie celular e inhibe la progresión de la enfermedad. En algunas realizaciones, se inhibe la progresión de una enfermedad autoinmunitaria. En una realización, se inhibe la progresión de la esclerosis múltiple. La descripción describe un anticuerpo que es una variante de uno cualquiera de los anticuerpos anteriores que tiene mejoras en una o más de una propiedad tal como afinidad de unión, especificidad, termoestabilidad, nivel de expresión, función efectora, glicosilación, inmunogenicidad reducida o solubilidad en comparación con el anticuerpo no modificado.

En otras realizaciones, el anticuerpo anti-MCAM se une a MCAM expresada en la superficie celular e inhibe la progresión de un cáncer metastásico. En una realización, el cáncer metastásico se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de pulmón y cáncer de páncreas.

La descripción, en la presente memoria, incluye la producción y el uso de anticuerpos antagonistas de MCAM. Se describen con más detalle en la presente memoria, métodos ejemplares para generar anticuerpos. Los anticuerpos de MCAM pueden incluir, pero no se limitan a, anticuerpos policlonales, monoclonales, multiespecíficos, humanos, humanizados, primatizados o quiméricos, anticuerpos de cadena sencilla (por ejemplo, scFv), fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), fragmentos producidos por una biblioteca de expresión de Fab, anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (que incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-Id para anticuerpos de las presentes realizaciones), y fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los anteriores. Los fragmentos de anticuerpos de unión al antígeno humano incluyen, pero no se limitan a, Fab, Fab' y F(ab')₂, Fd, los Fv de cadena sencilla (scFv), anticuerpos de cadena sencilla, Fv unidos a disulfuro (sdFv), y fragmentos que comprenden un dominio VL o VH. Los fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno, incluidos los anticuerpos de cadena sencilla, pueden comprender la región o regiones variables solas o en combinación con la totalidad o una porción de los siguientes: región bisagra, dominios CH1, CH2 y CH3. También se incluyen los fragmentos de unión a antígeno que pueden comprender cualquier combinación de la región o regiones variables con una región bisagra, dominios CH1, CH2 y CH3. Los anticuerpos pueden ser de cualquier origen animal, incluidas aves y mamíferos. Típicamente, los anticuerpos son de seres humanos u otros primates, murinos (por ejemplo, de ratón y rata), de burro, oveja, mono, conejo, cabra, cobaya, cerdo, camello, caballo o pollo (u otras aves). Como se usa en la presente memoria, los anticuerpos "humanos" incluyen anticuerpos que tienen la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana, e incluyen anticuerpos aislados a partir de bibliotecas de inmunoglobulinas humanas o de animales transgénicos para una o más inmunoglobulinas humanas y que no expresan inmunoglobulinas endógenas, como se describe, por ejemplo en la Patente de Estados Unidos Número 5.939.598.

En otra realización, el anticuerpo de MCAM puede ser un anticuerpo monoclonal. En otra realización adicional, el anticuerpo puede modificarse químicamente, por ejemplo, mediante pegilación. Adicionalmente, otros anticuerpos pueden identificarse utilizando técnicas disponibles en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos capaces de unirse específicamente a MCAM pueden producirse usando tecnología de presentación en fagos. Después, pueden aislarse los fragmentos de anticuerpos que se unen selectivamente a MCAM. Se describen métodos ejemplares para producir tales anticuerpos a través de presentación en fagos, por ejemplo, en la patente de EE.UU. n.º 6.225.447, por ejemplo.

Los anticuerpos monoclonales también se pueden producir usando los métodos de hibridoma convencionales. Estos métodos se han aplicado ampliamente para producir líneas celulares híbridas que secretan elevados niveles de anticuerpos monoclonales dirigidos contra muchos antígenos específicos, y también se pueden usar para producir anticuerpos monoclonales capaces de unirse específicamente a MCAM. Por ejemplo, se pueden inmunizar ratones (por ejemplo, ratones Balb/c) con un epítipo de MCAM antigénico mediante inyección intraperitoneal. Después de que haya pasado suficiente tiempo para permitir una respuesta inmunitaria, los ratones se sacrifican y las células de bazo se obtienen y fusionan con células de mieloma, utilizando técnicas bien conocidas en la técnica. Las células fusionadas resultantes, hibridomas, se hacen crecer a continuación en medio selectivo, y las células que sobreviven se cultivan en dicho medio usando condiciones de dilución limitantes. Después de la clonación y la reclonación, se pueden aislar hibridomas para anticuerpos secretores (por ejemplo, de la clase IgG o IgM o subclase IgG1) que se unen selectivamente a MCAM. Para producir agentes específicos para uso humano, el monoclonal aislado se puede usar, a continuación, para producir anticuerpos quiméricos y humanizados.

Los anticuerpos antagonistas de MCAM se seleccionan usando un antígeno derivado de una especie de mamífero. Preferiblemente, el antígeno es MCAM humana o una cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina 411. Sin embargo, también se pueden usar polipéptidos de otras especies tal como MCAM murino o cadena $\alpha 4$ de laminina como el antígeno diana. Los antígenos de varias especies de mamíferos pueden aislarse de fuentes naturales. En otras realizaciones, el antígeno se produce de forma recombinante o se fabrica utilizando otros métodos sintéticos conocidos en la técnica. El anticuerpo seleccionado normalmente tendrá una afinidad de unión suficientemente fuerte para el antígeno. Por ejemplo, el anticuerpo puede unirse a MCAM humana o a una cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina 411 con un valor K_d de no más de aproximadamente 5 nM, preferiblemente no más de aproximadamente 2 nM, y más preferiblemente no más de aproximadamente 500 pM. Las afinidades del anticuerpo pueden determinarse mediante un ensayo basado en resonancia de plasmón superficial (tal como el ensayo BIAcore como se describe en los Ejemplos); ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA); y los ensayos de competencia (por ejemplo, los RIA), por ejemplo.

Además, el anticuerpo puede someterse a otros ensayos de actividad biológica, por ejemplo, para evaluar su

eficacia como un agente terapéutico. Tales ensayos son conocidos en la técnica y dependen del antígeno diana y del uso previsto para el anticuerpo. Los ejemplos incluyen la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE) (como se describe en el Ejemplo 7 a continuación), y los ensayos *in vitro* e *in vivo* descritos en la presente memoria para identificar antagonistas de MCAM.

- 5 Para detectar anticuerpos que se unen a un epítipo particular en el antígeno de interés, se puede realizar un ensayo de bloqueo cruzado de rutina tal como el que se describe en *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Ed Harlow y David Lane (1988). Alternativamente, se puede realizar el mapeo de epítopos, por ejemplo, como se describe en Champe et al. (1995) *J. Biol. Chem.* 270:1388-1394, para determinar si el anticuerpo se une a un epítipo de interés.
- 10 Los anticuerpos antagonistas pueden seleccionarse utilizando un enfoque de presentación en fagos exclusivo. El enfoque implica la generación de bibliotecas de fagos de anticuerpos sintéticos basadas en una plantilla de marco único, el diseño de diversidades suficientes dentro de los dominios variables, la presentación de polipéptidos que tienen los dominios variables diversificados, la selección de anticuerpos candidatos con alta afinidad para antígeno diana y el aislamiento de los anticuerpos seleccionados. Los detalles de los métodos de presentación en fagos se
- 15 pueden encontrar, por ejemplo, en el documento WO03/102157 publicado el 11 de diciembre de 2003. El anticuerpo generado a partir de bibliotecas de fagos puede modificarse adicionalmente para generar mutantes del anticuerpo con propiedades físicas, químicas y o biológicas mejoradas sobre el anticuerpo precursor. Cuando el ensayo utilizado es un ensayo de actividad biológica, el mutante del anticuerpo tiene preferiblemente una actividad biológica en el ensayo de elección que es al menos aproximadamente 10 veces mejor, preferiblemente al menos
- 20 aproximadamente 20 veces mejor, más preferiblemente al menos aproximadamente 50 veces mejor, y a veces al menos aproximadamente 100 veces o 200 veces mejor que la actividad biológica del anticuerpo precursor en ese ensayo. Por ejemplo, un mutante de anticuerpo anti-MCAM tiene preferiblemente una afinidad de unión por MCAM que es al menos aproximadamente 10 veces más fuerte, preferiblemente al menos aproximadamente 20 veces más fuerte, más preferiblemente al menos aproximadamente 50 veces más fuerte, y algunas veces al menos
- 25 aproximadamente 100 veces o 200 veces más fuerte que la afinidad de unión de los anticuerpos anti-MCAM precursores, tal como los anticuerpos clon 15 o 17.

- Los anticuerpos quiméricos y humanizados se pueden producir a partir de anticuerpos no humanos, y pueden tener una afinidad de unión igual o similar a la del anticuerpo a partir del cual se producen. Las técnicas ejemplares para producir anticuerpos quiméricos incluyen el corte y empalme de los genes de, por ejemplo, una molécula de
- 30 anticuerpo de ratón de especificidad por el antígeno apropiada junto con genes de una molécula de anticuerpo humano de actividad biológica apropiada. Véase, por ejemplo, Morrison et al., 1984 *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 81: 6851; Neuberger et al., 1984 *Nature* 312: 604; y Takeda et al., 1985 *Nature* 314: 452. Por ejemplo, un ácido nucleico que codifica una región variable (V) de un anticuerpo monoclonal de ratón se puede unir a un ácido nucleico que codifica una región constante (C) humana, por ejemplo, IgG1 o IgG4. El anticuerpo resultante es, por lo tanto, un
 - 35 híbrido de especies, generalmente con el dominio de unión a antígeno del anticuerpo no humano y el dominio C o efector de un anticuerpo humano o de primate.

- Los anticuerpos humanizados son anticuerpos con regiones variables que son principalmente de un anticuerpo humano (es decir, el anticuerpo aceptor), pero que tienen regiones determinantes de complementariedad sustancialmente de un anticuerpo no humano (el anticuerpo donante). Véase, por ejemplo, Queen et al., *Proc. Nat'l. Acad. Sci USA* 86: 10029-10033 (1989); el documento WO 90/07861, las patentes de Estados Unidos n.º 7.435.802, 6.054.297; 5.693.761; 5.585.089; 5.530.101; y 5.224.539. La región o regiones constantes de estos anticuerpos
- 40 también proceden, por lo general, de un anticuerpo humano. Los dominios variables humanos se seleccionan, típicamente, de anticuerpos humanos que tienen secuencias que presentan una homología elevada con los dominios de unión a la región variable no humana deseados. Los restos variables de las cadenas pesada y ligera pueden derivar del mismo anticuerpo, o de un anticuerpo humano diferente. Además, las secuencias se pueden elegir como un consenso de varios anticuerpos humanos, tal como se describe en el documento WO 92/22653.
 - 45

- Un "anticuerpo Primatized™" es un anticuerpo recombinante que contiene secuencias variables o porciones de unión a antígeno de primates, y secuencias de dominio constante humano. Véase por ejemplo, Newman, *Bio/Technology*, 1992, 10: 1455-60. La primatización de los anticuerpos da como resultado la generación de
- 50 anticuerpos que contienen dominios variables de primates (por ejemplo, mono) y secuencias constantes humanas. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos n.º 6.113.898. Esta técnica modifica los anticuerpos de forma que no se rechacen cuando se administran a seres humanos, puesto que son antigénicos. Esta técnica se basa en la inmunización de monos *cinomolgus* con antígenos o receptores humanos. Esta técnica se desarrolló para crear anticuerpos monoclonales de elevada afinidad dirigidos a los antígenos de la superficie celular humanos.

- 55 En otro aspecto, los aminoácidos específicos dentro de la región variable humana se pueden seleccionar para sustitución basándose en la conformación predicha y en las propiedades de unión a antígeno. Esto se puede determinar utilizando técnicas tales como el modelado por ordenador, la predicción del comportamiento y las propiedades de unión de los aminoácidos en ciertas ubicaciones dentro de la región variable, y la observación de los efectos de la sustitución. Por ejemplo, cuando un aminoácido difiere entre una región variable no humana y una
- 60 región variable humana, la región variable humana puede alterarse para reflejar la composición de aminoácidos de la región variable no humana. Los anticuerpos utilizados en el régimen de dosificación crónico pueden ser

anticuerpos humanizados tal como se divulga en la patente de Estados Unidos n.º 5.840.299. Los ratones transgénicos que contienen genes de anticuerpos humanos se pueden inmunizar con una estructura antigénica de MCAM y se puede utilizar tecnología de hibridomas para generar anticuerpos humanos que se unen selectivamente a MCAM.

- 5 Se pueden producir anticuerpos quiméricos, humanos y/o humanizados utilizando la expresión recombinante, por ejemplo, la expresión en hibridomas humanos (Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, pág. 77 (1985)), en células de mieloma o en células de ovario de hámster chino (CHO). Como alternativa, las secuencias codificantes de anticuerpos se pueden incorporar a transgenes para su introducción en el genoma de un animal transgénico y su posterior expresión en la leche del animal transgénico. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N.º 6.197.946. Los transgenes adecuados ejemplares incluyen, pero no se limitan a, transgenes que tienen un promotor y/o potenciador de un gen específico de la glándula mamaria, por ejemplo caseína o β -lactoglobulina.

6.3 Variantes de Anticuerpos

- 15 Además de los anticuerpos antagonistas de MCAM descritos en la presente memoria, se contempla que pueden prepararse variantes de dichos anticuerpos. Pueden prepararse las variantes de anticuerpos antagonistas anti-MCAM introduciendo cambios de nucleótidos apropiados en el ADN codificante, y/o mediante síntesis del anticuerpo deseado. Los expertos en la técnica apreciarán que los cambios de aminoácidos pueden alterar los procesos posteriores a la traducción del anticuerpo anti-MCAM, tales como cambiar el número o la posición de los sitios de glicosilación.

- 20 Las variaciones en los anticuerpos antagonistas de MCAM descritas en la presente memoria se pueden hacer, por ejemplo, utilizando cualquiera de las técnicas y directrices para mutaciones conservativas y no conservativas establecidas, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos N.º 5.364.934. Las variaciones pueden ser una sustitución, delección o inserción de uno o más codones que codifican el anticuerpo, que da como resultado un cambio en la secuencia de aminoácidos en comparación con el anticuerpo de secuencia natural. Opcionalmente, la variación se realiza mediante la sustitución de al menos un aminoácido por cualquier otro aminoácido en uno o más de los dominios del anticuerpo antagonista de MCAM. Se puede encontrar una guía para determinar qué resto de aminoácido se puede insertar, sustituir o eliminar sin afectar negativamente a la actividad deseada comparando la secuencia del anticuerpo antagonista de MCAM con la de moléculas de proteínas conocidas homólogas y minimizando el número de cambios de secuencias de aminoácidos realizados en regiones de alta homología. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser el resultado de reemplazar un aminoácido por otro aminoácido que tiene propiedades estructurales y/o químicas similares, tal como el reemplazo de una leucina por una serina, es decir, reemplazos de aminoácidos conservativos. Opcionalmente, las inserciones o las delecciones pueden estar en el intervalo de aproximadamente 1 a 5 aminoácidos. La variación permitida se puede determinar haciendo sistemáticamente inserciones, delecciones o sustituciones de aminoácidos en la secuencia y probando las variantes resultantes para la actividad mostrada por la secuencia natural de longitud completa o madura.

- Las modificaciones covalentes de los anticuerpos anti-MCAM están incluidas dentro del alcance de la presente invención. Las modificaciones covalentes incluyen la reacción de restos de aminoácidos que se tienen como objetivo de un anticuerpo anti-MCAM con un agente de derivatización orgánico que es capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o con los restos N o C-terminal del anticuerpo anti-MCAM. Otras modificaciones incluyen la desamidación de los restos glutaminilo y asparaginilo a los restos correspondientes glutamilo y aspártico, respectivamente, la hidroxilación de prolina y lisina, la fosforilación de los grupos hidroxilo de los restos serilo o treonilo, la metilación de los grupos α -amino de las cadenas laterales de lisina, arginina e histidina (T.E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, pág. 79-86 (1983)), la acetilación de la amina N-terminal y la amidación de cualquier grupo carboxilo C-terminal.

- 45 En un aspecto, los anticuerpos antagonistas de MCAM de la presente descripción comprenden una o más mutaciones de desamidación en la secuencia de aminoácidos. La desamidación de los restos de aminoácidos es una modificación estructural común en los polipéptidos recombinantes, que puede conducir a la formación de ácido isoaspártico que produce una estabilidad disminuida. La desamidación se puede asociar con las secuencias de glicina (G)-asparagina (N), incluidas las secuencias de G-N y N-G. El anticuerpo puede comprender una mutación por desamidación. La mutación por desamidación puede ser la sustitución de un resto de aminoácido N o un resto de aminoácido G. La sustitución se puede seleccionar del grupo que consiste en $N \rightarrow S$, $N \rightarrow A$ y $G \rightarrow Q$. La mutación por desamidación se puede ubicar en el resto N32 o G33 de Kabat.

- Otros tipos de modificación covalente del anticuerpo anti-MCAM incluidos en la descripción incluyen alterar el patrón de glicosilación natural del anticuerpo o polipéptido (Beck et al., *Curr. Pharm. Biotechnol.* 9: 482-501, 2008; Walsh, *Drug Discov. Today* 15: 773-780, 2010), y unir el anticuerpo a uno de una variedad de polímeros no proteicos, por ejemplo, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol o polioxialquilenos, de la manera expuesta en las Patentes de EE.UU. n.º 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192 o 4.179.337.

Los anticuerpos antagonistas de MCAM de la descripción comprenden una o más mutaciones por glicosilación en la secuencia de aminoácidos. La mutación puede eliminar o restablecer/introducir un sitio de glicosilación. En general,

la mutación por glicosilación se asocia con un resto de asparagina (N). El anticuerpo puede comprender una mutación por glicosilación. La mutación por glicosilación puede ser la introducción de un resto de aminoácido N. La introducción puede ser el reemplazo de un resto de ácido aspártico (D) por un resto de N (D → N). La mutación puede localizarse en el resto 72 de Kabat.

- 5 En la presente memoria, se proporcionan los fragmentos de anticuerpos antagonistas de MCAM. Dichos fragmentos pueden truncarse en el extremo N o en el extremo C, o pueden carecer de restos internos, por ejemplo, cuando se comparan con un anticuerpo natural de longitud completa. Ciertos fragmentos carecen de restos de aminoácidos que no son esenciales para una actividad biológica deseada del anticuerpo antagonista de MCAM.

- 10 Los fragmentos de anticuerpos antagonistas de MCAM pueden prepararse mediante cualquiera de una serie de técnicas convencionales. Los fragmentos peptídicos deseados pueden sintetizarse químicamente. Un enfoque alternativo implica generar fragmentos de anticuerpos o polipéptidos mediante digestión enzimática, por ejemplo, tratando la proteína con una enzima que se sabe que escinde proteínas en sitios definidos en restos de aminoácidos particulares, o digiriendo el ADN con enzimas de restricción adecuadas y aislando el fragmento deseado. Otra técnica más adecuada implica aislar y amplificar un fragmento de ADN que codifica un fragmento de anticuerpo o polipéptido deseado, mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los oligonucleótidos que definen los extremos deseados del fragmento de ADN se emplean en los cebadores 5' y 3' en la PCR. Preferiblemente, los fragmentos de anticuerpos antagonistas anti-MCAM comparten al menos una actividad biológica y/o inmunitaria con un anticuerpo antagonista de MCAM natural descrito en la presente memoria.

- 20 Las sustituciones conservativas de interés se muestran en la Tabla 1 a continuación bajo, el encabezado de sustituciones preferidas. Si tales sustituciones dan como resultado un cambio en la actividad biológica, entonces se introducen cambios más sustanciales, como se describe adicionalmente más adelante haciendo referencia a las clases de aminoácidos, y se detectan los productos.

- 25 Las modificaciones sustanciales en la función o la identidad inmunológica del anticuerpo antagonista de MCAM se realizan seleccionando sustituciones que difieren significativamente en su efecto en mantener (a) la estructura del esqueleto polipeptídico en el área de la sustitución, por ejemplo, como una lámina o conformación helicoidal, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana, o (c) la mayor parte de la cadena lateral. Los restos de origen natural se dividen en grupos basándose en las propiedades comunes de la cadena lateral:

(1) hidrófobos: norleucina, met, ala, val, leu, ile;

(2) hidrófilos neutros: cys, ser, thr;

- 30 (3) ácidos: asp, glu;

(4) básicos: asn, gln, his, lys, arg;

(5) restos que influyen en la orientación de la cadena: gly, pro; y

(6) aromáticos: trp, tyr, phe.

- 35 Las sustituciones no conservativas implicarán el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase. Dichos restos sustituidos también pueden introducirse en los sitios de sustitución conservativa o, más preferiblemente, en los sitios restantes (no conservados).

Tabla 1

Resto original	Sustituciones ejemplares	Sustituciones preferidas
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; lys; arg	gln
Asp (D)	glu	glu
Cys (C)	ser	ser
Gln (Q)	asn	asn
Glu (E)	asp	asp
Gly (G)	pro; ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; norleucina	leu
Leu (L)	norleucina; ile; val; met; ala; phe	ile

Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	leu
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; norleucina	leu

Las variaciones pueden realizarse utilizando métodos conocidos en la técnica, tales como mutagénesis mediada por oligonucleótidos (dirigida al sitio), barrido de alanina y mutagénesis por PCR. Se puede realizar mutagénesis dirigida al sitio [Carter et al., Nucl. Acids Res., 13:4331 (1986); Zoller et al., Nucl. Acids Res., 10:6487 (1987)], mutagénesis en casete [Wells et al., Gene, 34:315 (1985)], mutagénesis de selección por restricción [Wells et al., Philos. Trans. R. Soc. London SerA, 317:415 (1986)] u otras técnicas conocidas en el ADN clonado para producir el ADN de la variante del anticuerpo antagonista de MCAM.

También puede emplearse análisis de aminoácidos de barrido para identificar uno o más aminoácidos a lo largo de una secuencia contigua. Entre los aminoácidos de barrido preferidos se encuentran aminoácidos neutros relativamente pequeños. Tales aminoácidos incluyen alanina, glicina, serina y cisteína. La alanina es normalmente un aminoácido de barrido preferido dentro de este grupo debido a que elimina la cadena lateral más allá del carbono beta y tiene menos probabilidades de alterar la conformación de cadena principal de la variante [Cunningham y Wells, Science, 244:1081-1085 (1989)]. También se prefiere típicamente la alanina debido a que es el aminoácido más común. Además, se encuentra con frecuencia tanto en posiciones internas como expuestas [Creighton, The Proteins, (W.H. Freeman & Co., N.Y.); Choithia, J. Mol. Biol., 150:1 (1976)]. Si la sustitución de alanina no produce cantidades adecuadas de variante, se puede usar un aminoácido isotérico.

Cualquier resto de cisteína que no esté involucrado en el mantenimiento de la conformación adecuada del anticuerpo antagonista de MCAM también puede sustituirse, generalmente por serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y prevenir el entrecruzamiento aberrante. A la inversa, puede añadirse un enlace o enlaces de cisteína al anticuerpo antagonista de MCAM para mejorar su estabilidad (particularmente cuando el anticuerpo sea un fragmento de anticuerpo tal como un fragmento Fv).

Un tipo particularmente preferido de variante de sustitución implica sustituir uno o más restos de la región hipervariable de un anticuerpo precursor (por ejemplo un anticuerpo humano o humanizado). Generalmente, la(s) variante(s) resultante(s) seleccionada(s) para el desarrollo adicional tendrán propiedades biológicas mejoradas con respecto al anticuerpo precursor a partir del cual se generan. Una manera conveniente para generar dichas variantes de sustitución implica la maduración por afinidad usando presentación en fagos. Brevemente, varios sitios en la región hipervariable (por ejemplo, 6-7 sitios) están mutados para generar todas las posibles sustituciones de amino en cada sitio. Las variantes de anticuerpos generadas de esta manera se presentan de manera monovalente a partir de partículas de fagos filamentosos como fusiones con el producto del gen III del M13 empaquetado en cada partícula. Las variantes presentadas en fagos se seleccionan a continuación para su actividad biológica (por ejemplo, afinidad de unión) como se describe en la presente memoria. Con el fin de identificar los sitios de la región hipervariable candidatos para la modificación, se puede realizar una mutagénesis de barrido de alanina para identificar los restos de la región hipervariable que contribuyen significativamente a la unión del antígeno. Alternativamente, o adicionalmente, puede ser beneficioso analizar una estructura cristalina del complejo antígeno-anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el anticuerpo y MCAM humana o el polipéptido de laminina 411. Dichos restos de contacto y restos vecinos son candidatos para la sustitución según las técnicas elaboradas en la presente memoria. Una vez generadas tales variantes, el panel de variantes se somete a selección como se describe en la presente memoria y se pueden seleccionar los anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos relevantes para desarrollo adicional.

Los anticuerpos madurados por afinidad preferidos tienen una afinidad que es cinco veces, más preferiblemente 10 veces, incluso más preferiblemente 20 o 30 veces mayor que el anticuerpo de partida (generalmente murino, humanizado o humano) a partir del cual se prepara el anticuerpo madurado.

Las moléculas de ácido nucleico que codifican las variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo antagonista de MCAM se preparan mediante una diversidad de procedimientos conocidos en la técnica. Estos métodos incluyen, pero no se limitan a, aislamiento de una fuente natural (en el caso de variantes de secuencias de aminoácidos de origen natural) o preparación mediante mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida al sitio), mutagénesis

por PCR y mutagénesis en casete de una variante preparada anteriormente o una versión no variante del anticuerpo antagonista de MCAM.

También se incluyen en la descripción los anticuerpos que se unen al mismo epítipo que los anticuerpos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, los anticuerpos de la descripción se unen específicamente a un epítipo que incluye uno o más restos de aminoácidos en la MCAM humana (N.º de acceso AAA20922.1/CAA48332). Los anticuerpos de la descripción se unen específicamente a MCAM, en donde el anticuerpo se une a un epítipo en la MCAM humana (por ejemplo, N.º de acceso AAA20922.1/CAA48332).

Los expertos en la materia reconocerán que es posible determinar, sin excesiva experimentación, si un anticuerpo monoclonal (por ejemplo, un anticuerpo monoclonal completamente humano) tiene la misma especificidad que un anticuerpo monoclonal de la descripción al determinar si el primero impide que este último se una a MCAM. Si el anticuerpo monoclonal que se está probando compite con el anticuerpo monoclonal de la descripción, como se muestra por una disminución en la unión por el anticuerpo monoclonal de la descripción, entonces los dos anticuerpos monoclonales se unen al mismo epítipo, o epítipo estrechamente relacionado.

Un método alternativo para determinar si un anticuerpo monoclonal tiene la especificidad del anticuerpo monoclonal de la descripción es incubar previamente el anticuerpo monoclonal de la descripción con MCAM (por ejemplo, una molécula de MCAM-Fc ejemplificada en los Ejemplos) y a continuación, agregar el anticuerpo monoclonal que se está probando para determinar si el anticuerpo monoclonal que se está probando está inhibido en su capacidad para unirse a MCAM. Si se inhibe el anticuerpo monoclonal que se está probando, entonces, con toda probabilidad, tiene la misma, o funcionalmente equivalente especificidad epitópica, que el anticuerpo monoclonal de la descripción.

Cuando se usan fragmentos de anticuerpos, se prefiere el fragmento inhibitorio más pequeño que se une específicamente al dominio de unión de la proteína diana. Por ejemplo, en función de las secuencias de la región variable de un anticuerpo, se pueden diseñar moléculas peptídicas que conservan la capacidad de unirse a la secuencia de la proteína diana. Dichos péptidos pueden sintetizarse químicamente y/o producirse mediante tecnología de ADN recombinante. Véase, por ejemplo, Marasco et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993).

La descripción comprende un agente de unión que se une esencialmente al mismo epítipo que cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente memoria. El agente de unión es capaz de unirse a la proteína MCAM en la superficie de las células. El agente de unión puede inhibir la interacción de MCAM (por ejemplo, MCAM de superficie celular) con su ligando, una proteína que comprende una cadena alfa-4 de laminina. El agente de unión puede ser un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo.

La descripción proporciona un agente de unión capaz de unirse a MCAM, en donde uno cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente desplaza al agente de unión en un ensayo de unión competitivo. El agente de unión puede ser un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo. La descripción proporciona un agente de unión capaz de unirse a MCAM, en donde el agente de unión desplaza a uno cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente en un ensayo de unión competitivo. El agente de unión puede ser un anticuerpo o un fragmento funcional del mismo.

El agente de unión puede ser un agente de unión alternativo. Estos agentes de unión alternativos pueden incluir, por ejemplo, cualquiera de los armazones de proteínas diseñados conocidos en la técnica. Tales armazones incluyen, por ejemplo, anticalinas, que se basan en el armazón de lipocalina, una estructura proteica caracterizada por un barril beta rígido que soporta cuatro bucles hipervariables que forman el sitio de unión del ligando. Las nuevas especificidades de unión están diseñadas por mutagénesis aleatoria dirigida en las regiones de bucle, en combinación con la presentación funcional y la selección guiada (Skerra (2008) FEBS J. 275: 2677-2683). Otros armazones adecuados pueden incluir, por ejemplo, adnectinas o monocuerpos, basados en el décimo dominio extracelular de la fibronectina III humana (Koide y Koide (2007) Methods Mol. Biol. 352: 95-109); anticuerpos, basados en el dominio Z de la proteína A estafilocócica (Nygren et al. (2008) FEBS J. 275: 2668-2676); DARPin, basadas en proteínas de repetición de anquirina (Stumpp et al. (2008) Drug. Discov. Today 13: 695-701); finómeros, basados en el dominio SH3 de la proteína quinasa Fyn humana (Grabulovski et al. (2007) J. Biol. Chem. 282: 3196-3204); afitinas, basadas en Sac7d de *Sulfolobus acidolarius* (Krehenbrink et al. (2008) J. Mol. Biol. 383: 1058-1068); afilinas, basadas en cristalina y-B humana (Ebersbach et al. (2007) J. Mol. Biol. 372: 172-185); avímeros, basados en los dominios A de las proteínas receptoras de membrana (Silverman et al. (2005) Biotechnol. 23: 1556-1561); péptidos de knottina ricos en cisteína (Kolmar (2008) FEBS J. 275: 2684-2690); y los inhibidores de tipo Kunitz diseñados (Nixon y Wood (2006) Curr. Opin. Drug. Discov. Dev. 9: 261-268). Para revisión, véase Gebauer y Skerra (2009) Curr. Opin. Chem. Biol. 13: 245-255. El agente de unión puede ser una anticalina, una adnectina, un anticuerpo, una DARPin, un finómero, una afitina, una afilina, un avímero, un péptido de knottina rico en cisteína, o un inhibidor de tipo Kunitz diseñado.

7. Métodos de uso

La presente invención proporciona antagonistas de MCAM para uso como agentes terapéuticos en el tratamiento de afecciones neuroinflamatorias, cáncer y enfermedades autoinmunitarias. Para la prevención, el tratamiento o la

reducción de la gravedad de una enfermedad o afección dada, la dosificación adecuada de un compuesto de la invención dependerá del tipo de enfermedad o afección a tratar, como se definió anteriormente, la gravedad y la evolución de la enfermedad o afección, si el agente se administra con fines preventivos o terapéuticos, la terapia previa, el historial clínico del paciente y la respuesta al compuesto, y el criterio del médico tratante. El compuesto se administra adecuadamente al paciente una vez o en una serie de tratamientos. Preferiblemente, es deseable determinar la curva de dosis-respuesta y la composición farmacéutica de la invención primero *in vitro*, y, a continuación, en modelos animales útiles antes del ensayo en seres humanos.

La presente descripción proporciona un método para inhibir o bloquear la interacción de MCAM expresada en células T y la cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina 411, que comprende tratar las células T con un antagonista de MCAM (como se describe en la presente memoria), inhibiendo, de este modo, la interacción de MCAM con la cadena $\alpha 4$ de laminina. La cadena $\alpha 4$ de laminina se puede expresar en la superficie de una célula, por ejemplo, una célula endotelial. El antagonista de MCAM puede ser un anticuerpo anti-MCAM. Las células T pueden ser células TH17. El tratamiento con un antagonista de MCAM puede realizarse *in vivo*. El tratamiento puede realizarse en un sujeto mamífero. El sujeto mamífero puede ser un ser humano.

La presente descripción proporciona un método para inhibir o prevenir la extravasación de células T que expresan MCAM en el sistema nervioso central (SNC) que comprende tratar las células T con un antagonista de MCAM (como se describe en la presente memoria), inhibiendo o previniendo, de este modo, la extravasación de células T que expresan MCAM en el SNC. El antagonista de MCAM puede bloquear la interacción de MCAM con la cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de la laminina 411. El antagonista de MCAM puede ser un anticuerpo anti-MCAM. La cadena $\alpha 4$ de laminina se puede expresar en la superficie de una célula, por ejemplo, una célula endotelial. Las células T pueden ser células TH17. El tratamiento con un antagonista de MCAM puede realizarse *in vivo*. El tratamiento puede realizarse en un sujeto mamífero. El sujeto mamífero puede ser un ser humano.

La presente descripción describe métodos de tratamiento para una afección neuroinflamatoria, una afección cancerosa o una enfermedad autoinmunitaria. El método comprende administrar a un sujeto mamífero que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de MCAM. La descripción describe un método para retrasar o ralentizar la progresión de una afección neuroinflamatoria, una afección cancerosa o una enfermedad autoinmunitaria. El método comprende administrar al sujeto diagnosticado con la afección o enfermedad, una cantidad eficaz de un antagonista de MCAM. La descripción describe un método para prevenir los indicios de una afección neuroinflamatoria, una afección cancerosa o una enfermedad autoinmunitaria. El método comprende administrar una cantidad eficaz de un antagonista de MCAM a un sujeto en riesgo de la afección o enfermedad, en donde el antagonista de MCAM es eficaz contra el desarrollo de indicios de la afección o enfermedad. La presente descripción describe métodos de tratamiento de un cáncer metastásico.

La presente descripción describe un antagonista de MCAM para su uso como un medicamento para, o para el tratamiento de una enfermedad, afección o trastorno descrito en la presente memoria. La presente descripción describe el uso de un antagonista de MCAM para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad, afección o trastorno descrito en la presente memoria. La presente descripción describe el uso de un antagonista de MCAM descrito en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC) caracterizado por infiltración de células que expresan MCAM en el SNC.

7.1 Afecciones Neuroinflamatorias

En un aspecto, los antagonistas de MCAM proporcionan un efecto preventivo o profiláctico contra el desarrollo o la progresión de los indicios clínicos y/o histológicos y/o bioquímicos y/o patológicos (incluyendo tanto síntomas como signos) de afecciones neuroinflamatorias en un sujeto. En una realización, la afección neuroinflamatoria se caracteriza por inflamación del SNC y/o daño celular/tisular. En una realización, los indicios incluyen aumento de la activación glial, aumento de los niveles de citoquinas/quimioquinas proinflamatorias (por ejemplo, TNF α , INF γ , IL-1 β), aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y/o aumento del reclutamiento/invasión de células inmunitarias (por ejemplo, leucocitos) al SNC. En otra realización, la neuroinflamación es una neuroinflamación crónica o progresiva asociada con la activación crónica de células del sistema inmunitario (es decir, neuroinflamación asociada a autoinmunidad). Las afecciones de neuroinflamación crónica incluyen, sin limitación, esclerosis múltiple (EM) recurrente, EM progresiva crónica, EM inactiva y enfermedad de Parkinson (EP). En otra realización, el sujeto está en riesgo de una afección neuroinflamatoria. En general, un sujeto en riesgo habrá tenido previamente una afección neuroinflamatoria como se describe en la presente memoria, o tendrá una predisposición genética para la afección neuroinflamatoria.

La eficacia del tratamiento de las afecciones neuroinflamatorias se puede medir mediante diversas evaluaciones que se usan comúnmente para evaluar afecciones inflamatorias. Por ejemplo, la salud del SNC se puede evaluar mediante la prueba de los síntomas de la EM que incluyen, pero no se limitan a, visión deficiente (por ejemplo, visión borrosa o doble, distorsión del color rojo-verde o ceguera); debilidad muscular en las extremidades; coordinación y equilibrio alterados; parálisis parcial o completa, parestesias, sensaciones sensoriales anormales transitorias (por ejemplo, sensaciones de entumecimiento, picazón, o "pinchazos y agujas"); dolor; impedimentos del habla; temblores; mareos; pérdida de audición; deficiencias cognitivas (por ejemplo, dificultades con la concentración, la atención, la memoria y la capacidad de discernir); y depresión. La prueba de EM también puede incluir una punción

lumbar (punción raquídea) para pruebas de líquido cefalorraquídeo (LCR) (por ejemplo, bandas oligoclonales de LCR que sugieren inflamación del SNC); una exploración de imágenes de resonancia magnética (IRM) de la cabeza o columna vertebral; y una prueba de la función nerviosa (por ejemplo, prueba de potenciales evocados).

La salud del SNC también se puede evaluar mediante pruebas de los síntomas de la EP que incluyen, pero no se limitan a, temblor (por ejemplo, temblor en las manos, brazos, piernas, mandíbula y cara); rigidez o agarrotamiento de las extremidades y el tronco; bradicinesia o lentitud de movimientos; inestabilidad postural o alteración del equilibrio y la coordinación; depresión y otros cambios emocionales; dificultad para tragar, masticar y hablar; problemas urinarios o estreñimiento; problemas de la piel; trastornos del sueño; y escáneres cerebrales u otras pruebas para descartar otras enfermedades.

10 7.2 Enfermedades autoinmunitarias

Para las enfermedades autoinmunitarias, el término "tratamiento" se refiere tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas para una enfermedad autoinmunitaria, en donde el objetivo es prevenir o ralentizar (disminuir) la afección o trastorno patológico que se tiene como objetivo. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya tienen una enfermedad autoinmunitaria, así como aquellos propensos a tener una enfermedad autoinmunitaria o aquellos en quienes se debe prevenir la enfermedad autoinmunitaria.

En un aspecto, los antagonistas de MCAM proporcionan un efecto preventivo o profiláctico contra el desarrollo o la progresión de los indicios clínicos y/o histológicos, y/o bioquímicos y/o patológicos (incluyendo tanto síntomas como signos) de enfermedades autoinmunitarias en un sujeto. En otra realización, el sujeto está en riesgo de enfermedad autoinmunitaria o de un brote de enfermedad autoinmunitaria. En general, un sujeto en riesgo habrá tenido previamente una enfermedad autoinmunitaria y/o uno o más brotes de enfermedad autoinmunitaria, o tendrá una predisposición genética para una enfermedad autoinmunitaria.

7.3 Cánceres Metastásicos

Para cáncer metastásico, el término "tratamiento" se refiere tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas para un cáncer metastásico, en donde el objetivo es prevenir o ralentizar (disminuir) la afección o trastorno patológico que se tiene como objetivo. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya tienen un cáncer metastásico, así como aquellos propensos a tener un cáncer metastásico o aquellos en quienes se debe prevenir el cáncer metastásico.

En un aspecto, los antagonistas de MCAM proporcionan un efecto preventivo o profiláctico contra el desarrollo de o la progresión de los indicios clínicos y/o histológicos y/o bioquímicos y/o patológicos (incluyendo tanto síntomas como signos) de un cáncer metastásico en un sujeto. En una realización, el cáncer metastásico se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de pulmón y cáncer de páncreas.

7.4 Terapia de Combinación

Los anticuerpos de la invención se pueden usar solos o en combinación con otras composiciones en una terapia. Por ejemplo, un anticuerpo de la invención puede administrarse conjuntamente con al menos un agente terapéutico adicional. En ciertas realizaciones, un agente terapéutico adicional es uno o más de los siguientes agentes modificadores de la enfermedad: teriflunomida, interferón beta-1a, interferón beta-1b, acetato de glatirámico, fingolimod y mitoxantrona. En otra realización, un agente terapéutico adicional es un agente que trata una exacerbación aguda de una enfermedad. En una realización, el agente terapéutico adicional para la exacerbación aguda es uno o más corticosteroides. En otra realización, el uno o más corticosteroides se seleccionan del grupo que consiste en prednisona, metilprednisolona y dexametasona. En otra realización, la enfermedad es esclerosis múltiple y la exacerbación aguda es una recaída o brote (por ejemplo, inflamación del SNC).

Dichas terapias de combinación mencionadas anteriormente abarcan la administración combinada (cuando se incluyen dos o más agentes terapéuticos en la misma formulación o en formulaciones separadas), y la administración por separado, en cuyo caso, la administración del anticuerpo de la invención puede producirse antes de, simultáneamente y/o a continuación de la administración del agente terapéutico adicional.

8. Composiciones Farmacéuticas

Los anticuerpos antagonistas de MCAM que se unen específicamente a MCAM o una cadena $\alpha 4$ de laminina, por ejemplo, una cadena $\alpha 4$ de laminina 411, así como otras moléculas antagonistas de MCAM identificadas por los ensayos de selección descritos anteriormente en la presente memoria, pueden administrarse para el tratamiento de diversos trastornos, en particular enfermedades neuroinflamatorias o enfermedades que se benefician de la inhibición de la infiltración de células que expresan MCAM en el SNC, en forma de composiciones farmacéuticas.

En un aspecto, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en la presente memoria. Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden comprender

(i) un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a un dominio de inmunoglobulina de MCAM que comprende la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO:22;

(ii) un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a un dominio de inmunoglobulina de MCAM que comprende la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO:23; o

- 5 (iii) un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a un dominio de MCAM que comprende las secuencias de aminoácidos mostradas como las SEQ ID NO: 22 y 23.

En otra realización, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-MCAM aislado, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende las siguientes regiones hipervariables (HVR):

(i) una HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73;

- 10 (ii) una HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74;

(iii) una HVR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75;

(iv) una HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78;

(v) una HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79; y/o

(vi) una HVR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.

- 15 En otra realización, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-MCAM aislado, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos mostrada como una cualquiera de las SEQ ID NO:70, 71 o 72 y un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos mostrada como la SEQ ID NO:77.

- 20 La composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-MCAM aislado, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une sustancialmente al mismo epítipo que un anticuerpo descrito en la presente memoria. La composición farmacéutica puede comprender un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que compite por la unión a MCAM humana con un anticuerpo descrito en la presente memoria. La presente descripción describe el uso de un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se describe en la presente memoria, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC) caracterizado por la infiltración de células que expresan MCAM en el SNC.
- 25

Los compuestos de la descripción para la prevención o el tratamiento de una afección neuroinflamatoria o enfermedad autoinmunitaria se administran típicamente mediante inyección intravenosa. También se pueden usar otros métodos de administración, que incluyen, pero no se limitan a, administración tópica, parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar, intranasal, ocular, intraocular, intravítrea, intralesional, intracerebrospinal, intraarticular, intrasinovial, intratecal, oral, tópica o por inhalación. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. Además, los compuestos descritos en la presente memoria se administran a un sujeto humano, de acuerdo con métodos conocidos, tales como la administración intravenosa como un bolo o por infusión continua durante un período de tiempo.

- 35 La presente descripción describe dosificaciones para los agentes terapéuticos basados en antagonistas de MCAM. Por ejemplo, dependiendo del tipo y la gravedad de la enfermedad, aproximadamente 1 µg/kg a 15 mg/kg (por ejemplo, 0,1-20 mg/kg) de polipéptido es una dosificación inicial candidata para la administración al paciente, ya sea, por ejemplo, por una o más administraciones separadas, o por infusión continua. Una dosificación diaria típica puede variar desde aproximadamente 1 µg/kg a 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la afección, el tratamiento se mantiene hasta que se produzca una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, pueden ser útiles otras pautas posológicas. El progreso de esta terapia se controla fácilmente mediante técnicas y ensayos convencionales.
- 40

Las composiciones de antagonista de MCAM (incluido el anticuerpo antagonista de MCAM) en la presente memoria se formularán, dosificarán y administrarán de manera compatible con una buena práctica médica. Los factores a considerar en este contexto incluyen el trastorno particular que se está tratando, el mamífero particular que se está tratando, el estado clínico del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de suministro del agente, el método de administración, la pauta de administración, y otros factores conocidos por los médicos. La "cantidad terapéuticamente eficaz" del antagonista que se va a administrar estará gobernada por tales consideraciones y es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar una enfermedad o afección dadas.

45

50

En algunas realizaciones, la composición se usa para prevenir la aparición o reincidencia de la enfermedad o estado de la enfermedad en el sujeto. En una realización, la presente invención puede usarse para aumentar la duración de la supervivencia de un paciente humano susceptible de o diagnosticado con la enfermedad o estado de la

enfermedad. La duración de la supervivencia se define como el tiempo desde la primera administración del fármaco hasta la muerte.

Las formulaciones terapéuticas se preparan utilizando métodos convencionales conocidos en la técnica al mezclar el principio activo que tiene el grado de pureza deseado con vehículos, excipientes o estabilizantes opcionales fisiológicamente aceptables (véase, por ejemplo, Alfonso R Gennaro (ed), Remington: The Science and Practice of Pharmacy, anteriormente Remington's Pharmaceutical Sciences 20ª ed., Lippincott, Williams & Wilkins, 2003). Los portadores aceptables incluyen solución salina o tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico; polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 restos); proteínas, tales como la albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona, aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparaginas, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; alcoholes de azúcar tales como el manitol o el sorbitol; contra iones formadores de sal tales como sodio; y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o PEG.

Opcionalmente, pero preferiblemente, la formulación contiene una sal farmacéuticamente aceptable, preferiblemente cloruro de sodio, y preferiblemente en concentraciones aproximadamente fisiológicas.

Opcionalmente, las formulaciones de la descripción pueden contener un conservante farmacéuticamente aceptable. La concentración de conservante puede variar del 0,1 al 2,0 %, típicamente v/v. Los conservantes adecuados incluyen aquellos conocidos en las técnicas farmacéuticas. El alcohol bencílico, el fenol, el m-cresol, el metilparabeno y el propilparabeno son conservantes preferidos. Opcionalmente, las formulaciones de la descripción pueden incluir un tensioactivo farmacéuticamente aceptable a una concentración del 0,005 al 0,02 %.

Los principios activos también pueden estar encerrados en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o de gelatina y microcápsulas de poli-(metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas de suministro de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se divulgan en Remington's Pharmaceutical Sciences, *supra*.

Se pueden preparar preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, cuyas matrices se encuentran en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(2-hidroximetil metacrilato), o poli(vinilalcohol)), polilactidas (Patente de EE.UU. N.º 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma etil-L-glutamato, acetato de etilvinilo no degradable, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables tales como LUPON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida) y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico. Mientras que los polímeros tales como acetato de etilvinilo y ácido láctico-ácido glicólico permiten la liberación de moléculas durante más de 100 días, ciertos hidrogeles liberan proteínas por períodos de tiempo más cortos. Cuando los anticuerpos encapsulados permanecen en el cuerpo durante mucho tiempo, pueden desnaturalizarse o agregarse como resultado de la exposición a la humedad a 37 °C, dando como resultado una pérdida de actividad biológica y posibles cambios en la inmunogenicidad. Se pueden diseñar estrategias racionales para la estabilización según el mecanismo involucrado. Por ejemplo, si se descubre que el mecanismo de agregación es una formación de enlace S-S intermolecular a través del intercambio tiol-disulfuro, la estabilización se puede lograr modificando los restos de sulfhidrilo, liofilizándose de soluciones ácidas, controlando el contenido de humedad, usando aditivos apropiados y desarrollando composiciones de matriz polimérica específicas.

9. Artículos de Fabricación y Kits

La presente descripción describe adicionalmente, kits que comprenden los antagonistas de MCAM de la descripción y materiales relacionados, tales como instrucciones de uso. Las instrucciones de uso pueden contener, por ejemplo, instrucciones para la administración de los antagonistas de MCAM y opcionalmente uno o más agentes adicionales. La descripción también describe kits para el tratamiento de un trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC) caracterizado por la infiltración de células que expresan MCAM en el SNC. Los trastornos incluyen, sin limitación, afecciones neuroinflamatorias, tales como, por ejemplo, esclerosis múltiple y enfermedad de Parkinson y enfermedad autoinmunitaria. Los kits de la descripción comprenden uno o más envases de al menos un antagonista de MCAM, preferiblemente un anticuerpo, en combinación con un conjunto de instrucciones, generalmente instrucciones escritas, relacionadas con el uso y la dosificación del antagonista de MCAM para el tratamiento del trastorno. Las instrucciones incluidas con el kit generalmente incluyen información sobre la dosificación, el calendario de dosificación y la vía de administración para el tratamiento del trastorno objetivo, tal como una afección neuroinflamatoria o una enfermedad autoinmunitaria. Los envases de antagonista(s) de MCAM pueden ser dosis unitarias, paquetes a granel (por ejemplo, paquetes de dosis múltiples) o dosis de subunidades.

La presente descripción describe un kit que comprende un antagonista de MCAM como se describe en la presente memoria e instrucciones para su uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC) caracterizado por la infiltración de células que expresan MCAM en el SNC. La presente descripción describe

un kit para el tratamiento de un trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC) caracterizado por la infiltración de células que expresan MCAM en el SNC, comprendiendo dicho kit: (a) un envase que comprende un anticuerpo antagonista de MCAM; y (b) una etiqueta o instrucciones para administrar dicho anticuerpo para tratar dicho trastorno inflamatorio del SNC. Preferiblemente, el trastorno inflamatorio del SNC es una afección neuroinflamatoria o una enfermedad autoinmunitaria. El trastorno inflamatorio del SNC puede ser esclerosis múltiple o enfermedad de Parkinson.

También se proporciona un artículo de fabricación para uso terapéutico, que comprende un envase y una etiqueta o prospecto sobre o asociado al envase. Los envases adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, etc. Los envases pueden formarse a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El envase incluye una composición que es eficaz para tratar la afección y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el envase puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un principio activo en la composición es un antagonista de MCAM de la descripción. La etiqueta o prospecto indica que la composición se usa para tratar la dolencia particular. La etiqueta o el prospecto comprenderán además instrucciones para administrar la composición del anticuerpo al paciente. También se contemplan artículos de fabricación y kits que comprenden terapias combinatorias descritas en la presente memoria.

El prospecto se refiere a las instrucciones que habitualmente se incluyen en los paquetes comerciales de productos terapéuticos que contienen información sobre las indicaciones, el uso, la dosificación, la administración, las contraindicaciones y/o las advertencias relacionadas sobre el uso de dichos productos terapéuticos.

Además, el artículo de fabricación puede comprender adicionalmente un segundo envase que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (ABPI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Además, puede incluir otros materiales deseables desde el punto de vista comercial y del usuario, incluidos otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos no deben interpretarse como limitantes, sino que son medios ejemplares de uso de los métodos divulgados.

Materiales y métodos

Animales y manipulación de las células

Se inmunizaron ratones SJL (Jackson), de 8-16 semanas de edad, con péptido PLP 139-151 emulsionado en CFA. Se utilizó el kit comercial, EK-0122 (Hooke Laboratories) para este experimento de inmunización. Para algunos experimentos, los bazo se extrajeron 11 días después y se procesaron en una suspensión de células individuales. Para algunos experimentos, los esplenocitos se procesaron para análisis *in vitro* como se describe a continuación. Para los estudios de EAE, los ratones se inyectaron en los días 5, 9, 13 y 17 después de la inmunización con PLP con PBS, anticuerpo de control de isotipo (BioXcell) o clon anti-MCAM 17. La progresión de la enfermedad se controló diariamente y se calificó con un diseño ciego mediante técnicas convencionales. Los ratones se sacrificaron 35 días después de la inmunización con PLP, y se analizó la infiltración de células inmunitarias en el cerebro y la médula espinal.

Para el análisis de la unión de MCAM-Fc a tejidos con EAE, se inmunizaron ratones C57BL6 de 8-16 semanas de edad con glicoproteína oligodendrocítica de mielina (MOG) 35-55 emulsionada en CFA. Se utilizó el kit comercial, EK-0111 (Hooke Laboratories) para este experimento de inmunización. Los animales inmunizados se sacrificaron en el punto máximo de la enfermedad. Los cerebros y las médulas espinales se congelaron instantáneamente en OCT (en medios de temperatura óptima de corte) y se analizaron mediante microscopía fluorescente como se describe a continuación.

Citometría de flujo / tinción y detección de marcadores / protocolos FACS

Las capas leucocitarias se obtuvieron de donantes humanos sanos (Stanford Blood Center, Palo Alto, CA) y las células T CD4 se enriquecieron negativamente utilizando RosetteSep (Stem Cell Technologies). En los casos indicados, las células T de memoria CD4⁺/CD45RO⁺ se purificaron negativamente mediante el uso de perlas magnéticas (Miltenyi Biotec). Las células T se sembraron (2×10^5 células/pocillo) en placas de 96 pocillos con fondo en U con recubrimiento de anti-CD3 (5 µg/ml, BD Pharmingen) en RPMI que contenía FCS inactivado por calor al 10% (HyClone Laboratories), penicilina, estreptomina, L-glutamina, anti-IFN γ (5 µg/ml; R&D Systems), anti-IL4 (0,5 µg/ml, R&D Systems) y anti-CD28 (2 µg/ml; BD Pharmingen) durante cinco días. En los casos indicados, se agregaron TGF β (2 ng/ml, a menos que se indique lo contrario), IL12, IL1 β y/o IL-23 (todos a 20 ng/ml). Todas las citoquinas se obtuvieron de R&D Systems. El análisis de las citoquinas intracelulares se realizó después de cinco horas en presencia de PMA (50 ng/ml) e ionomicina (500 ng/ml; ambas de Sigma-Aldrich) y GolgiStop (BD Pharmingen). La tinción superficial con anti-MCAM (Pharmingen) estuvo seguida de fijación, permeabilización y tinción con anti-IL-17A (Ebioscience), IL-22 (R&D Systems), CCL20 (R&D Systems) y/o FOXP3 usando un kit de tinción FOXP3 (Biolegend). En algunos experimentos, la sangre completa no manipulada se tiñó para la expresión

en superficie con anti-CCR7, anti-CCR6, anti-integrina alfa 4, anti-integrina beta 7 o anti-integrina beta 1 (todas de BD Pharmingen).

Generación / caracterización de anticuerpos

5 Para la generación de anticuerpos capaces de unirse a MCAM murina, se generó MCAM-Fc fusionando el dominio extracelular de MCAM murina a IgG humana y se produjo en células CHO usando técnicas convencionales. Se inmunizaron ratas Lou/M con 100 µg de proteína MCAM-Fc en CFA (volumen 1:1). Las ratas se reforzaron dos veces a intervalos de dos semanas con proteína MCAM-Fc en adyuvante incompleto de Freund (IFA) (volumen 1:1). Se generaron hibridomas a partir de ratas inmunizadas utilizando protocolos convencionales y los clones fueron seleccionados por Clonепix. Se transfectaron células CHO con el gen MCAM murino de longitud completa y se seleccionaron para la expresión estable utilizando neomicina y técnicas convencionales. Las células CHO precursoras (MCAM negativas) se marcaron de manera fluorescente con succinimidil éster de carboxifluoresceína (CFSE) usando técnicas convencionales y se mezclaron en una relación 1:1 con células CHO transfectadas con MCAM sin marcar. Los sobrenadantes de hibridoma se incubaron con esta mezcla de células durante 30 minutos y se detectó la unión de los anticuerpos específicos de MCAM potenciales con un anticuerpo secundario anti-rata marcado con fluorescencia (Jackson Immuno) mediante citometría de flujo.

Los sobrenadantes de hibridomas que se reconocieron positivos para anticuerpos específicos de MCAM se incubaron previamente con proteína MCAM-Fc de ratón marcada con fluorescencia (5 µg/ml) durante 30 minutos antes de la adición a la línea celular WM2664 que expresa laminina α4 y se determinó por citometría de flujo la neutralización de la unión de la proteína MCAM-Fc a la línea celular.

20 Para la generación de anticuerpos de rata capaces de unirse a MCAM humana, se generó hMCAM-Fc fusionando el dominio extracelular de MCAM humana a IgG humana y se produjo en células CHO usando técnicas convencionales. Se inmunizaron ratas Lou/M con 250 µg de proteína hMCAM-Fc en CFA (volumen 1:1). Las ratas se reforzaron dos veces a intervalos de dos semanas con proteína hMCAM-Fc en adyuvante incompleto de Freund (IFA) (volumen 1:1). Se generaron hibridomas a partir de ratas inmunizadas utilizando protocolos convencionales y los clones fueron seleccionados por Clonепix. Las células CHO se transfectaron con el gen MCAM humano de longitud completa y se seleccionaron para la expresión estable utilizando neomicina y técnicas convencionales. Las células CHO precursoras (MCAM negativas) se marcaron de manera fluorescente con succinimidil éster de carboxifluoresceína (CFSE) usando técnicas convencionales y se mezclaron en una relación 1:1 con células CHO transfectadas con MCAM humana sin marcar. Los sobrenadantes de hibridoma se incubaron con esta mezcla de células durante 30 minutos y se detectó la unión de los anticuerpos específicos de MCAM humana potenciales con un anticuerpo secundario anti-rata marcado con fluorescencia (Jackson Immuno) mediante citometría de flujo.

35 Para la generación de anticuerpos de ratón capaces de unirse a MCAM humana, se generó hMCAM-Fc fusionando el dominio extracelular de MCAM humana a IgG humana y se produjo en células CHO usando técnicas convencionales. Se inmunizaron ratones Balb/c con 50 µg de proteína hMCAM-Fc en CFA (volumen 1:1). Los ratones se reforzaron dos veces a intervalos de dos semanas con proteína hMCAM-Fc en adyuvante incompleto de Freund (IFA) (volumen 1:1). Se generaron hibridomas a partir de ratones inmunizados utilizando protocolos convencionales y los clones fueron seleccionados por Clonепix. Las células CHO se transfectaron con el gen MCAM humano de longitud completa y se seleccionaron para la expresión estable utilizando neomicina y técnicas convencionales. Las células CHO precursoras (MCAM negativas) se marcaron de manera fluorescente con succinimidil éster de carboxifluoresceína (CFSE) usando técnicas convencionales y se mezclaron en una relación 1:1 con células CHO transfectadas con MCAM humana sin marcar. Los sobrenadantes de hibridoma se incubaron con esta mezcla de células durante 30 minutos y se detectó la unión de los anticuerpos específicos de MCAM humana potenciales con un anticuerpo secundario anti-ratón marcado con fluorescencia (Jackson Immuno) mediante citometría de flujo.

45 Los sobrenadantes de hibridomas que se reconocieron positivos para anticuerpos específicos de MCAM humana se incubaron previamente con proteína hMCAM-Fc de ratón marcada con fluorescencia (5 µg/ml) durante 30 minutos antes de la adición a la línea celular WM2664 que expresa laminina α4 y se determinó por citometría de flujo la neutralización de la unión de la proteína hMCAM-Fc a la línea celular.

Manipulación de ácido nucleico y proteínas

50 Para experimentos de micromatrices, se aislaron células T CD4⁺ humanas como se describe anteriormente, se tiñeron para CD161 y CCR6 (ambas de BD Pharmingen) y se clasificaron en células CD4⁺/CD161⁺/CCR6⁻ (no-TH17) y CD4⁺/CD161⁺/CCR6⁺ (TH17) de tres donantes independientes sanos. El ARN se aisló de la mitad de las células de cada donante inmediatamente (circulantes) y la otra mitad se estimuló con un anti-CD3 unido a la placa y un anti-CD28 soluble como se describe anteriormente, en ausencia de citoquinas exógenas durante cuatro días (activado) antes del aislamiento del ARN. El ARN se amplificó (Nugen) y se hibridó en matriz Human U133 Plus 2.0 (Affymetrix). Todos los experimentos de micromatrices se realizaron en Expression Analysis, Inc. (Durham, NC).

Para la determinación de las CDR, se aisló el ARN total de células de hibridoma usando el kit RNAqueous-4PCR (Ambion), y se usó para la síntesis de ADNc. La primera y segunda cadena de ADNc se sintetizaron utilizando

métodos modificados de la amplificación de ADNc de Marathon (Clontech) con el adaptador de ADNc ligado al extremo 5' del ADNcd obtenido. El cebador específico inverso se diseñó en función de la secuencia de la región constante del isotipo del anticuerpo específico para cadenas tanto pesadas como ligeras, y se usó junto con el cebador adaptador en la amplificación por PCR de los fragmentos tanto VL como VH utilizando la ADN polimerasa Pfu Ultra (Stratagene). El producto de PCR amplificado se clonó en pCR-Blunt-TOPO (Invitrogen) y se determinó la secuencia de nucleótidos. Se identificaron secuencias VL y VH idénticas (las del clon 17) a partir de al menos 3 de cada 5 clones individuales para cadenas tanto ligeras como pesadas.

Para la determinación de las concentraciones de IL-17 en el sobrenadante, se realizó ELISA utilizando un kit comercial (R&D Systems).

Microscopía de fluorescencia / métodos de inmunofluorescencia convencionales

Se congelaron instantáneamente tejidos de ratones en los que se indujo EAE en OCT y se seccionaron a 10 µM. Las secciones se fijaron en acetona fría y se tiñeron con anti-pan-laminina directamente conjugada (Novus Biologicals), MCAM-Fc, anti-CD31 (BD Pharmingen) o anti-laminina α4 (Novus biological). En algunos experimentos, MCAM-Fc se incubó previamente con anticuerpos anti-MCAM antes de la adición a los tejidos para establecer la neutralización de la unión de MCAM a su ligando en los tejidos.

Experimento de polarización en ratón

Se aislaron esplenocitos de ratones inmunizados con PLP en CFA durante 11 días y se cultivaron en presencia de PLP (5 µg/ml, Hooke Laboratories). En los casos indicados, se agregaron TGFβ humano (5 ng/ml) y/o IL-23 murina (20 ng/ml), e IL-1β murina (20 ng/ml) durante cinco días en RPMI que contenía FCS inactivado por calor al 10% (HyClone Laboratories), penicilina, estreptomycin, L-glutamina, anti-IFNγ (5 µg/ml; R&D Systems), anti-IL4 (0,5 µg/ml, R&D Systems) y β-ME (50 µM). Todas las citoquinas eran de R&D Systems. Las células se tiñeron con anti-CD4, anti-NK1.1 (ambos de BD Pharmingen) y se generó anti-MCAM como se describe anteriormente.

Ejemplo 1. MCAM es un gen regulado al alza en células T CD4+ humanas productoras de IL-17

Para identificar nuevas moléculas dirigibles asociadas con la infiltración de células TH17 del SNC, se enriquecieron células T CD4+ humanas de tres donantes sanos mediante selección negativa magnética como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. Después de teñir las células T CD4+ humanas enriquecidas para la expresión superficial de CD161 y CCR6, las células se clasificaron por FACS en dos poblaciones: CCR6-/CD161- (que representan células no TH17 circulantes) y CCR6+/CD161+ (que representan células TH17 circulantes) como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. El ARN se aisló inmediatamente de la mitad de las células en cada población como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. La otra mitad se puso en cultivo con anti-CD3 unido a la placa y anti-CD28 soluble, sin citoquinas exógenas, durante cuatro días para obtener células no TH17 activadas y células TH17 activadas, respectivamente. De manera similar, se aisló ARN a partir de estos dos tipos de células activadas. El ARN se sometió a un análisis de micromatrices como se describe en Materiales y métodos anteriormente para identificar genes expresados específicamente en células TH17.

Como se muestra en la FIG. 1A, RORγt, un conocido factor de transcripción de TH17, se encontraba regulado al alza tanto en células TH17 circulantes como activadas, mientras que IL-17, como marcador de TH17 activadas, se expresaba casi exclusivamente en la población TH17 activada. Estos resultados indican que fueron exitosos los procedimientos anteriores de separación y activación. El análisis de micromatrices identificó MCAM como un gen regulado al alza en células TH17 tanto circulantes como activadas, un perfil similar al de RORγt (FIG. 1A).

Las células T que expresan MCAM se han descrito previamente como células que tienen una expresión enriquecida entre los clones de células T generados a partir de pacientes con esclerosis múltiple, y son particularmente predominantes en los sitios de inflamación. Véase, por ejemplo, Brucklacher-Waldert et al., *Brian* 132: 3329-3341 (2009); véase también Pickl et al., *J. Immunol.* 158: 2107-2115 (1997). En el presente documento, se encontró que la proteína MCAM estaba presente en la superficie de una pequeña población de células T CD4+ (típicamente 3-5% de donantes sanos). También se encontró que la proteína MCAM existe casi completamente dentro de la población de células T de memoria CD45RO+ (Figura 1B). Las células T CD4+ humanas se aislaron como se describe anteriormente, y se estimularon durante cuatro horas con acetato de miristato forbol (PMA)/ionomicina. Las células T CD4+ estimuladas se analizaron para determinar los niveles intracelulares de IL-17 y MCAM de superficie como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. Como se muestra en la FIG. 1C, aunque la mayoría de las células T que producen IL-17 en estas condiciones eran MCAM negativas, la proteína MCAM se enriqueció en células productoras de IL-17. Solo el 2,3% de las células MCAM negativas (2,18%/(2,18% + 92,62%)) se tiñeron de forma positiva para IL-17; mientras que el 11,9% de las células que expresaban MCAM (0,62%/(0,62% + 4,58%)) eran positivas para IL-17. Dados estos datos, la MCAM está enriquecida en células T CD4+ humanas productoras de IL-17.

Además, cuando las células T de memoria CD4+/CD45RO+ se separaron en poblaciones purificadas de células MCAM positivas y MCAM negativas y se estimularon *in vitro* con anti-CD3 y anti-CD28, la población MCAM positiva produjo casi diez veces más IL-17 (datos no mostrados). La mayor parte de la producción potencial de IL-17 se encontró que era de la pequeña población de células T que expresan MCAM. En un donante, solo la población MCAM positiva produjo niveles detectables de IL-17. Por lo tanto, la mayoría de la producción potencial de IL-17 es

de la pequeña población de células T que expresan MCAM.

Ejemplo 2. Las células T que expresan MCAM son células T de memoria efectoras que tienen un perfil de expresión de integrina único

La población de memoria CD45RO⁺ de las células T CD4 humanas se puede dividir en (1) células de memoria efectoras con tropismo tisular y (2) células de memoria centrales con localización tisular linfóide basada en la expresión de CCR7. Véase, por ejemplo, Sallusto et al., *Nature* 401: 708-712 (1999).

Para determinar qué subpoblación incluye las células T que expresan MCAM, la expresión de MCAM en las células T se caracterizó adicionalmente por la tinción de células T humanas periféricas con varios marcadores (CCR6, CCR7, subunidades alfa 4, beta 1 y beta 7 de integrina) como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. Las células T CD4⁺ que expresaban MCAM eran en gran medida CCR7 negativas, lo que indica que la mayoría son células T de memoria efectoras, y sería más probable que se alojaran en tejidos (FIG. 2A). El protocolo de enriquecimiento TH17 sugirió que las células T que expresan MCAM obtenidas serían desproporcionadamente CCR6⁺. Como se muestra en la FIG. 2A, aproximadamente el 64% de las células MCAM⁺ (2,8%/(2,8% + 1,6%)) expresan CCR6, mientras que solo el 16,1% de las células MCAM negativas (15,4%/(15,4% + 80%)) expresan CCR6 (FIG. 2A). Estos datos sugieren que las células MCAM positivas serían en gran parte tropicas para áreas donde el ligando para CCR6, CCL20, es alto. Véase, por ejemplo, Liao et al., *J. Immunol.* 162: 186-194 (1999).

Se caracterizó adicionalmente el patrón de expresión de integrina de células T que expresan MCAM. La mayoría de las células T que expresan MCAM son positivas para la integrina $\alpha 4$, pero en su mayoría son negativas para la integrina $\beta 7$ y positivas para $\beta 1$ (FIG. 2B), que es un fenotipo asociado con las células T involucradas en la patogénesis de la EAE (encefalomielitis autoinmunitaria experimental). Véase, por ejemplo, Bauer et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 106: 1920-1925 (2009).

Ejemplo 3. Las células T que expresan MCAM se incrementan por IL1 β y producen la mayoría tanto de IL-17 como de IL-22 en afecciones por TH17

Las células T CD4⁺ que expresan MCAM, en solo el 3-5% de las células, es una pequeña minoría de la población de células T. Es de interés determinar las condiciones en las que esta población se incrementa y ejerce la función efectora de TH17. Para esto, se purificaron células T CD4⁺/CD45RO⁺ humanas como se describe en Materiales y Métodos anteriormente y se estimularon *in vitro* con anti-CD3 y anti-CD28 en presencia de varias condiciones de citoquinas (TGF β , IL-12, IL-1 β , IL-23, y varias combinaciones), y se determinó mediante citometría de flujo el porcentaje de células que expresan MCAM, así como células que expresan IL-17 (FIG. 3A). La expresión de MCAM se incrementó tras la estimulación con IL-1 β sola (16,4% en ausencia de IL-1 β frente al 38,1% en presencia de IL-1 β , FIG. 3B). Además, aunque el TGF β solo no incrementó la población MCAM positiva en gran medida, funcionó de manera sinérgica con IL-1 β , ya que la combinación de ambas citoquinas dio como resultado que más de la mitad de la población de células T de memoria se volviera MCAM positiva. En las mismas condiciones que incrementaron la población de células que expresaban MCAM, la población de células productoras de IL-17 aumentó de forma concomitante, con un enriquecimiento considerable dentro de la población MCAM⁺ en todas las condiciones de citoquinas analizadas (FIG. 3C). De hecho, en presencia de TGF β e IL-1 β , más del 80% de las células productoras de IL-17 (20,2%/(20,2% + 4,4%)) fueron MCAM positivas.

Además de IL-17, la citoquina IL-22 asociada a TH17 conocida (Liang et al., *J. Exp. Med.* 203: 2271-2279 (2006)) también se elevó en las células T que expresan MCAM. El receptor de IL-22 se expresa en gran parte en células no inmunitarias tales como las células epiteliales y funciona en las respuestas antimicrobianas, así como en la remodelación de tejidos. Véase, por ejemplo, Dumoutier et al., *J. Immunol.* 167: 3545-3549 (2001); véase también Zenewicz et al., *Int. Immunol.* 23: 159-163 (2011). Aunque se ha demostrado que la IL-22 está involucrada en la función de la barrera hematoencefálica, no es absolutamente necesaria para la inducción o progresión de EAE. Véase, por ejemplo, Kreymborg et al., *J. Immunol.* 179: 8098-8104 (2007); véase también Kebir et al., *Nat. Med.* 13: 1173-1175 (2007). De manera similar a la IL-17, un porcentaje significativamente mayor de células MCAM⁺ expresaron IL-22 (FIG. 3D).

También se ha indicado que las células TH17 expresan CCL20. Véase, por ejemplo, Hirota et al., *J. Exp. Med.* 204: 2803-2812 (2007). De forma similar a IL-17 e IL-22, hubo una población considerablemente mayor de células T que expresan MCAM que fueron positivas para CCL20 (FIG. 3E), sugiriendo un posible bucle de retroalimentación positiva en la migración de células T CCR6⁺.

Si bien los datos anteriores sugieren una población de células T con un fenotipo particularmente patógeno, fue inesperado observar que la expresión de MCAM no era mutuamente exclusiva con FOXP3 intracelular y, de hecho, un porcentaje ligeramente mayor de células T MCAM⁺ eran FOXP3 positivas (FIG. 3F). En presencia de dosis crecientes de TGF β , el porcentaje de células MCAM⁺ que eran FOXP3⁺ aumentó, mientras que el porcentaje de células que expresan FOXP3 en la población de MCAM⁻ se mantuvo prácticamente sin cambios. Estos resultados sugieren que las células que expresan MCAM tienen el potencial de funcionar en un papel inmunorregulador en presencia de TGF β .

Ejemplo 4. MCAM se une a la MEC en sitios conocidos de infiltración de células T del SNC, y el ligando de MCAM es laminina 411

La función de MCAM se ha dilucidado en modelos de tumores, lo que demuestra que la expresión de MCAM confiere un fenotipo adhesivo, infiltrante y, en última instancia, metastásico a las células tumorales. Véase, por ejemplo, Xie et al., *Cancer Res.* 57: 2295-2303 (1997). Sin embargo, queda por identificar el ligando que se une a MCAM. Aunque los datos anteriores indican que la MCAM está enriquecida en células TH17, no se sabe si la MCAM está involucrada funcionalmente en la infiltración de células T del SNC. Por lo tanto, fue de gran interés determinar (1) dónde se une la MCAM, es decir, la identidad del ligando de MCAM, (2) si la MCAM es crítica para la infiltración inicial de células TH17 en el cerebro no inflamado y (3) si la expresión del ligando de MCAM se requiere en los puntos de entrada del SNC establecidos.

Se generó una proteína de fusión MCAM-Fc (como se describe en Materiales y Métodos anteriormente) para detectar la unión de MCAM en tejido de ratón sano, particularmente aquellas regiones que se sabe están involucradas en la infiltración de células T. Como se ha sugerido el plexo coroideo como una ruta de entrada para las células TH17 en el cerebro no inflamado, se tiñó el tejido del plexo coroideo sano con MCAM-Fc y anti-laminina. Como se muestra en las FIG. 4A y 4B, el plexo coroideo expresa ampliamente el ligando de MCAM, pero es negativo para MCAM. Estos resultados sugieren fuertemente que (1) hay poca probabilidad de que MCAM medie la adhesión al tejido del plexo coroideo a través de una interacción homotípica MCAM/MCAM; y (2) hay un ligando de MCAM adicional con una expresión considerablemente más extendida que la MCAM, cuya expresión se limitó al endotelio vascular en tejidos sanos (FIG. 4C). Fue inesperado que MCAM-Fc se uniera de forma casi ubicua a la médula espinal del ratón sano (FIG. 4D) en un patrón que sugería una proteína de matriz extracelular (MEC), y específicamente laminina. MCAM-Fc y anti-laminina se localizan conjuntamente en la médula espinal del ratón sano (FIG. 4E), sugiriendo que el ligando para MCAM podría ser una forma de laminina. Se confirmó que el ligando de MCAM estaba en la MEC, ya que era exterior a la capa de células endoteliales dentro del sistema vascular, según se determinó mediante tinción conjunta con CD31 (FIG. 4F).

Mientras que MCAM se localiza conjuntamente con laminina en tejidos de ratones sanos, la identidad del ligando de MCAM se confirmó adicionalmente mediante la tinción conjunta de tejidos de EAE con laminina y MCAM-Fc. En regiones de infiltración de linfocitos, se ha encontrado que la membrana basal se separa en dos membranas distintas, la membrana basal endotelial y la membrana basal parenquimatosa con importantes distinciones en la composición de isoformas de laminina. Véase, por ejemplo, Sixt et al., *J. Cell Biol.* 153: 933-945 (2001). Cuando se usó MCAM-Fc para teñir el ligando de MCAM dentro de estas regiones, se encontró que MCAM-Fc tiñó solo la membrana basal endotelial, mientras que la pan-laminina tiñó tanto la membrana basal endotelial como la membrana basal parenquimatosa (FIG. 4G). Este mismo patrón de expresión se ha observado para la laminina 411 (laminina 8 ($\alpha 4 \beta 1 \gamma 1$)). La localización conjunta de la proteína MCAM-Fc y la laminina alfa 4 se observó utilizando un anticuerpo específico para la laminina alfa 4 (FIG. 4H), sugiriendo que la laminina 411 es un ligando para MCAM. La confirmación de que una molécula de laminina que comprende una cadena alfa 4 es el ligando para MCAM y que puede contribuir a la capacidad migratoria única de las células TH17 se describe por Flanagan et al., *PLoS ONE* 7(7): e40443. doi:10.1371/journal.pone.0040443 (2012).

Ejemplo 5. Los anticuerpos anti-MCAM bloquean la unión de MCAM a la laminina 411

Se generaron anticuerpos monoclonales contra MCAM de ratón como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. La unión específica entre el anticuerpo monoclonal y la MCAM se confirmó evaluando la capacidad del anticuerpo monoclonal para unirse a las células transfectadas con MCAM tanto de ratón como humana. Para esto, las células no transfectadas se marcaron con succinimidil éster de carboxifluoresceína (CFSE) y se mezclaron con células transfectadas con MCAM sin marcar. Por lo tanto, podrían diferenciarse las células no transfectadas (en azul). Como se muestra en la FIG. 5A, los clones 15 y 17 mostraron una unión específica a MCAM de ratón (superior, naranja), mientras que solo el clon 17 se unió a MCAM humana (inferior, naranja).

A continuación, los anticuerpos monoclonales se usaron para probar su capacidad para bloquear la unión de MCAM a su ligando. Se incubó proteína MCAM-Fc murina o humana (5 μ g/ml), previamente, con un anticuerpo de control de isotipo, clon 15 o clon 17 (10 μ g/ml) durante 30 minutos en PBS. La mezcla se añadió a secciones de tejido de la médula espinal sanas y posteriormente se caracterizó por microscopía de fluorescencia como se describe en Materiales y Métodos anteriormente.

Como se muestra en la FIG. 5B, ambos clones 15 y 17 podrían bloquear la unión de la proteína MCAM-Fc murina al tejido, mientras que solo el clon 17 podría bloquear la unión de la proteína MCAM-Fc humana al tejido. Las CDR del clon 17 se han secuenciado y se presentan en las Fig. 6A (SEQ ID NO:2, cadena ligera) y 6B (SEQ ID NO:7, cadena pesada). El análisis de transferencia Western no desnaturizante utilizando el clon 17 en dominios Fc individuales de MCAM confirmó que el clon 17 se une específicamente a un dominio que comprende los restos de aminoácidos 19 a 129 de MCAM. Esta unión se confirmó por análisis ForteBio.

Además, se demostró que los anticuerpos monoclonales de MCAM inhiben la interacción entre MCAM y su ligando, laminina 411. Las células CHO precursoras (CHOK1) o las células CHO transfectadas con el gen MCAM de ratón se incubaron previamente con medios de cultivo CHO (DMEM), laminina 411 recombinante (10 μ g/ml) o laminina 511

recombinante (es decir, laminina 10 ($\alpha 5\beta 1\gamma 1$)) (10 $\mu\text{g/ml}$) a 37 °C durante 45 minutos. Las células se lavaron y se detectó la unión específica de la laminina 411, pero no de la laminina 511, a MCAM con un anticuerpo pan-laminina por citometría de flujo (FIG. 5C, panel superior derecho). La preincubación de células CHO transfectadas con MCAM de ratón con el anticuerpo anti-MCAM (clon 15 o clon 17, cada uno a 20 $\mu\text{g/ml}$), antes de la incubación con laminina, suprimió la unión de MCAM a laminina 411 (FIG. 5C, paneles inferiores).

Los datos presentados anteriormente sugieren que el clon 17, que es capaz de bloquear específicamente la unión de MCAM humana a su ligando, podría ser útil para prevenir o tratar diversas enfermedades mediadas por TH17 mediante la inhibición de la adhesión mediada por MCAM de células TH17 al sistema vascular y el bloqueo de la migración de células TH17 al sistema nervioso central.

Ejemplo 6. MCAM no se expresa en células T de ratón circulantes, pero se induce después de la polarización de TH17

Usando los anticuerpos anteriores, se tiñó sangre periférica de ratón para detectar células T que expresan MCAM en ratones como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. Como se describió anteriormente, las células T de ratón carecen de expresión de MCAM, mientras que se observa la expresión en una población de células NK (FIG. 7A). La expresión de MCAM únicamente en células T de memoria en seres humanos sugiere que los ratones, si viven en un ambiente limpio con una activación de células T previa limitada, tendrían que estar polarizados para generar una población de células T que expresen MCAM. Considerando el vínculo entre las células MCAM y TH17 en seres humanos, se realizaron experimentos para determinar si era posible inducir una población de células T que expresaran MCAM en ratones. Se generaron células T específicas de la proteína proteolipídica de la mielina (PLP) inmunizando ratones de tipo silvestre con PLP en presencia de adyuvante completo de Freund (CFA) como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. Los esplenocitos se reestimularon *in vitro* con 5 $\mu\text{g/ml}$ de PLP en presencia de las citoquinas indicadas y se analizaron cinco días después para determinar la expresión de MCAM (FIG. 7B). En ausencia de citoquinas exógenas, la reestimulación no indujo una expresión de MCAM estadísticamente significativa en las células CD4+ (en comparación con isotipos control). En presencia de IL-23, fue detectable una pequeña población de células T CD4+ que expresaban MCAM. Aunque el TGF β solo no indujo una población considerable de células T que expresan MCAM, la combinación de TGF β e IL-23 generó sinérgicamente la expresión de MCAM entre las células T CD4+. Estas dos citoquinas tienen un papel importante en la función de polarización y efectora de las células TH17 de ratón. Cabe destacar que MCAM se expresó en una población de células T de alta expresión de CD4 que se ha descrito que contienen exclusivamente las células T patógenas en EAE. Véase, por ejemplo, Li et al., J. Neuroimmunol. 192: 57-67 (2007). Por lo tanto, a diferencia de los seres humanos, los ratones no poseen una población de células T CD4+MCAM+ circulantes, pero la polarización en condiciones de TH17 con TGF β e IL-23 es suficiente para generar dicha población. Los ratones siguen siendo un modelo viable para estudiar el papel de la MCAM en la infiltración del SNC por las células T patógenas.

Ejemplo 7. El bloqueo de MCAM por un anticuerpo anti-MCAM inhibe la progresión de la enfermedad EAE

La EAE es una enfermedad que se genera en animales de laboratorio para producir síntomas similares a los de la esclerosis múltiple (EM) en seres humanos. La EAE generalmente se produce inyectando a los animales diferentes proteínas del sistema nervioso central de otros animales, por ejemplo, extractos de proteína básica de mielina y tejido completo de la médula espinal o cerebro, o células T que reaccionan específicamente a la mielina. La EAE se usa comúnmente para seguir la evolución de las formas de EM recurrente o progresiva. La EAE ha servido como un modelo animal adecuado tanto para desarrollar agentes terapéuticos para la EM como para estudiar los procesos de la enfermedad específicos de la EM. Véase, por ejemplo, Gold et al., Brain 129: 1953-1971 (2006); véase también Steinman et al., Ann. Neurol. 60: 12-21 (2006).

Los efectos del bloqueo de MCAM sobre la progresión de la enfermedad se examinaron adicionalmente en un modelo terapéutico de EAE, en el que la polarización de TH17 se produce *in vivo* (véase el Ejemplo 6). Los ratones se inmunizaron con péptido PLP 139-151 como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. Los ratones inmunizados se asignaron al azar en grupos según las puntuaciones clínicas y el día de inicio. El segundo día después del inicio de la enfermedad (los síntomas de la EAE aparecieron entre 12 y 14 días después de la inmunización), los ratones se trataron (N = 15 por grupo) por vía intraperitoneal con anticuerpo anti-MCAM (clon 15) o control de isotipo (Bioxcell) a 10 mg/kg de peso corporal, y todos los días a partir de entonces. Los ratones se controlaron diariamente y se puntuaron con un diseño ciego (FIG. 8A), y se obtuvieron los pesos corporales cada 2-3 días (FIG. 8B). Si bien el bloqueo de MCAM no parece afectar a la gravedad o la duración de la fase aguda en curso de la enfermedad, la recaída se retrasó y fue significativamente menos grave en ratones tratados con anticuerpo anti-MCAM (clon 15). Estos resultados son consistentes con la idea de que MCAM puede no ser esencial para la infiltración de células inmunitarias durante un proceso inflamatorio existente, pero puede estar involucrada en el reclutamiento posterior de células T pioneras experimentadas con antígeno para iniciar nuevos sitios inflamatorios.

Ejemplo 8. Prueba de unión de dominio para anticuerpos anti-MCAM murinos

Se utilizó el siguiente protocolo: Protocolo de mapeo de dominios ForteBio. Se utilizaron biosensores ForteBio de Fc anti-IgG humana para inmovilizar varios dominios MCAMhFc de ratón, incluida la proteína MCAMhFc de ratón de longitud completa, sobre la superficie del biosensor. Estos sensores se sumergieron en el anticuerpo específico de

MCAM clon 15 o 17 para la detección de la unión a estos dominios o proteína de longitud completa. Después de cargar estas muestras en una placa negra de 96 pocillos, la Octet Red se programó de la siguiente manera: 60 segundos para el valor inicial número 1; 180 segundos para cargar varios dominios; 60 segundos para el valor inicial número 2; 180 segundos para la asociación del anticuerpo al dominio; y 240 segundos para la disociación del anticuerpo del dominio.

Reactivos y suministros utilizados:

1. MCAMhFc de ratón a una concentración final de 5 ug/ml
2. clon 15 o 17 del anticuerpo a 5 ug/ml
3. Biosensores de captura de Fc anti-IgG humana (AHC) de ForteBio para experimentos cinéticos, n.º de cat. 18-5060
4. Bloque de placa de 96 pocillos de Greiner Bio-one, n.º de cat. 655209
5. Máquina Octet Red de ForteBio
6. Medio de cultivo de tejido fresco, DMEM con FCS al 20%, utilizado como tampón de dilución

La Fig. 10A demuestra que el clon 15 se une específicamente a los dominios Fc 1 y 2 de MCAM, pero no al dominio Fc 1 solo. La Fig. 10B demuestra que el clon 17 se une específicamente a los dominios Fc 1 y 2 de MCAM, o al dominio Fc 1 solo. Para las FIG. 10A-B, los clones 15 y 17 se probaron contra las siguientes muestras de proteínas (todas tienen etiqueta para Fc de IgG humana):

MCAM murina; proteína Fc humana de longitud completa; dominio 1 de MCAM murina (Ig1); dominio 2 de MCAM murina (Ig2); y dominio 1 y 2 de MCAM murina (Ig1-2A).

Ejemplo 9. Los dominios MCAM se unen a la cadena A4 (α 4) de laminina

La afinidad de unión de la laminina α 4 humana a IgG1-2A de MCAM humana se midió por Resonancia de Plasmón de Superficie en una máquina Biacore T200. Se inmovilizó IgG de F (ab')₂ específica de Fc humana (Jackson Laboratories) en un chip CM5 utilizando acoplamiento de amina. Las cuatro celdas de flujo de la superficie de dextrano de chips CM5 se activan mediante una inyección de 7 minutos de NHS:DEC 1:1 50 mM recién preparado a una velocidad de flujo de 5 μ l/min. Se inyectaron 70 μ l de solución de IgG (pH 4,5) durante 3 minutos a una densidad de hasta 3 000 UR. A continuación, el acoplamiento se bloquea mediante una inyección de etanolamina 1 M durante 7 minutos para desactivar los sitios reactivos residuales. La IgG1-2A de MCAM etiquetada con Fc humana recombinante en tampón HBS-P desgasificado y filtrado que contiene 12 mg/ml de BSA y 12 mg/ml de sal sódica de dextrano carboximetilada se capturó mediante IgG anti-Fc a un nivel de captura de 1560 UR. La IgG1-2A de MCAM etiquetada con Fc humana recombinante se centrifugó a 14.000 rpm durante 5 min a 4 °C antes de la inyección durante 20 min a caudal de 5 μ l/min sobre la superficie que contiene IgG anti-Fc. La celda de flujo 1 se dejó libre de IgG para servir como superficie de control. Se usó una celda de flujo para capturar Fc de IgG1 (I&D Systems) humana recombinante para servir como control negativo. La laminina α 4 humana recombinante (R&D Systems) o la laminina 411 humana recombinante (Biolamina) o la laminina 511 humana recombinante (Biolamina) (control negativo) se diluyó en tampón de HBS-P desgasificado y filtrado que contenía 12 mg/ml de BSA y 12 mg/ml de sal sódica de dextrano carboximetilada a concentraciones que abarcan de 5 a 175 nM e inyectó (asociación de 1 min, disociación de 3 min) sobre las superficies de IgG1-2A de MCAM y sobre las superficies de control a un caudal de 10 μ l/min. Las inyecciones de tampón sirvieron como control negativo. Evaluación de los datos: los datos de las inyecciones de tampón y la superficie de control se restaron para eliminar los artefactos. Los datos se ajustaron globalmente a un modelo de interacción 1:1 utilizando el software Biaevaluation o Scrubber.

Se encontró que la cadena α -4 de laminina se unía específicamente a los dominios Fc 1 y 2 de MCAM, pero no al dominio Fc 1 solo (datos no mostrados). Los controles negativos incluyeron: una falta de unión de la laminina 511 a cualquiera de los dominios y una falta de unión de la laminina 411 a hlgG1-Fc. La laminina- α 4 recombinante humana (R&D Systems) se une a la IgG1-2A de MCAM humana etiquetada con Fc (datos no mostrados) a una afinidad de 60 nM, pero no a Fc de IgG1 humana recombinante (R&D Systems) (datos no mostrados). La laminina 411 humana recombinante (Biolamina) se une a IgG1-2A de MCAM humana etiquetada con Fc a una afinidad de 66 nM según lo medido por cinética de estado estacionario (datos no mostrados) pero no a Fc de IgG1 humana recombinante (R&D Systems) (datos no mostrados). El control negativo, la laminina 511 humana recombinante (Biolamina) no se une a IgG1-2A de MCAM humana etiquetada con Fc (datos no mostrados).

Ejemplo 10. Generación de nuevos anticuerpos monoclonales anti-MCAM.

Se generaron anticuerpos monoclonales de ratón y rata dirigidos contra la proteína MCAM humana como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. La unión específica entre el anticuerpo monoclonal y MCAM humana se confirmó evaluando la capacidad del anticuerpo monoclonal para unirse a las células transfectadas con MCAM humana. Para esto, las células no transfectadas se marcaron con succinimidil éster de carboxifluoresceína

(CFSE) y se mezclaron con células transfectadas con MCAM humana sin marcar. Por lo tanto, podrían diferenciarse las células no transfectadas.

Usando estas técnicas, se aislaron 823 clones de fusiones de ratón independientes y se mostró que expresaban un anticuerpo capaz de unirse a MCAM humana. Además, se aislaron 152 clones de fusiones de rata independientes y se demostró que expresaban un anticuerpo capaz de unirse a MCAM humana.

A continuación, los anticuerpos monoclonales anti-MCAM humana se usaron para probar su capacidad para bloquear la unión de MCAM humana a su ligando. Se incubó proteína MCAM-Fc humana (5 µg/ml), previamente, con un anticuerpo de control de isotipo, o 10 µg/ml del anticuerpo monoclonal de prueba durante 30 minutos en PBS. La mezcla se añadió a secciones de tejido de la médula espinal sanas y posteriormente se caracterizó por microscopía de fluorescencia como se describe en Materiales y Métodos anteriormente. Además, las células CHO precursoras (CHOK1) o las células CHO transfectadas con un gen MCAM humano se incubaron previamente con medios de cultivo CHO (DMEM), laminina 411 recombinante (10 µg/ml) o laminina 511 recombinante (es decir, laminina 10 (α5β1γ1)) (10 µg/ml) a 37 °C durante 45 minutos. Las células se lavaron y se detectó la unión específica de la laminina 411, pero no de la laminina 511, a MCAM con un anticuerpo pan-laminina por citometría de flujo. La preincubación de células CHO transfectadas con MCAM humana con el anticuerpo anti-MCAM (a 20 µg/ml), antes de la incubación con laminina, suprimió la unión de MCAM humana a laminina 411.

Utilizando esta técnica, se demostró que 87 de los 823 clones de fusión de ratón independientes y 26 de los 152 clones de fusión de rata independientes descritos anteriormente expresaban un anticuerpo que era capaz de bloquear la interacción entre la proteína MCAM humana y su ligando, cadena α-4 de laminina.

Ejemplo 11. Caracterización adicional de nuevos anticuerpos monoclonales anti-MCAM.

Los 87 clones de fusión de ratón independientes y los 26 clones de fusión de rata independientes descritos en el Ejemplo 10 anterior como capaces de (i) unirse a MCAM humana, y (ii) bloquear la interacción entre MCAM humana y la cadena α-4 de laminina se caracterizaron adicionalmente como sigue. En primer lugar, la cuantificación de la CI50 de la capacidad del anticuerpo monoclonal para bloquear la unión de MCAM humana a la cadena α-4 de laminina se determinó de la siguiente manera. Se incubaron células CHO que expresan MCAM humana con un anticuerpo anti-MCAM humana (a diversas concentraciones) durante 30 minutos a 4 grados centígrados. El anticuerpo no unido se eliminó por lavado y las células se incubaron con laminina 411 humana recombinante a 20 µg/ml durante 45 minutos a 37 grados centígrados. La laminina no unida se eliminó por lavado y la laminina unida a la superficie de las células se detectó con anticuerpos anti-laminina marcados con fluorescencia. Después del lavado, la cantidad de laminina unida a la superficie se detectó mediante citometría de flujo, y las IC50 se calcularon en función de la intensidad fluorescente media.

Usando el ensayo descrito anteriormente, se identificaron seis clones de anticuerpos monoclonales anti-MCAM humana que se unen a MCAM humana y que tienen la mayor capacidad para bloquear la interacción entre MCAM humana expresada en la superficie de las células y su ligando de unión, la laminina 411 humana. Estos seis clones de anticuerpos monoclonales anti-MCAM se denominan en el presente documento (i) los clones de anticuerpos monoclonales anti-MCAM humana de ratón 1174.1.3, 1414.1.2, 1415.1.1 y 1749.1.3, y (ii) los clones de anticuerpos monoclonales anti-MCAM humana de rata 2120.4.19 y 2107.4.10. Las secuencias de aminoácidos y ácidos nucleicos de las cadenas pesada y ligera de estos anticuerpos se proporcionan en las Fig. 13-24. Más específicamente, en el ensayo anterior, se determinó que las CI50 para los clones de anticuerpos monoclonales 1174.1.3, 1414.1.2, 1415.1.1, 1749.1.3, 2120.4.19 y 2107.4.10 eran 0,469 µg/ml, 0,431 µg/ml, 0,307 µg/ml, 0,545 µg/ml, 0,888 µg/ml y 0,290 µg/ml, respectivamente. Además, los experimentos realizados para determinar la afinidad de unión específica de cada anticuerpo monoclonal demostraron que cada uno era capaz de unirse a la proteína MCAM humana con alta afinidad (datos no mostrados). Como tal, cada uno de estos anticuerpos monoclonales específicos fue muy capaz de unirse a MCAM humana e inhibir la interacción de la MCAM humana expresada en células con su ligando de unión de laminina α-4. En contraste, dos anticuerpos control, un anticuerpo IgG1 humano no específico y un anticuerpo anti-MCAM completamente humano descrito previamente denominado ABX-MA1 (por ejemplo, véase Mills et al., Cancer Res. 62:5106 (2002), y las patentes de Estados Unidos Números 6.924.360, 7.067.131 y 7.090.844) fueron incapaces de bloquear la interacción de unión entre MCAM humana y su homólogo laminina 411. Como tal, los seis anticuerpos monoclonales específicos identificados anteriormente poseen la capacidad novedosa de (i) unirse con alta afinidad a MCAM humana en la superficie de las células vivas, y (ii) bloquear la interacción de MCAM humana expresada en células con una proteína laminina que comprende una cadena polipeptídica de α-4 de laminina.

Ejemplo 12. Análisis de unión de dominio para nuevos anticuerpos monoclonales anti-MCAM.

La técnica descrita en el Ejemplo 8 anterior se empleó para determinar la ubicación del epítipo del antígeno en la proteína MCAM humana que se reconoce y se une por clones de anticuerpos monoclonales 1174.1.3, 1414.1.2, 1415.1.1, 1749.1.3, 2120.4.19 y 2107.4.10. Los resultados de estos análisis son los siguientes.

Se mostró que todos los clones de anticuerpos monoclonales 1174.1.3, 1414.1.2, 1415.1.1 y 1749.1.3 se unen a un epítipo antigénico encontrado en el dominio 3 de la proteína MCAM humana, definido específicamente por los

aminoácidos 244-321 (SEQ ID NO:24) de la proteína MCAM humana. Estos anticuerpos monoclonales no fueron capaces de unirse al dominio 1 de MCAM humana (concretamente, los aminoácidos 19-129, SEQ ID NO:22), el dominio 2 (concretamente, los aminoácidos 139-242, SEQ ID NO:23), o la combinación de dominios 1 y 2 (concretamente, los aminoácidos 19-242). Por lo tanto, los clones de anticuerpos monoclonales 1174.1.3, 1414.1.2, 1415.1.1 y 1749.1.3 definen un nuevo epítipo antigénico localizado dentro del dominio 3 de la proteína MCAM humana.

Los clones de anticuerpos monoclonales 2120.4.19 y 2107.4.10 mostraron que cada uno se unía a un epítipo antigénico definido por la combinación de dominios 1 de MCAM humana (concretamente, los aminoácidos 19-129, SEQ ID NO:22) y dominio 2 (concretamente, aminoácidos 139-242, SEQ ID NO:23). Ninguno de estos dos anticuerpos monoclonales se unió al dominio 1 de MCAM humana por sí mismo. Por lo tanto, los clones de anticuerpos monoclonales 2120.4.19 y 2107.4.10 definen un nuevo epítipo antigénico determinado por la presencia de ambos dominios 1 y 2 de proteína MCAM humana.

En contraste con lo anterior, el anticuerpo ABX-MA1 anti-MCAM completamente humano descrito previamente se une a un epítipo antigénico diferente de los descritos anteriormente, concretamente, un epítipo antigénico que está completamente definido y abarcado solo dentro del dominio 1 de MCAM humana.

Dados estos resultados, como cada uno de los clones de anticuerpos monoclonales 1174.1.3, 1414.1.2, 1415.1.1, 1749.1.3, 2120.4.19 y 2107.4.10 son capaces de tanto (i) unirse a la MCAM humana, como (ii) bloquear la interacción entre la MCAM humana y una proteína que contiene laminina α -4, mientras que el anticuerpo ABX-MA1 es capaz de unirse solo a la MCAM humana, pero no bloquea la interacción entre la MCAM humana y una proteína que contiene laminina α -4, estos resultados demuestran que el dominio 2 de MCAM humana, el dominio 3 de MCAM humana y la combinación de los mismos desempeñan un papel en la interacción de unión con la cadena α -4 de laminina. Dado esto, está claro que los anticuerpos que se unen al dominio 2 de MCAM humana, dominio 3 de MCAM humana y/o la combinación de los mismos encontrarían utilidad como agentes capaces de bloquear la interacción entre la MCAM humana y la laminina α -4 y, por lo tanto, encontrarían utilidad para inhibir las diversas consecuencias descritas en el presente documento como resultado de esa interacción. En contraste, los anticuerpos que se unen a un epítipo antigénico definido únicamente por el dominio 1 de MCAM humana (tal como el anticuerpo ABX-MA1 descrito en el presente documento) no son útiles para bloquear la interacción MCAM/laminina α -4 y sus diversas consecuencias biológicas posteriores.

Ejemplo 13. Generación de anticuerpos anti-MCAM humanizados.

Se generaron varios anticuerpos anti-MCAM humanizados según el siguiente protocolo. Primero, se construyó un modelo molecular tridimensional de las regiones variables usando el algoritmo patentado de JN Biosciences. En segundo lugar, se identificaron los restos de aminoácidos del marco importantes para la formación de la estructura de CDR o necesarios para la unión al antígeno utilizando el modelo molecular. En paralelo, se seleccionaron secuencias de aminoácidos de VH y VL humanas derivadas de ADNc con alta homología con las secuencias de aminoácidos de VH y VL, respectivamente. Finalmente, las secuencias CDR junto con los restos de aminoácidos del marco importantes para la estructura de CDR o la unión al antígeno se injertaron de VH y VL en las correspondientes secuencias marco humanas seleccionadas.

Las Fig. 25-27 representan la alineación de varias secuencias de cadenas pesadas y ligeras de 1749, 2107 y 2120. La numeración de los restos está de acuerdo con la numeración de Kabat. Se identificaron diferentes mutaciones de los restos de aminoácidos del marco (FR) implicados en la formación de CDR y en la unión al antígeno, dependiendo de la versión del anticuerpo. Por ejemplo, las mutaciones ejemplares de los anticuerpos 1749 se representan en la Fig. 25A (el resto encerrado en un recuadro entre CDR-H2 y CDR-H3 (A93T) afecta al contacto con la CDR; la mutación A93T combinada con las mutaciones del resto encerrado en un recuadro entre CDR-H1 y CDR H2 (G44R) afecta a la interfaz VH/VL y la conformación de CDR) y la Fig. 25B (Las mutaciones del resto encerrado en un recuadro entre CDR-L2 y CDR-L3 (S63T) afectan a CDR2 y al contacto con el antígeno). Las mutaciones ejemplares de los anticuerpos 2107 se representan en la Fig. 26A (los restos encerrados en un recuadro antes de CDR-H1 (S30T), entre CDR-H1 y CDR-H2 (I37V y L48I) y entre CDR-H2 y CDR-H3 (K71R) afectan a los contactos con las CDR; y las mutaciones S30T, I37V, L48I y K71R combinadas con una mutación del resto encerrado en un recuadro inmediatamente después de CDR-H2 (T68S) afectan a las interacciones antígeno/anticuerpo; y en la Fig. 26B (los restos encerrados en un recuadro entre CDR-L1 y CDR-L2 (Y36F), y entre CDR-L2 y CDR-L3 (V58I) afectan al contacto con las CDR; y las mutaciones de Y36F y V58I combinadas con (i) una mutación adicional del resto encerrado en un recuadro entre CDR-L1 y CDR-L2 (Q38L) afectan a la estructura de las CDR; o (ii) una mutación adicional antes de CDR-L1 (T22N) afecta a la interacción del anticuerpo con el antígeno). Las mutaciones ejemplares de los anticuerpos 2120 se representan en la Fig. 27A (los restos encerrados en un recuadro en CDR-H1 (S30T), entre CDR-H1 y CDR-H2 (I37V y L48I), y entre CDR-H2 y CDR-H3 (K71R) afectan al contacto con las CDR; y las mutaciones S30T, I37V, L48I y K71R combinadas con una mutación adicional después de CDR-H2 (T68S) afectan al contacto con las CDR); y en la Fig. 27B (los restos encerrados en un recuadro entre CDR-L1 y CDR-L2 (L46V e Y49F) y entre CDR-L2 y CDR-L3 (V58I) afectan al contacto con las CDR; los restos encerrados en un recuadro entre CDR-L1 y CDR-L2 (L46V e Y49F) afectan el contacto con las CDR; y las mutaciones L46V, Y49F y V58I combinadas con una mutación adicional después de CDR-L1 (T22N) afectan a la interacción anticuerpo/antígeno).

Se diseñaron varias versiones de cada cadena (natural frente a agresiva o conservativa). Para aquellos anticuerpos que contenían motivos de N-desamidación (NG), se introdujeron mutaciones en las asparaginas o glicina en la versión natural. Las diversas regiones V humanizadas se sintetizaron con una secuencia señal heteróloga y se clonaron en vectores de expresión que contenían CK humana (VL) o IgG1 humana (VH).

- 5 Los plásmidos de cadena pesada y ligera se cotransfectaron en células 293F con el reactivo de transfección FreeStyle™ MAX (Invitrogen) de acuerdo con el protocolo del fabricante. El anticuerpo expresado se purificó con columnas PhyTip de proteína A (Phynexus) y se cuantificó mediante DO280.

Las afinidades aparentes de los anticuerpos humanizados se compararon con el anticuerpo precursor de roedor o quimérico en un ELISA competitivo según el siguiente protocolo.

- 10 Las placas de ELISA se recubrieron con hMCAM-His recombinante y se bloquearon con tampón de caseína para evitar la unión no específica. Se añadió anticuerpo de roedor o quimérico biotinilado en una concentración subsaturante, en presencia o ausencia de concentraciones crecientes 3x de competidor no marcado (anticuerpo humanizado, de roedor o quimérico). Después de lavar para eliminar el anticuerpo no unido, se añadió estreptavidina HRP para permitir la detección del anticuerpo biotinilado. El ELISA se desarrolló con el sustrato TMB y se midió la DO450. El CI50 del competidor sin etiquetar se determinó utilizando el software GraphPad Prism5.
- 15

La Tabla 2 resume el diseño de secuencias humanizadas (véanse también las Fig. 25-27 y 30-32).

Tabla 2

1749	Marco Donante	Mutaciones
VH1	U96282 IGHV3-7*02	A93T
VH2	U96282 IGHV3-7*02	VH1 + G44R
VL1	X02990 IGKV4-1 *01	Ninguna
VL2	X02990 IGHKV-1*01	VL1 + S63T
2107	Marco Donante	Mutaciones
VH1	AF062133 IGHV2-26*01	S30T*, I37V, L48I y K71R
VH2	AF062133 IGHV2-26*01	Mutaciones + T68S de VH1
VH3	AF062133 IGHV2-26*01	Mutaciones + D72N de VH1
VH4	AF062133 IGHV2-26*01	Mutaciones + N32S de VH1
VH5	AF062133 IGHV2-26*01	Mutaciones + N32Q de VH1
VH6	AF062133 IGHV2-26*01	Mutaciones + G33A de VH1
VL1	U86803 IGKV1-27*01	Y36F, V58I
VL2	U86803 IGKV1-27*01	Mutaciones + Q38L de VL1
VL3	U86803 IGKV1-27*01	Mutaciones + T22N de VL1
2120	Marco Donante	Mutaciones
VH1	AF062133 IGHV2-26*01	S30T*, I37V, L48I y K71R
VH2	AF062133 IGHV2-26*01	Mutaciones + T68S de VH1
VH3	AF062133 IGHV2-26*01	Mutaciones + N32S de VH1
VH4	AF062133 IGHV2-26*01	Mutaciones + N32Q de VH1
VH5	AF062133 IGHV2-26*01	Mutaciones + G33A de VH1
VL1	X84343 IGKV1-39*01	L46V, Y49F y V58I
VL2	X84343 IGKV1-39*01	L46V, Y49F
VL3	X84343 IGKV1-39*01	VL1 + T22N

Los plásmidos de cadena pesada y ligera se cotransfectaron en células 293F con el reactivo de transfección FreeStyle™ MAX (Invitrogen) según el protocolo del fabricante. El anticuerpo expresado se purificó con columnas PhyTip de proteína A (Phynexus) y se cuantificó mediante DO280.

- 5 Las afinidades aparentes de los anticuerpos humanizados se compararon con el anticuerpo precursor de roedor o quimérico en un ELISA competitivo según el siguiente protocolo:

- 10 Las placas de ELISA se recubrieron con hMCAM-His recombinante y se bloquearon con tampón de caseína para evitar la unión no específica. Se añadió anticuerpo de roedor o quimérico biotinilado en una concentración subsaturante, en presencia o ausencia de concentraciones crecientes 3x de competidor no marcado (anticuerpo humanizado, de roedor o quimérico). Después de lavar para eliminar el anticuerpo no unido, se añadió estreptavidina HRP para permitir la detección del anticuerpo biotinilado. El ELISA se desarrolló con el sustrato TMB y se midió la DO450. El CI50 del competidor no marcado se determinó utilizando el software GraphPad Prism5.

Las afinidades se midieron utilizando el Octet Red de ForteBio. Se utilizaron sensores anti-Fc humana para capturar los anticuerpos humanizados, y se utilizaron varias concentraciones de analito hMCAMHis para determinar la afinidad utilizando un modelo de ajuste 1:1.

- 15 Las potencias de los anticuerpos se midieron en el ensayo de laminina/FACS según el siguiente protocolo: se agregó laminina 411 recombinante (Biolaminat) a células CHO que expresan hMCAM en presencia o ausencia de concentraciones variables de los anticuerpos humanizados, de roedores o quiméricos. Después de la incubación durante 30-45 minutos, las células se lavaron y se añadió anti-laminina conjugada a AF650 (NovusBio) para detectar la laminina unida. Las células se procesaron en un citómetro de flujo para medir la señal de unión a la laminina.

- 20 La Tabla 3 proporciona las construcciones utilizadas para la transfección.

Tabla 3

Construcción	Descripción
h1749VH1	Natural
h1749VH2	Conservativa
h1749VL1	Natural
h1749VL2	Conservativa
Construcción	Descripción
h2120_VH1	Natural
h2120_VH2	Conservativa
h2120_VH3	Natural+N-S
h2120_VH4	Natural+N-Q
h2120_VH5	Natural+G-A
h2120_VL1	Natural
h2120_VL2	Agresiva
h2120_VL3	Conservativa
h2107_VH1	Natural
h2107_VH2	Conservativa
h2107_VH3	Natural+glyc
h2107_VH4	Natural+N-S
h2107_VH5	Natural+N-Q
h2107_VH6	Natural+G-A

h2107_VL1	Natural
h2107_VL2	Conservativa--rec
h2107_VL3	Conservativa

La Tabla 4 describe los experimentos de transfección específicos.

Tabla 4

Transfección--ronda 1	
h1749VH1+h1749VL1	VH y VL naturales
h1749VH2+h1749VL2	VH y VL conservativas
h2120_VH1+h2120_VL3	VH natural + VL conservativa
h2120_VH2+h2120_VL3	VH conservativa + VL conservativa
h2120_VH3+h2120_VL3	VH N-S desamidada + VL conservativa
h2107_VH1+h2107_VL2	VH natural + VL conservativa
h2107_VH2+h2107_VL2	VH conservativa + VL conservativa
h2107_VH3+h2107_VL2	VH natural/N-gly restablecida + VL conservativa
h2107_VH4+h2107_VL2	mut VH N-S desamidada + VL conservativa
Transfección--ronda 2	
h1749VH1+h1749VL2	VH natural y VL conservativa
h1749VH2+h1749VL1	VH conservativa y VL natural
h2120_VH4+h2120_VL3	VH N-Q desamidada + VL conservativa
h2120_VH5+h2120_VL3	VH G-A desamidada + VL conservativa
h2120_VH1+h2120_VL1	VH natural + VL natural
h2120_VH1+h2120_VL2	VH natural + VL Agresiva
h2107_VH1+h2107_VL1	VH natural y VL natural
h2107_VH1+h2107_VL3	VH natural y otra VL
h2107_VH5+h2107_VL2	VH N-Q desamidada + VL conservativa
h2107_VH6+h2107_VL2	VH G-A desamidada + VL conservativa
h2107_VH5+h2107_VL3	VH N-Q desamidada + otra VL
Transfección--ronda 1	
h2107_VH6+h2107_VL3	VH G-A desamidada + otra VL
h2107_VH5+h2107_VL1	VH N-Q desamidada + VL natural
h2107_VH6+h2107_VL1	VH G-A desamidada + VL natural

La Tabla 5 muestra las afinidades relativas de los anticuerpos humanizados en comparación con el precursor de roedor medido por ForteBio y ELISA competitivo, así como los niveles de expresión para la primera ronda de transfecciones. La Fig. 28A-C compara el bloqueo de varios anticuerpos 1749, 2120 y 2107 de la unión de MCAM a laminina de la primera ronda de transfecciones.

Tabla 5

	Forte		ELISA		
	Exp. n. 1	Exp. n. 2	Exp. n. 1	Exp. n. 2	
Transfección--ronda 1	Múltiplo de roedor	Múltiplo de roedor	Múltiplo de roedor	Múltiplo de roedor	Nivel de expresión
1749 de roedor	1,00	1,00	1,00	1,00	
h1749VH1+h1749VL1	2,50	2,41	1,26	1,35	7,2 mg/L
h1749VH2+h1749VL2	0,73	1,09	1,28	1,46	7,2 mg/L
1749 quimérico		0,79	0,81	0,97	
1749 TM quimérico				1,07	
2120 de roedor	1,00	1,00	1,00	1,00	
h2120_VH1+h2120_VL3	5,64	6,21	2,23	2,42	22 mg/L
h2120_VH2+h2120_VL3	6,57	6,43	1,93	2,62	16 mg/L
h2120_VH3+h2120_VL3	16,14		3,47		22 mg/L
2120 quimérico			0,97	1,72	
2107 de roedor	1,00	1,00	1,00	1,00	
h2107_VH1+h2107_VL2	2,37	3,40	1,29	1,32	12 mg/L
h2107_VH2+h2107_VL2	2,54	3,58	1,32	1,48	26,7 mg/L
h2107_VH3+h2107_VL2	2,54		1,62		14,6 mg/L
h2107_VH4+h2107_VL2	5,59		11,72		26,7 mg/L
2107 quimérico			0,68	1,01	
2107 TM quimérico				0,96	

La Tabla 6 muestra la afinidad medida por ForteBio, ELISA competitivo y los datos de bloqueo funcional (ensayo de laminina/FACS) en comparación con el precursor de roedor, así como los niveles de expresión, de la segunda ronda de transfecciones.

5

Tabla 6

	Forte	Forte		Bloqueo		
			ELISA	Exp n.1	Exp n. 2	
Transfección--ronda 2	Múltiplo de roedor	Múltiplo de roedor	Múltiplo de roedor	Múltiplo de roedor	Múltiplo de roedor	Nivel de expresión
h1749VH1+h1749VL2	2,5		1,0	1,1	1,2	6,9 mg/L
h1749VH2+h1749VL1	1,2		1,0	1,5	1,8	3,2 mg/L
h1749VH1+h1749VL1	2,5		1,0	1,4	1,4	7,2 mg/L
h1749VH2+h1749VL2	0,7		1,1	1,8	1,7	7,2 mg/L
1749 quimérico	0,6			1,4	1,4	
1749 de roedor	1,0		1,0	1,0	1,0	
h2120_VH4+h2120_VL3	17,4		5,0	3,8	5,6	15 mg/L

	Forte	Forte		Bloqueo		
			ELISA	Exp n.1	Exp n. 2	
h2120_VH5+h2120_VL3	1,1	1,2	2,4	1,2	1,5	22 mg/L
h2120_VH1+h2120_VL1	8,8		3,1	2,0	3,5	17 mg/L
h2120_VH1+h2120_VL2	10,8		3,1	4,6	12,6	2 mg/L
h2120_VH1+h2120_VL3	5,9	5,8	1,8	1,7	2,8	22 mg/L
2120 de roedor	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	
h2107_VH1+h2107_VL1	12,9		2,1	2,3	2,1	25 mg/L
h2107_VH1+h2107_VL3	16,3		2,3	2,6	2,0	22 mg/L
h2107_VH5+h2107_VL2	5,9	6,0	1,3	1,6	1,5	19 mg/L
h2107_VH6+h2107_VL2	5,2	5,5	3,5	4,8	2,3	3 mg/L
h2107_VH5+h2107_VL3	33,2		3,4			19 mg/L
h2107_VH6+h2107_VL3	22,1		9,9			3 mg/L
h2107_VH5+h2107_VL1	28,2		3,7			18 mg/L
h2107_VH6+h2107_VL1	36,8		15,3			3 mg/L
h2107_VH1+h2107_VL2	3,0	2,8	1,4	1,9	1,4	12 mg/L
h2107_VH2+h2107_VL2	2,7	2,9	1,3	1,4	1,5	26,7 mg/L
2107 de roedor	1,0	1,0	1,0	1,0		
2107 quimérico					1,0	

En general, los datos demuestran que los diversos anticuerpos humanizados 1749 tienen <2x reducción en la potencia y afinidad en comparación con el roedor. Los diversos anticuerpos humanizados 2120 tienen una reducción >5x en la afinidad medida por ForteBio, y la mayoría tienen una reducción >2-3x en la afinidad aparente y potencia medida por el ELISA competitivo y el ensayo de bloqueo de laminina, con la excepción de VH5VL3 (mutante VH con G-A N-desamidación/VL conservativa), que tuvo una reducción <2x en la afinidad y la potencia. Muchos de los anticuerpos 2107 humanizados tienen una pérdida significativa de afinidad y potencia, con la excepción de VH1VL2, VH2VL2 y VH3VL2 (cadena ligera conservativa con cadenas pesadas naturales, conservativas y el sitio de N-glicosilación D72N restablecido); en general, estos tuvieron una reducción <3x y afinidad y potencia mientras retienen el sitio de N-desamidación.

Ciertos anticuerpos candidatos se reexpresaron y probaron para su afinidad por ForteBio y su CI_{50} . Los resultados se proporcionan en la Tabla 7 a continuación y en la Fig. 29.

Tabla 7

	kD Forte	CI_{50} de bloqueo	Expresión
h2120VH5VL3	1,3	0,7	12,7 mg/L
h2107VH2VL2	1,4	0,8	20 mg/L
h1749VH2VL1	0,67	0,4	3,3 mg/L

Ejemplo 14. Análisis del bloqueo de MCAM por un anticuerpo anti-MCAM humanizado e inhibición de la progresión de la enfermedad EAE

Los anticuerpos humanizados descritos en el presente documento, por ejemplo, el Ejemplo 13, se analizan para determinar su efecto sobre la progresión de la enfermedad EAE según el protocolo proporcionado en el Ejemplo 7.

Ejemplo 15. Uso de anticuerpos humanizados para analizar la expresión de MCAM después de la polarización de TH17

Los anticuerpos humanizados descritos en el presente documento, por ejemplo, el Ejemplo 13, se utilizan para analizar la expresión de MCAM después de la polarización de TH17 según el protocolo proporcionado en el Ejemplo 6.

Ejemplo 16. Inflamación cutánea inducida por DNFB en ratones

Se diluyó DNFB (2,4-dinitrofluorobenzeno, Sigma) en acetona y aceite de oliva (4/1). Se afeitó el abdomen de ratones BALB/c (6-10 semanas de edad) y se sensibilizó con 25 µl de solución de DNFB al 0,5% en los días 0 y 1 como modelo de dermatitis de contacto alérgica y psoriasis. Los animales recibieron tratamiento intraperitoneal de anticuerpos (Anti-MCAM Clon 15 e Isotipo, 10 mg/kg) en los días 6 y 7. La oreja derecha del ratón se expuso a 5 µl de DNFB al 0,2% y la oreja izquierda recibió el vehículo (acetona/aceite de oliva) el día 7 (Nakae et al., Immunity. 2002 Sep; 17(3):375-871). Los ratones se sometieron a eutanasia el día 8 y se monitorizó el grosor o la hinchazón de la oreja usando un micrómetro (Mitutoyo, Estados Unidos). La hinchazón de la oreja se calculó como $[(T1 + T2 + T3 + T4)/4 \text{ oreja izquierda}] - [(T1 + T2 + T3 + T4)/4 \text{ oreja derecha}]$, donde T representa cuatro valores diferentes del grosor de la oreja. La figura 30 muestra que el anticuerpo inhibe significativamente la inflamación.

Ejemplo 17. Inhibición del crecimiento tumoral en ratones SCID atímicos

Se inyectaron 5×10^5 células de melanoma que expresan MCAM humana (WM2664) por vía subcutánea en ratones macho atímicos con inmunodeficiencia combinada grave (SCID). Los ratones se trataron semanalmente con 1 mg de anticuerpo total (0,5 mg de cada anticuerpo en el grupo de combinación) semanalmente comenzando el día 4 después de la implantación del tumor. Los anticuerpos utilizados fueron el clon 15 de anti-MCAM de ratón o el clon 2120.4.19 de anti-MCAM humana o una combinación de los mismos. Se midieron los tumores con un diseño ciego con calibradores 2X por semana y se determinó el volumen tumoral mediante una fórmula convencional ($\text{Volumen} = (\text{ancho})^2 \times \text{longitud}/2$) (Fig. 31A). El día 40 después de la implantación del tumor, los ratones se sometieron a eutanasia y los tumores se extrajeron intactos y se pesaron (Fig. 31B). Cada anticuerpo inhibió el crecimiento del tumor y la inhibición fue más notable en el tratamiento de combinación. Se cree que el tratamiento de combinación es más eficaz en ratones que contienen células cancerosas humanas. Las células cancerosas humanas expresan MCAM humana y laminina humana, y los ratones expresan MCAM de ratón y laminina de ratón. Debido a que MCAM/laminina de ratón y humanas se unen entre sí, los anticuerpos con especificidad para MCAM humana y de ratón actúan de forma sinérgica para inhibir el crecimiento del tumor. En un ser humano, donde todas las MCAM y lamininas son humanas, se espera que el clon 2120.4.19 anti-MCAM humano (o un anticuerpo similar) sea igualmente eficaz como el tratamiento de combinación en ratones.

Listado de secuencias

<110> FLANAGAN, Kenneth BAKER, Jeanne YEDNOCK, Theodore A.
 <120> ANTICUERPOS ANTI-MCAM Y MÉTODOS DE USO ASOCIADOS
 <130> 057450/436599
 <150> 61/797,179
 <151> 30-11-2012
 <150> 61/797,356
 <151> 12-05-2012
 <150> 61/698,916
 <151> 10-0-9-2012
 <160> 155
 <170> FastSEQ para Windows Versión 4.0
 <210> 1
 <211> 428
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Polinucleótido sintético
 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(426)
 <400> 1

ES 2 718 208 T3

atg agg gtc cag att cag ttt ctg ggg ctc ctt ctg ctc tgg aca tca	48
Met Arg Val Gln Ile Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Trp Thr Ser	
1 5 10 15	
ggt gtc cag tgt gat gtc cag atg acc cag tct cca tct tat ctt gct	96
Val Val Gln Cys Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala	
20 25 30	
acg tct cct gga gag agt gtt tcc atc agt tgc aag gca agt aaa aac	144
Thr Ser Pro Gly Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Asn	
35 40 45	
att gac aca tac tta gcc tgg tat cag gag aaa cct ggg aaa acg aat	192
Ile Asp Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn	
50 55 60	
aag ctt ctt atc tac tct ggg tca act ttg caa tct gga act cca tcg	240
Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser	
65 70 75 80	
aga ttc agt ggc agt gga tct ggt aca gat ttc acg ctc acc atc aga	288
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg	
85 90 95	
aac ctg gag tct gaa gat ttt gca gtc tac tac tgt caa cag cat aat	336
Asn Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn	
100 105 110	
gaa tac ccg ctc acg ttc ggt tct ggg acc aag ctg gag atc aaa cgg	384
Glu Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	
115 120 125	
gct gat gct gca cca act gta tcc atc ttc cca cca tcc tcg	426
Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser	
130 135 140	

ga	428
----	-----

<210> 2

5 <211> 142

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético

10 <400> 2

ES 2 718 208 T3

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

130 135 140

5 <210> 3
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

10 <400> 3
 Lys Ala Ser Lys Asn Ile Asp Thr Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 4
 <211> 5
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 4
 Ser Gly Ser Thr Leu
 1 5

20 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 25 <223> Péptido sintético

<400> 5
 Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu Thr
 1 5

<210> 6
 <211> 483
 30 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Polinucleótido sintético

<220>
 35 <221> CDS

ES 2 718 208 T3

<222> (1)...(483)

<400> 6

atg gac acc agg ctc tgc ttg gtt ttc ctt gtc ctt ttc ata aaa ggt	48
Met Asp Thr Arg Leu Cys Leu Val Phe Leu Val Leu Phe Ile Lys Gly	
1 5 10 15	
gtc cag tgt gag gtg cag ctg gtg gag tct ggt gga ggc tta gtg cag	96
Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln	
20 25 30	
cct gga agg tcc ctg aaa ctc tcc tgt gca gcc tca gga ttc act ttc	144
Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe	
35 40 45	
agt aac tat tac atg gcc tgg gtc cgc cag gct cca acg aag ggt ctg	192
Ser Asn Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Thr Lys Gly Leu	
50 55 60	
gag tgg gtc gca tcc att agt ttt gag ggt aat aga aat cac tat gga	240
Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Phe Glu Gly Asn Arg Asn His Tyr Gly	
65 70 75 80	
gac tcc gtg aag ggc cga atc act atc tcc aga gat aat gca aaa agc	288
Asp Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser	
85 90 95	
acc cta tac ctg caa atg acc agt ctg agg cct gag gac acg gcc act	336
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Thr	
100 105 110	
tat tat tgt gca aga cat cgg ggg tat agt acg aat ttt tat cac gac	384
Tyr Tyr Cys Ala Arg His Arg Gly Tyr Ser Thr Asn Phe Tyr His Asp	
115 120 125	
gtt ttg gat gcc tgg ggt caa gga gct tta gtc act gtc tcc tca gct	432
Val Leu Asp Ala Trp Gly Gln Gly Ala Leu Val Thr Val Ser Ser Ala	
130 135 140	
gaa aca aca gcc cca tct gtc tat cca ctg gct cct gga act gct ctc	480
Glu Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu	
145 150 155 160	
aaa	483
Lys	

<210> 7

<211> 161

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 7

ES 2 718 208 T3

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

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 8

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

10 <210> 9

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<400> 9

Ser Ile Ser Phe Glu Gly Asn Arg Asn His Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

20 <210> 10

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

25 <223> Péptido sintético

<400> 10

His Arg Gly Tyr Ser Thr Asn Phe Tyr His Asp Val Leu Asp Ala Trp
 1 5 10 15
 Gly Gln Gly

<210> 11

<211> 646

30 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

ES 2 718 208 T3

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

ES 2 718 208 T3

Leu Asn Tyr Arg Leu Pro Ser Gly Asn His Met Lys Glu Ser Arg Glu
 225 230 235 240
 Val Thr Val Pro Val Phe Tyr Pro Thr Glu Lys Val Trp Leu Glu Val
 245 250 255
 Glu Pro Val Gly Met Leu Lys Glu Gly Asp Arg Val Glu Ile Arg Cys
 260 265 270
 Leu Ala Asp Gly Asn Pro Pro Pro His Phe Ser Ile Ser Lys Gln Asn
 275 280 285
 Pro Ser Thr Arg Glu Ala Glu Glu Thr Thr Asn Asp Asn Gly Val
 290 295 300
 Leu Val Leu Glu Pro Ala Arg Lys Glu His Ser Gly Arg Tyr Glu Cys
 305 310 315 320
 Gln Ala Trp Asn Leu Asp Thr Met Ile Ser Leu Leu Ser Glu Pro Gln
 325 330 335
 Glu Leu Leu Val Asn Tyr Val Ser Asp Val Arg Val Ser Pro Ala Ala
 340 345 350
 Pro Glu Arg Gln Glu Gly Ser Ser Leu Thr Leu Thr Cys Glu Ala Glu
 355 360 365
 Ser Ser Gln Asp Leu Glu Phe Gln Trp Leu Arg Glu Glu Thr Asp Gln
 370 375 380
 Val Leu Glu Arg Gly Pro Val Leu Gln Leu His Asp Leu Lys Arg Glu
 385 390 395 400
 Ala Gly Gly Gly Tyr Arg Cys Val Ala Ser Val Pro Ser Ile Pro Gly
 405 410 415
 Leu Asn Arg Thr Gln Leu Val Lys Leu Ala Ile Phe Gly Pro Pro Trp
 420 425 430
 Met Ala Phe Lys Glu Arg Lys Val Trp Val Lys Glu Asn Met Val Leu
 435 440 445
 Asn Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly His Pro Arg Pro Thr Ile Ser Trp
 450 455 460
 Asn Val Asn Gly Thr Ala Ser Glu Gln Asp Gln Asp Pro Gln Arg Val
 465 470 475 480
 Leu Ser Thr Leu Asn Val Leu Val Thr Pro Glu Leu Leu Glu Thr Gly
 485 490 495
 Val Glu Cys Thr Ala Ser Asn Asp Leu Gly Lys Asn Thr Ser Ile Leu
 500 505 510
 Phe Leu Glu Leu Val Asn Leu Thr Thr Leu Thr Pro Asp Ser Asn Thr
 515 520 525
 Thr Thr Gly Leu Ser Thr Ser Thr Ala Ser Pro His Thr Arg Ala Asn
 530 535 540
 Ser Thr Ser Thr Glu Arg Lys Leu Pro Glu Pro Glu Ser Arg Gly Val
 545 550 555 560
 Val Ile Val Ala Val Ile Val Cys Ile Leu Val Leu Ala Val Leu Gly
 565 570 575
 Ala Val Leu Tyr Phe Leu Tyr Lys Lys Gly Lys Leu Pro Cys Arg Arg
 580 585 590
 Ser Gly Lys Gln Glu Ile Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Thr Glu Leu
 595 600 605
 Val Val Glu Val Lys Ser Asp Lys Leu Pro Glu Glu Met Gly Leu Leu
 610 615 620
 Gln Gly Ser Ser Gly Asp Lys Arg Ala Pro Gly Asp Gln Gly Glu Lys
 625 630 635 640
 Tyr Ile Asp Leu Arg His
 645

<210> 12

<211> 474

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Polinucleótido sintético

ES 2 718 208 T3

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(474)

<400> 12

atg gaa tca cag acc cag gtc ctc atg tcc ctg ctg ctc tgg att tct	48
Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Leu Met Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser	
1 5 10 15	

ggt acc tgt ggg gac att gtg atg acc cag tct cca tcc tct ctg gct	96
Gly Thr Cys Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala	
20 25 30	

gtg tca gct ggg gag acg gtc tct ata cac tgc aag tcc agt cag agt	144
Val Ser Ala Gly Glu Thr Val Ser Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Ser	
35 40 45	

ctt tta tac agt gga acc caa aag aac tac ttg gcc tgg ttc cag cag	192
Leu Leu Tyr Ser Gly Thr Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Phe Gln Gln	
50 55 60	

aaa cca gga cag tct cct aaa ctg ctg atc ttc tgg gca tct act agg	240
Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Phe Trp Ala Ser Thr Arg	
65 70 75 80	

cag tct ggt gtc cct gat cgc ttc ata ggc cgt gga tct ggg aca gac	288
Gln Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ile Gly Arg Gly Ser Gly Thr Asp	
85 90 95	

ttc act ctg acc atc agc ggt gtg cag gca gaa gat ctg gca att tat	336
Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr	
100 105 110	

tac tgt caa caa tat tat gat act ctc acg gac acg ttt gga gcg ggg	384
Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Asp Thr Leu Thr Asp Thr Phe Gly Ala Gly	
115 120 125	

acc aag ctg gaa ctg aaa cgg gct gat gct gca cca act gta tct atc	432
Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile	
130 135 140	

5

ttc cca cca tcc acg gaa cag tta gca act gga ggt gcc tca	474
Phe Pro Pro Ser Thr Glu Gln Leu Ala Thr Gly Gly Ala Ser	
145 150 155	

<210> 13

<211> 158

10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 13

ES 2 718 208 T3

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

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 14

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

10 <210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<400> 15

Trp Ala Ser Thr Arg Gln Ser
 1 5

<210> 16

<211> 10

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 16

Gln Gln Tyr Tyr Asp Thr Leu Thr Asp Thr
 1 5 10

25 <210> 17

<211> 469

<212> ADN

<213> Secuencia Artificial

30 <220>

<223> Polinucleótido sintético

<220>

ES 2 718 208 T3

<221> CDS

<222> (1)...(468)

<400> 17

atg gac atc agg ctc agc ttg gct ttc ctg gtc ctt ttc ata aaa ggt 48
Met Asp Ile Arg Leu Ser Leu Ala Phe Leu Val Leu Phe Ile Lys Gly
1 5 10 15

gtc cag tgt gag gtg cgg ctg gtg gag tct ggg gga ggc tta gtg cag 96
Val Gln Cys Glu Val Arg Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

cct gga aag tcc atg aaa ctc tcc tgt gta gcc tcg gga ttc aaa ttc 144
Pro Gly Lys Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Lys Phe
35 40 45

5

agt aac tat tac atg tcc tgg gtc cgc cag gct cca gcg aag ggt ctg 192
Ser Asn Tyr Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Ala Lys Gly Leu
50 55 60

gag tgg gtc gca tcc att agt gat ggt ggt ggt gac act ttc tgt cga 240
Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Asp Gly Gly Gly Asp Thr Phe Cys Arg
65 70 75 80

gac ttg gtg aag ggc cga ttc act atc tcc aga gat aat gca aaa agt 288
Asp Leu Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser
85 90 95

acc ctt tac ctg caa atg gac agt ctg agg cct gag gac acg gcc act 336
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110

tat tac tgt gca aga cgg gga gca gct atg ggg ggt gtt atg gat gcc 384
Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Ala Ala Met Gly Gly Val Met Asp Ala
115 120 125

tgg ggt caa gga act tca gtc act gtc tcc tca gct gaa aca aca gcc 432
Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Glu Thr Thr Ala
130 135 140

cca tct gtc tat cca ctg gct cct gga act gct ctc a 469
Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu
145 150 155

<210> 18

<211> 156

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 18

ES 2 718 208 T3

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

5 <210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

10 <400> 19
 Gly Phe Lys Phe Ser Asn Tyr Tyr Met Ser
 1 5 10

<210> 20
 <211> 17
 <212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 20
 Ser Ile Ser Asp Gly Gly Gly Asp Thr Phe Cys Arg Asp Leu Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

20 <210> 21
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

25 <400> 21
 Arg Gly Ala Ala Met Gly Gly Val Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly
 1 5 10 15

<210> 22
 <211> 111
 <212> PRT

30 <213> Homo sapiens

<400> 22

ES 2 718 208 T3

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

<210> 23

<211> 104

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 23

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

<210> 24

<211> 78

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

<400> 24

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

15

<210> 25

<211> 90

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 25

ES 2 718 208 T3

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

<210> 26

<211> 81

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 26

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

<210> 27

<211> 1823

10 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

ES 2 718 208 T3

Met	Ala	Leu	Ser	Ser	Ala	Trp	Arg	Ser	Val	Leu	Pro	Leu	Trp	Leu	Leu
1				5					10					15	
Trp	Ser	Ala	Ala	Cys	Ser	Arg	Ala	Ala	Ser	Gly	Asp	Asp	Asn	Ala	Phe
		20					25						30		
Pro	Phe	Asp	Ile	Glu	Gly	Ser	Ser	Ala	Val	Gly	Arg	Gln	Asp	Pro	Pro
	35					40						45			
Glu	Thr	Ser	Glu	Pro	Arg	Val	Ala	Leu	Gly	Arg	Leu	Pro	Pro	Ala	Ala
50					55						60				
Glu	Lys	Cys	Asn	Ala	Gly	Phe	Phe	His	Thr	Leu	Ser	Gly	Glu	Cys	Val
65				70						75				80	
Pro	Cys	Asp	Cys	Asn	Gly	Asn	Ser	Asn	Glu	Cys	Leu	Asp	Gly	Ser	Gly
			85					90					95		
Tyr	Cys	Val	His	Cys	Gln	Arg	Asn	Thr	Thr	Gly	Glu	His	Cys	Glu	Lys
			100				105						110		
Cys	Leu	Asp	Gly	Tyr	Ile	Gly	Asp	Ser	Ile	Arg	Gly	Ala	Pro	Gln	Phe
	115					120					125				
Cys	Gln	Pro	Cys	Pro	Cys	Pro	Leu	Pro	His	Leu	Ala	Asn	Phe	Ala	Glu
130					135						140				
Ser	Cys	Tyr	Arg	Lys	Asn	Gly	Ala	Val	Arg	Cys	Ile	Cys	Asn	Glu	Asn
145				150					155					160	
Tyr	Ala	Gly	Pro	Asn	Cys	Glu	Arg	Cys	Ala	Pro	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Asn
			165					170					175		
Pro	Leu	Leu	Ile	Gly	Ser	Thr	Cys	Lys	Lys	Cys	Asp	Cys	Ser	Gly	Asn
			180				185						190		
Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Ile	Phe	Glu	Asp	Cys	Asp	Glu	Val	Thr	Gly	Gln
	195					200					205				
Cys	Arg	Asn	Cys	Leu	Arg	Asn	Thr	Thr	Gly	Phe	Lys	Cys	Glu	Arg	Cys
210					215						220				
Ala	Pro	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Ala	Arg	Ile	Ala	Lys	Asn	Cys	Ala	Val
225					230				235					240	
Cys	Asn	Cys	Gly	Gly	Gly	Pro	Cys	Asp	Ser	Val	Thr	Gly	Glu	Cys	Leu
			245					250					255		
Glu	Glu	Gly	Phe	Glu	Pro	Pro	Thr	Gly	Met	Asp	Cys	Pro	Thr	Ile	Ser
		260					265						270		
Cys	Asp	Lys	Cys	Val	Trp	Asp	Leu	Thr	Asp	Asp	Leu	Arg	Leu	Ala	Ala
	275					280					285				
Leu	Ser	Ile	Glu	Glu	Gly	Lys	Ser	Gly	Val	Leu	Ser	Val	Ser	Ser	Gly
290					295						300				
Ala	Ala	Ala	His	Arg	His	Val	Asn	Glu	Ile	Asn	Ala	Thr	Ile	Tyr	Leu
305				310					315					320	
Leu	Lys	Thr	Lys	Leu	Ser	Glu	Arg	Glu	Asn	Gln	Tyr	Ala	Leu	Arg	Lys
			325					330					335		
Ile	Gln	Ile	Asn	Asn	Ala	Glu	Asn	Thr	Met	Lys	Ser	Leu	Leu	Ser	Asp
		340					345						350		
Val	Glu	Glu	Leu	Val	Glu	Lys	Glu	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Lys	Gly	Gln
	355					360					365				
Leu	Val	Gln	Lys	Glu	Ser	Met	Asp	Thr	Ile	Asn	His	Ala	Ser	Gln	Leu
370					375						380				
Val	Glu	Gln	Ala	His	Asp	Met	Arg	Asp	Lys	Ile	Gln	Glu	Ile	Asn	Asn
385				390					395					400	
Lys	Met	Leu	Tyr	Tyr	Gly	Glu	Glu	His	Glu	Leu	Ser	Pro	Lys	Glu	Ile

ES 2 718 208 T3

				405						410						415	
Ser	Glu	Lys	Leu	Val	Leu	Ala	Gln	Lys	Met	Leu	Glu	Glu	Ile	Arg	Ser		
			420					425					430				
Arg	Gln	Pro	Phe	Phe	Thr	Gln	Arg	Glu	Leu	Val	Asp	Glu	Glu	Ala	Asp		
		435					440					445					
Glu	Ala	Tyr	Glu	Leu	Leu	Ser	Gln	Ala	Glu	Ser	Trp	Gln	Arg	Leu	His		
	450					455					460						
Asn	Glu	Thr	Arg	Thr	Leu	Phe	Pro	Val	Val	Leu	Glu	Gln	Leu	Asp	Asp		
465					470					475					480		
Tyr	Asn	Ala	Lys	Leu	Ser	Asp	Leu	Gln	Glu	Ala	Leu	Asp	Gln	Ala	Leu		
				485					490						495		
Asn	Tyr	Val	Arg	Asp	Ala	Glu	Asp	Met	Asn	Arg	Ala	Thr	Ala	Ala	Arg		
			500					505					510				
Gln	Arg	Asp	His	Glu	Lys	Gln	Gln	Glu	Arg	Val	Arg	Glu	Gln	Met	Glu		
		515					520					525					
Val	Val	Asn	Met	Ser	Leu	Ser	Thr	Ser	Ala	Asp	Ser	Leu	Thr	Thr	Pro		
	530					535					540						
Arg	Leu	Thr	Leu	Ser	Glu	Leu	Asp	Asp	Ile	Ile	Lys	Asn	Ala	Ser	Gly		
545					550				555						560		
Ile	Tyr	Ala	Glu	Ile	Asp	Gly	Ala	Lys	Ser	Glu	Leu	Gln	Val	Lys	Leu		
				565					570					575			
Ser	Asn	Leu	Ser	Asn	Leu	Ser	His	Asp	Leu	Val	Gln	Glu	Ala	Ile	Asp		
			580					585					590				
His	Ala	Gln	Asp	Leu	Gln	Gln	Glu	Ala	Asn	Glu	Leu	Ser	Arg	Lys	Leu		
		595					600					605					
His	Ser	Ser	Asp	Met	Asn	Gly	Leu	Val	Gln	Lys	Ala	Leu	Asp	Ala	Ser		
	610					615					620						
Asn	Val	Tyr	Glu	Asn	Ile	Val	Asn	Tyr	Val	Ser	Glu	Ala	Asn	Glu	Thr		
625					630					635					640		
Ala	Glu	Phe	Ala	Leu	Asn	Thr	Thr	Asp	Arg	Ile	Tyr	Asp	Ala	Val	Ser		
				645					650					655			
Gly	Ile	Asp	Thr	Gln	Ile	Ile	Tyr	His	Lys	Asp	Glu	Ser	Glu	Asn	Leu		
			660					665					670				
Leu	Asn	Gln	Ala	Arg	Glu	Leu	Gln	Ala	Lys	Ala	Glu	Ser	Ser	Ser	Asp		
		675					680					685					
Glu	Ala	Val	Ala	Asp	Thr	Ser	Arg	Arg	Val	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Arg		
	690					695					700						
Lys	Ser	Ala	Leu	Lys	Thr	Arg	Leu	Ser	Asp	Ala	Val	Lys	Gln	Leu	Gln		
705					710					715						720	
Ala	Ala	Glu	Arg	Gly	Asp	Ala	Gln	Gln	Arg	Leu	Gly	Gln	Ser	Arg	Leu		
				725					730					735			
Ile	Thr	Glu	Glu	Ala	Asn	Arg	Thr	Thr	Met	Glu	Val	Gln	Gln	Ala	Thr		
			740														

ES 2 718 208 T3

										820				825				830			
Gln	Val	Ser	Met	Met	Phe	Asp	Gly	Gln	Ser	Ala	Val	Glu	Val	His	Ser						
										835				840				845			
Arg	Thr	Ser	Met	Asp	Asp	Leu	Lys	Ala	Phe	Thr	Ser	Leu	Ser	Leu	Tyr						
										850				855				860			
Met	Lys	Pro	Pro	Val	Lys	Arg	Pro	Glu	Leu	Thr	Glu	Thr	Ala	Asp	Gln						
										865				870				875			
Phe	Ile	Leu	Tyr	Leu	Gly	Ser	Lys	Asn	Ala	Lys	Lys	Glu	Tyr	Met	Gly						
										885				890				895			
Leu	Ala	Ile	Lys	Asn	Asp	Asn	Leu	Val	Tyr	Val	Tyr	Asn	Leu	Gly	Thr						
										900				905				910			
Lys	Asp	Val	Glu	Ile	Pro	Leu	Asp	Ser	Lys	Pro	Val	Ser	Ser	Trp	Pro						
										915				920				925			
Ala	Tyr	Phe	Ser	Ile	Val	Lys	Ile	Glu	Arg	Val	Gly	Lys	His	Gly	Lys						
										930				935				940			
Val	Phe	Leu	Thr	Val	Pro	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Ala	Glu	Glu	Lys	Phe						
										945				950				955			
Ile	Lys	Lys	Gly	Glu	Phe	Ser	Gly	Asp	Asp	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Asp						
										965				970				975			
Pro	Glu	Asp	Thr	Val	Phe	Tyr	Val	Gly	Gly	Val	Pro	Ser	Asn	Phe	Lys						
										980				985				990			
Leu	Pro	Thr	Ser	Leu	Asn	Leu	Pro	Gly	Phe	Val	Gly	Cys	Leu	Glu	Leu						
										995				1000				1005			
Ala	Thr	Leu	Asn	Asn	Asp	Val	Ile	Ser	Leu	Tyr	Asn	Phe	Lys	His	Ile						
										1010				1015				1020			
Tyr	Asn	Met	Asp	Pro	Ser	Thr	Ser	Val	Pro	Cys	Ala	Arg	Asp	Lys	Leu						
										1025				1030				1035			
Ala	Phe	Thr	Gln	Ser	Arg	Ala	Ala	Ser	Tyr	Phe	Phe	Asp	Gly	Ser	Gly						
										1045				1050				1055			
Tyr	Ala	Val	Val	Arg	Asp	Ile	Thr	Arg	Arg	Gly	Lys	Phe	Gly	Gln	Val						
										1060				1065				1070			
Thr	Arg	Phe	Asp	Ile	Glu	Val	Arg	Thr	Pro	Ala	Asp	Asn	Gly	Leu	Ile						
										1075				1080				1085			
Leu	Leu	Met	Val	Asn	Gly	Ser	Met	Phe	Phe	Arg	Leu	Glu	Met	Arg	Asn						
										1090				1095				1100			
Gly	Tyr	Leu	His	Val	Phe	Tyr	Asp	Phe	Gly	Phe	Ser	Gly	Gly	Pro	Val						
										1105				1110				1115			
His	Leu	Glu	Asp	Thr	Leu	Lys	Lys	Ala	Gln	Ile	Asn	Asp	Ala	Lys	Tyr						
										1125				1130				1135			
His	Glu	Ile	Ser	Ile	Ile	Tyr	His	Asn	Asp	Lys	Lys	Met	Ile	Leu	Val						
										1140				1145				1150			
Val	Asp	Arg	Arg	His	Val	Lys	Ser	Met	Asp	Asn	Glu	Lys	Met	Lys	Ile						
										1155				1160				1165			
Pro	Phe	Thr	Asp	Ile	Tyr	Ile	Gly	Gly	Ala	Pro	Pro	Glu	Ile	Leu	Gln						
										1170				1175				1180			
Ser	Arg	Ala	Leu	Arg	Ala	His	Leu	Pro	Leu	Asp	Ile	Asn	Phe	Arg	Gly						
										1185				1190				1195			
Cys	Met	Lys	Gly	Phe	Gln	Phe	Gln	Lys	Lys	Asp	Phe	Asn	Leu	Leu	Glu						
										1205				1210				1215			
Gln	Thr	Glu	Thr	Leu	Gly	Val	Gly	Tyr	Gly	Cys	Pro	Glu	Asp	Ser	Leu						
										1220				1225				1230			
Ile	Ser	Arg	Arg	Ala	Tyr	Phe	Asn	Gly	Gln	Ser	Phe	Ile	Ala	Ser	Ile						

ES 2 718 208 T3

1235	1240	1245
Gln Lys Ile Ser Phe Phe Asp Gly Phe Glu Gly Gly Phe Asn Phe Arg		
1250	1255	1260
Thr Leu Gln Pro Asn Gly Leu Leu Phe Tyr Tyr Ala Ser Gly Ser Asp		
1265	1270	1275
Val Phe Ser Ile Ser Leu Asp Asn Gly Thr Val Ile Met Asp Val Lys		
1285	1290	1295
Gly Ile Lys Val Gln Ser Val Asp Lys Gln Tyr Asn Asp Gly Leu Ser		
1300	1305	1310
His Phe Val Ile Ser Ser Val Ser Pro Thr Arg Tyr Glu Leu Ile Val		
1315	1320	1325
Asp Lys Ser Arg Val Gly Ser Lys Asn Pro Thr Lys Gly Lys Ile Glu		
1330	1335	1340
Gln Thr Gln Ala Ser Glu Lys Lys Phe Tyr Phe Gly Gly Ser Pro Ile		
1345	1350	1355
Ser Ala Gln Tyr Ala Asn Phe Thr Gly Cys Ile Ser Asn Ala Tyr Phe		
1365	1370	1375
Thr Arg Val Asp Arg Asp Val Glu Val Glu Asp Phe Gln Arg Tyr Thr		
1380	1385	1390
Glu Lys Val His Thr Ser Leu Tyr Glu Cys Pro Ile Glu Ser Ser Pro		
1395	1400	1405
Leu Phe Leu Leu His Lys Lys Gly Lys Asn Leu Ser Lys Pro Lys Ala		
1410	1415	1420
Ser Gln Asn Lys Lys Gly Gly Lys Ser Lys Asp Ala Pro Ser Trp Asp		
1425	1430	1435
Pro Val Ala Leu Lys Leu Pro Glu Arg Asn Thr Pro Arg Asn Ser His		
1445	1450	1455
Cys His Leu Ser Asn Ser Pro Arg Ala Ile Glu His Ala Tyr Gln Tyr		
1460	1465	1470
Gly Gly Thr Ala Asn Ser Arg Gln Glu Phe Glu His Leu Lys Gly Asp		
1475	1480	1485
Phe Gly Ala Lys Ser Gln Phe Ser Ile Arg Leu Arg Thr Arg Ser Ser		
1490	1495	1500
His Gly Met Ile Phe Tyr Val Ser Asp Gln Glu Glu Asn Asp Phe Met		
1505	1510	1515
Thr Leu Phe Leu Ala His Gly Arg Leu Val Tyr Met Phe Asn Val Gly		
1525	1530	1535
His Lys Lys Leu Lys Ile Arg Ser Gln Glu Lys Tyr Asn Asp Gly Leu		
1540	1545	1550
Trp His Asp Val Ile Phe Ile Arg Glu Arg Ser Ser Gly Arg Leu Val		
1555	1560	1565
Ile Asp Gly Leu Arg Val Leu Glu Ser Leu Pro Pro Thr Glu Ala		
1570	1575	1580
Thr Trp Lys Ile Lys Gly Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Ala Pro Gly		
1585	1590	1595
Lys Ala Val Lys Asn Val Gln Ile Asn Ser Ile Tyr Ser Phe Ser Gly		
1605	1610	1615
Cys Leu Ser Asn Leu Gln Leu Asn Gly Ala Ser Ile Thr Ser Ala Ser		
1620	1625	1630
Gln Thr Phe Ser Val Thr Pro Cys Phe Glu Gly Pro Met Glu Thr Gly		
1635	1640	1645
Thr Tyr Phe Ser Thr Glu Gly Gly Tyr Val Val Leu Asp Glu Ser Phe		

ES 2 718 208 T3

```

1650      1655      1660
Asn Ile Gly Leu Lys Phe Glu Ile Ala Phe Glu Val Arg Pro Arg Ser
1665      1670      1675      1680
Ser Ser Gly Thr Leu Val His Gly His Ser Val Asn Gly Glu Tyr Leu
      1685      1690      1695
Asn Val His Met Lys Asn Gly Gln Val Ile Val Lys Val Asn Asn Gly
      1700      1705      1710
Ile Arg Asp Phe Ser Thr Ser Val Thr Pro Lys Gln Ser Leu Cys Asp
      1715      1720      1725
Gly Arg Trp His Arg Ile Thr Val Ile Arg Asp Ser Asn Val Val Gln
      1730      1735      1740
Leu Asp Val Asp Ser Glu Val Asn His Val Val Gly Pro Leu Asn Pro
1745      1750      1755      1760
Lys Pro Ile Asp His Arg Glu Pro Val Phe Val Gly Gly Val Pro Glu
      1765      1770      1775
Ser Leu Leu Thr Pro Arg Leu Ala Pro Ser Lys Pro Phe Thr Gly Cys
      1780      1785      1790
Ile Arg His Phe Val Ile Asp Gly His Pro Val Ser Phe Ser Lys Ala
      1795      1800      1805
Ala Leu Val Ser Gly Ala Val Ser Ile Asn Ser Cys Pro Ala Ala
      1810      1815      1820

```

<210> 28

<211> 1816

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 28

```

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

```

ES 2 718 208 T3

			180						185						190				
Ser	Asp	Pro	Asn	Leu	Ile	Phe	Glu	Asp	Cys	Asp	Glu	Val	Thr	Gly	Gln				
		195					200					205							
Cys	Arg	Asn	Cys	Leu	Arg	Asn	Thr	Thr	Gly	Phe	Lys	Cys	Glu	Arg	Cys				
	210					215					220								
Ala	Pro	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Ala	Arg	Ile	Ala	Lys	Asn	Cys	Ala	Val				
225					230					235					240				
Cys	Asn	Cys	Gly	Gly	Gly	Pro	Cys	Asp	Ser	Val	Thr	Gly	Glu	Cys	Leu				
				245					250					255					
Glu	Glu	Gly	Phe	Glu	Pro	Pro	Thr	Gly	Cys	Asp	Lys	Cys	Val	Trp	Asp				
			260					265					270						
Leu	Thr	Asp	Asp	Leu	Arg	Leu	Ala	Ala	Leu	Ser	Ile	Glu	Glu	Gly	Lys				
			275				280					285							
Ser	Gly	Val	Leu	Ser	Val	Ser	Ser	Gly	Ala	Ala	Ala	His	Arg	His	Val				
	290					295					300								
Asn	Glu	Ile	Asn	Ala	Thr	Ile	Tyr	Leu	Leu	Lys	Thr	Lys	Leu	Ser	Glu				
305					310					315					320				
Arg	Glu	Asn	Gln	Tyr	Ala	Leu	Arg	Lys	Ile	Gln	Ile	Asn	Asn	Ala	Glu				
				325				330						335					
Asn	Thr	Met	Lys	Ser	Leu	Leu	Ser	Asp	Val	Glu	Glu	Leu	Val	Glu	Lys				
			340					345					350						
Glu	Asn	Gln	Ala	Ser	Arg	Lys	Gly	Gln	Leu	Val	Gln	Lys	Glu	Ser	Met				
			355				360					365							
Asp	Thr	Ile	Asn	His	Ala	Ser	Gln	Leu	Val	Glu	Gln	Ala	His	Asp	Met				
	370					375					380								
Arg	Asp	Lys	Ile	Gln	Glu	Ile	Asn	Asn	Lys	Met	Leu	Tyr	Tyr	Gly	Glu				
385					390					395					400				
Glu	His	Glu	Leu	Ser	Pro	Lys	Glu	Ile	Ser	Glu	Lys	Leu	Val	Leu	Ala				
				405				410						415					
Gln	Lys	Met	Leu	Glu	Glu	Ile	Arg	Ser	Arg	Gln	Pro	Phe	Phe	Thr	Gln				
			420					425					430						
Arg	Glu	Leu	Val	Asp	Glu	Glu	Ala	Asp	Glu	Ala	Tyr	Glu	Leu	Leu	Ser				
			435				440					445							
Gln	Ala	Glu	Ser	Trp	Gln	Arg	Leu	His	Asn	Glu	Thr	Arg	Thr	Leu	Phe				
	450					455					460								
Pro	Val	Val	Leu	Glu	Gln	Leu	Asp	Asp	Tyr	Asn	Ala	Lys	Leu	Ser	Asp				
465					470					475					480				
Leu	Gln	Glu	Ala	Leu	Asp	Gln	Ala	Leu	Asn	Tyr	Val	Arg	Asp	Ala	Glu				
				485				490						495					
Asp	Met	Asn	Arg	Ala	Thr	Ala	Ala	Arg	Gln	Arg	Asp	His	Glu	Lys	Gln				
			500					505					510						
Gln	Glu	Arg	Val	Arg	Glu	Gln	Met	Glu	Val	Val	Asn	Met	Ser	Leu	Ser				
		515					520												

ES 2 718 208 T3

595					600					605					
Leu	Val	Gln	Lys	Ala	Leu	Asp	Ala	Ser	Asn	Val	Tyr	Glu	Asn	Ile	Val
610					615					620					
Asn	Tyr	Val	Ser	Glu	Ala	Asn	Glu	Thr	Ala	Glu	Phe	Ala	Leu	Asn	Thr
625					630					635					640
Thr	Asp	Arg	Ile	Tyr	Asp	Ala	Val	Ser	Gly	Ile	Asp	Thr	Gln	Ile	Ile
				645					650					655	
Tyr	His	Lys	Asp	Glu	Ser	Glu	Asn	Leu	Leu	Asn	Gln	Ala	Arg	Glu	Leu
			660					665					670		
Gln	Ala	Lys	Ala	Glu	Ser	Ser	Ser	Asp	Glu	Ala	Val	Ala	Asp	Thr	Ser
		675					680					685			
Arg	Arg	Val	Gly	Gly	Ala	Leu	Ala	Arg	Lys	Ser	Ala	Leu	Lys	Thr	Arg
690					695					700					
Leu	Ser	Asp	Ala	Val	Lys	Gln	Leu	Gln	Ala	Ala	Glu	Arg	Gly	Asp	Ala
705					710					715					720
Gln	Gln	Arg	Leu	Gly	Gln	Ser	Arg	Leu	Ile	Thr	Glu	Glu	Ala	Asn	Arg
				725					730					735	
Thr	Thr	Met	Glu	Val	Gln	Gln	Ala	Thr	Ala	Pro	Met	Ala	Asn	Asn	Leu
			740					745					750		
Thr	Asn	Trp	Ser	Gln	Asn	Leu	Gln	His	Phe	Asp	Ser	Ser	Ala	Tyr	Asn
		755					760						765		
Thr	Ala	Val	Asn	Ser	Ala	Arg	Asp	Ala	Val	Arg	Asn	Leu	Thr	Glu	Val
770					775					780					
Val	Pro	Gln	Leu	Leu	Asp	Gln	Leu	Arg	Thr	Val	Glu	Gln	Lys	Arg	Pro
785					790					795					800
Ala	Ser	Asn	Val	Ser	Ala	Ser	Ile	Gln	Arg	Ile	Arg	Glu	Leu	Ile	Ala
				805					810					815	
Gln	Thr	Arg	Ser	Val	Ala	Ser	Lys	Ile	Gln	Val	Ser	Met	Met	Phe	Asp
			820					825					830		
Gly	Gln	Ser	Ala	Val	Glu	Val	His	Ser	Arg	Thr	Ser	Met	Asp	Asp	Leu
		835					840						845		
Lys	Ala	Phe	Thr	Ser	Leu	Ser	Leu	Tyr	Met	Lys	Pro	Pro	Val	Lys	Arg
850					855					860					
Pro	Glu	Leu	Thr	Glu	Thr	Ala	Asp	Gln	Phe	Ile	Leu	Tyr	Leu	Gly	Ser
865					870					875					880
Lys	Asn	Ala	Lys	Lys	Glu	Tyr	Met	Gly	Leu	Ala	Ile	Lys	Asn	Asp	Asn
				885					890					895	
Leu	Val	Tyr	Val	Tyr	Asn	Leu	Gly	Thr	Lys	Asp	Val	Glu	Ile	Pro	Leu
			900					905					910		
Asp	Ser	Lys	Pro	Val	Ser	Ser	Trp	Pro	Ala	Tyr	Phe	Ser	Ile	Val	Lys
		915					920						925		
Ile	Glu	Arg	Val	Gly	Lys	His	Gly	Lys	Val	Phe	Leu	Thr	Val	Pro	Ser
930					935					940					
Leu	Ser	Ser	Thr	Ala	Glu	Glu	Lys	Phe	Ile	Lys	Lys	Gly	Glu	Phe	Ser
945					950					955					960
Gly	Asp	Asp	Ser	Leu	Leu	Asp	Leu	Asp	Pro	Glu	Asp	Thr	Val	Phe	Tyr
				965					970					975	
Val	Gly	Gly	Val	Pro	Ser	Asn	Phe	Lys	Leu	Pro	Thr	Ser	Leu	Asn	Leu
				980				985					990		
Pro	Gly	Phe	Val	Gly	Cys	Leu	Glu	Leu	Ala	Thr	Leu	Asn	Asn	Asp	Val
		995					1000						1005		
Ile	Ser	Leu	Tyr	Asn	Phe	Lys	His	Ile	Tyr	Asn	Met	Asp	Pro	Ser	Thr

ES 2 718 208 T3

1010	1015	1020
Ser Val Pro Cys Ala	Arg Asp Lys Leu Ala	Phe Thr Gln Ser Arg Ala
1025	1030	1035
Ala Ser Tyr Phe Phe	Asp Gly Ser Gly Tyr	Ala Val Val Arg Asp Ile
1045	1050	1055
Thr Arg Arg Gly Lys	Phe Gly Gln Val Thr	Arg Phe Asp Ile Glu Val
1060	1065	1070
Arg Thr Pro Ala Asp	Asn Gly Leu Ile Leu	Leu Met Val Asn Gly Ser
1075	1080	1085
Met Phe Phe Arg Leu	Glu Met Arg Asn Gly	Tyr Leu His Val Phe Tyr
1090	1095	1100
Asp Phe Gly Phe Ser	Gly Gly Pro Val His	Leu Glu Asp Thr Leu Lys
1105	1110	1115
Lys Ala Gln Ile Asn	Asp Ala Lys Tyr His	Glu Ile Ser Ile Ile Tyr
1125	1130	1135
His Asn Asp Lys Lys	Met Ile Leu Val Val	Asp Arg Arg His Val Lys
1140	1145	1150
Ser Met Asp Asn Glu	Lys Met Lys Ile Pro	Phe Thr Asp Ile Tyr Ile
1155	1160	1165
Gly Gly Ala Pro Pro	Glu Ile Leu Gln Ser	Arg Ala Leu Arg Ala His
1170	1175	1180
Leu Pro Leu Asp Ile	Asn Phe Arg Gly Cys	Met Lys Gly Phe Gln Phe
1185	1190	1195
Gln Lys Lys Asp Phe	Asn Leu Leu Glu Gln	Thr Glu Thr Leu Gly Val
1205	1210	1215
Gly Tyr Gly Cys Pro	Glu Asp Ser Leu Ile	Ser Arg Arg Ala Tyr Phe
1220	1225	1230
Asn Gly Gln Ser Phe	Ile Ala Ser Ile Gln	Lys Ile Ser Phe Phe Asp
1235	1240	1245
Gly Phe Glu Gly Gly	Phe Asn Phe Arg Thr	Leu Gln Pro Asn Gly Leu
1250	1255	1260
Leu Phe Tyr Tyr Ala	Ser Gly Ser Asp Val	Phe Ser Ile Ser Leu Asp
1265	1270	1275
Asn Gly Thr Val Ile	Met Asp Val Lys Gly	Ile Lys Val Gln Ser Val
1285	1290	1295
Asp Lys Gln Tyr Asn	Asp Gly Leu Ser His	Phe Val Ile Ser Ser Val
1300	1305	1310
Ser Pro Thr Arg Tyr	Glu Leu Ile Val Asp	Lys Ser Arg Val Gly Ser
1315	1320	1325
Lys Asn Pro Thr Lys	Gly Lys Ile Glu Gln	Thr Gln Ala Ser Glu Lys
1330	1335	1340
Lys Phe Tyr Phe Gly	Gly Ser Pro Ile Ser	Ala Gln Tyr Ala Asn Phe
1345	1350	1355
Thr Gly Cys Ile Ser	Asn Ala Tyr Phe Thr	Arg Val Asp Arg Asp Val
1365	1370	1375
Glu Val Glu Asp Phe	Gln Arg Tyr Thr Glu	Lys Val His Thr Ser Leu
1380	1385	1390
Tyr Glu Cys Pro Ile	Glu Ser Ser Pro Leu	Phe Leu Leu His Lys Lys
1395	1400	1405
Gly Lys Asn Leu Ser	Lys Pro Lys Ala Ser	Gln Asn Lys Lys Gly Gly
1410	1415	1420
Lys Ser Lys Asp Ala	Pro Ser Trp Asp Pro	Val Ala Leu Lys Leu Pro

ES 2 718 208 T3

1425 1430 1435 1440
 Glu Arg Asn Thr Pro Arg Asn Ser His Cys His Leu Ser Asn Ser Pro
 1445 1450 1455
 Arg Ala Ile Glu His Ala Tyr Gln Tyr Gly Gly Thr Ala Asn Ser Arg
 1460 1465 1470
 Gln Glu Phe Glu His Leu Lys Gly Asp Phe Gly Ala Lys Ser Gln Phe
 1475 1480 1485
 Ser Ile Arg Leu Arg Thr Arg Ser Ser His Gly Met Ile Phe Tyr Val
 1490 1495 1500
 Ser Asp Gln Glu Glu Asn Asp Phe Met Thr Leu Phe Leu Ala His Gly
 1505 1510 1515 1520
 Arg Leu Val Tyr Met Phe Asn Val Gly His Lys Lys Leu Lys Ile Arg
 1525 1530 1535
 Ser Gln Glu Lys Tyr Asn Asp Gly Leu Trp His Asp Val Ile Phe Ile
 1540 1545 1550
 Arg Glu Arg Ser Ser Gly Arg Leu Val Ile Asp Gly Leu Arg Val Leu
 1555 1560 1565
 Glu Glu Ser Leu Pro Pro Thr Glu Ala Thr Trp Lys Ile Lys Gly Pro
 1570 1575 1580
 Ile Tyr Leu Gly Gly Val Ala Pro Gly Lys Ala Val Lys Asn Val Gln
 1585 1590 1595 1600
 Ile Asn Ser Ile Tyr Ser Phe Ser Gly Cys Leu Ser Asn Leu Gln Leu
 1605 1610 1615
 Asn Gly Ala Ser Ile Thr Ser Ala Ser Gln Thr Phe Ser Val Thr Pro
 1620 1625 1630
 Cys Phe Glu Gly Pro Met Glu Thr Gly Thr Tyr Phe Ser Thr Glu Gly
 1635 1640 1645
 Gly Tyr Val Val Leu Asp Glu Ser Phe Asn Ile Gly Leu Lys Phe Glu
 1650 1655 1660
 Ile Ala Phe Glu Val Arg Pro Arg Ser Ser Ser Gly Thr Leu Val His
 1665 1670 1675 1680
 Gly His Ser Val Asn Gly Glu Tyr Leu Asn Val His Met Lys Asn Gly
 1685 1690 1695
 Gln Val Ile Val Lys Val Asn Asn Gly Ile Arg Asp Phe Ser Thr Ser
 1700 1705 1710
 Val Thr Pro Lys Gln Ser Leu Cys Asp Gly Arg Trp His Arg Ile Thr
 1715 1720 1725
 Val Ile Arg Asp Ser Asn Val Val Gln Leu Asp Val Asp Ser Glu Val
 1730 1735 1740
 Asn His Val Val Gly Pro Leu Asn Pro Lys Pro Ile Asp His Arg Glu
 1745 1750 1755 1760
 Pro Val Phe Val Gly Gly Val Pro Glu Ser Leu Leu Thr Pro Arg Leu
 1765 1770 1775
 Ala Pro Ser Lys Pro Phe Thr Gly Cys Ile Arg His Phe Val Ile Asp
 1780 1785 1790
 Gly His Pro Val Ser Phe Ser Lys Ala Ala Leu Val Ser Gly Ala Val
 1795 1800 1805
 Ser Ile Asn Ser Cys Pro Ala Ala
 1810 1815

<210> 29

<211> 334

<212> ADN

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Polinucleótido sintético

<220>

<223> Clon 1174.1.3 - Cadena Ligera variable

10 <220>

<221> CDS

ES 2 718 208 T3

<222> (1)...(333)

<400> 29

gac	att	gtg	ctg	aca	cag	tct	cct	gct	tcc	tta	gct	gta	tct	ctg	ggg	48
Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly	
1				5				10						15		

cag	agg	gcc	acc	atc	tca	tgc	agg	gcc	agc	aaa	agt	gtc	agt	aca	tct	96
Gln	Arg	Ala	Thr	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Lys	Ser	Val	Ser	Thr	Ser	
			20					25					30			

ggc	tat	agt	tat	atg	tac	tgg	tac	caa	cag	aaa	cca	gga	cag	cca	ccc	144
Gly	Tyr	Ser	Tyr	Met	Tyr	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	
		35					40					45				

aaa	ctc	ctc	atc	tat	ctt	gca	tcc	aac	cta	gaa	tct	ggg	gtc	cct	gcc	192
Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Ser	Asn	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ala	
	50					55					60					

agg	ttc	agt	ggc	agt	ggg	tct	ggg	aca	gac	ttc	acc	ctc	aac	atc	cat	240
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Asn	Ile	His	
65					70				75					80		

cct	gtg	gag	gag	gag	gat	gct	gca	acc	tat	tac	tgt	caa	cac	agt	agg	288
Pro	Val	Glu	Glu	Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	His	Ser	Arg	
				85				90						95		

gag	ctt	cca	ttc	acg	ttc	ggc	tcg	ggg	aca	aag	ttg	gaa	ata	aaa		333
Glu	Leu	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys		
			100					105					110			

c																334
---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-----

<210> 30

<211> 111

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 30

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

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>
 <223> Clon 1174.1.3 - CDR-L1

<400> 31
 Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met Tyr
 1 5 10 15

5 <210> 32
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 10 <223> Péptido sintético

<220>
 <223> Clon 1174.1.3 - CDR-L2

<400> 32
 Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

15 <210> 33
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 20 <223> Péptido sintético

<220>
 <223> Clon 1174.1.3 - CDR-L3

<400> 33
 Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Phe Thr
 1 5

25 <210> 34
 <211> 363
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 30 <223> Polinucleótido sintético

<220>
 <223> Clon 1174.1.3 - Cadena Pesada variable

<220>
 <221> CDS
 35 <222> (1)...(363)

<400> 34

ES 2 718 208 T3

cag att cag ttg gtg cag tct gga cct gag ctg aag aag cct gga gag	48
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu	
1 5 10 15	
aca gtc aag atc tcc tgc aag gct tct ggg tat acc ttc aca aac tat	96
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr	
20 25 30	
gga atg aac tgg gtg aag cag gct cca gga aag ggt tta aag tgg atg	144
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met	
35 40 45	
ggc tgg ata aac acc tac act gga gag cca aca tat gct gat gac ttc	192
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe	
50 55 60	
aag gga cgg ttt gcc ttg tct ttg gaa acc tct gcc agc act gcc tat	240
Lys Gly Arg Phe Ala Leu Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
ttg cag atc aac aac ctc aaa aat gag gac atg gct aca tat ttc tgt	288
Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys	
85 90 95	
gca aga tat agg tat aat aaa tac gag agg gct atg gac tac tgg ggt	336
Ala Arg Tyr Arg Tyr Asn Lys Tyr Glu Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly	
100 105 110	
caa gga acc tca gtc acc gtc tcc tca	363
Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser	
115 120	

5 <210> 35
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Constructo sintético

10 <400> 35
 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Ala Leu Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Arg Tyr Asn Lys Tyr Glu Arg Ala Met Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

15 <210> 36
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

$\langle 220 \rangle$

<223> Clon 1174.1.3 - CDR-H1

5 <400> 36
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn
 1 5 10

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

10 <213> Secuencia Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Péptido sintético

$\langle 220 \rangle$

<223> Clon 1174.1.3 - CDR-H2

15 <400> 37
 Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 38

<211> 12

<212> PRT

20 <213> Secuencia Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Péptido sintético

$\langle 220 \rangle$

<223> Clon 1174.1.3 - CDR-H3

25 <400> 38
Tyr Arg Tyr Asn Lys Tyr Glu Arg Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 39

<211> 338

<212> ADN

30 <213> Secuencia Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Polinucleótido sintético

 $\langle 220 \rangle$

<223> Clon 1414.1.2 - Cadena Ligera variable

35 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(336)

<400> 39

ES 2 718 208 T3

gac att gtg atg tca cag tct cca tcc tcc ctg gct gtg tca gca gga	48
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly	
1 5 10 15	
gag aag gtc act atg agc tgc aaa tcc agt cag agt ctg ctc aac agt	96
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser	
20 25 30	
agc acc cga aag aac ttc ttg gct tgg tac cag cag aaa cca ggg cag	144
Ser Thr Arg Lys Asn Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln	
35 40 45	
tct cct aaa ctg ctg atc tac tgg gca tcc act agg gaa tct ggg gtc	192
Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val	
50 55 60	
cct gat cgc ttc aca ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc	240
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr	
65 70 75 80	
atc agc agt gtg cag gct gaa gac ctg gca gtt tat tac tgc aag caa	288
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln	
85 90 95	
tct tat aat cgg tac acg ttc gga ggg ggg acc aag ctg gaa ata aaa	336
Ser Tyr Asn Arg Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys	
100 105 110	
cg	338

<210> 40

<211> 112

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 40

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

10

<210> 41

<211> 17

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>

<223> Clon 1414.1.2 - CDR-L1

<400> 41
 Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Ser Thr Arg Lys Asn Phe Leu
 1 5 10 15
 Ala

5 <210> 42
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

10 <220>
 <223> Clon 1414.1.2 - CDR-L2

<400> 42
 Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5

15 <210> 43
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

20 <220>
 <223> Clon 1414.1.2 - CDR-L3

<400> 43
 Lys Gln Ser Tyr Asn Arg Tyr Thr
 1 5

25 <210> 44
 <211> 351
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Polinucleótido sintético

30 <220>
 <223> Clon 1414.1.2 - Cadena Pesada variable

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(351)

35 <400> 44

ES 2 718 208 T3

gag atc cag ctg cag cag act gga cct gag ctg gtg aag cct ggg gct 48
 Glu Ile Gln Leu Gln Gln Thr Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

tca gtg aag ata tcc tgc aag gct tct ggt tat tca ttc act gac tac 96
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

atc atg ctc tgg gtg aag cag agc cat gga aag agc ctt gag tgg att 144
 Ile Met Leu Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

gga aat att aat cct tac tct ggt agt agt ggc tac aat ctg aag ttc 192
 Gly Asn Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Ser Ser Gly Tyr Asn Leu Lys Phe
 50 55 60

aag ggc aag gcc aca ttg act gta gac aaa tct tcc agc aca gcc tac 240
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

atg cag ctc aac agt ctg aca tct gag gac tct gca gtc tat tac tgt 288
 Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

gca aga ggg aag gac ttt gct atg gac tac tgg ggt caa gga acc tca 336
 Ala Arg Gly Lys Asp Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105 110

gtc acc gtc tcc tca 351
 Val Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 45
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Constructo sintético

10 <400> 45
 Glu Ile Gln Leu Gln Gln Thr Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ile Met Leu Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asn Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Ser Ser Gly Tyr Asn Leu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Asn Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Asp Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 46
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
 <223> Péptido sintético

 <220>
 <223> Clon 1414.1.2 - CDR-H1

 5 <400> 46
 Gly Tyr Ser Phe Thr Asp Tyr Ile Met Leu

 1 5 10

 <210> 47
 10 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 15 <220>
 <223> Clon 1414.1.2 - CDR-H2

 <400> 47
 Asn Ile Asn Pro Tyr Ser Gly Ser Ser Gly Tyr Asn Leu Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly

 <210> 48
 20 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 25 <220>
 <223> Clon 1414.1.2 - CDR-H3

 <400> 48
 Gly Lys Asp Phe Ala Met Asp
 1 5

 <210> 49
 30 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Polinucleótido sintético

 35 <220>
 <223> Clon 1415.1.1 - Cadena Ligera variable

 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(321)

 40 <400> 49

ES 2 718 208 T3

gac att gtg atg act cag tct cca gcc acc ctg tct gtg act cca gga 48
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

gat aga gtc tct ctt tca tgc agg gcc agc cag agt att agc gac tac 96
 Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
 20 25 30

tta cac tgg tat caa caa aaa tca cat gag tct cca agg ctt ctc atc 144
 Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

aaa tat gct tcc caa tcc atc tct ggg atc ccc tcc agg ttc agt ggc 192
 Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

agt gga tca ggg tca gat ttc act ctc agt atc aac agt gtg gaa cct 240
 Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
 65 70 75 80

gaa gat gtt gga gtg tat tac tgt caa aat ggt cac aac ttt cct cgg 288
 Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Asn Phe Pro Arg
 85 90 95

acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa c 322
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 50

<211> 107

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 50

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

Asp Arg Val Ser Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr
 20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser His Glu Ser Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn Gly His Asn Phe Pro Arg
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>

<223> Clon 1415.1.1 - CDR-L1

20 <400> 51

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Tyr Leu His
 1 5 10
 <210> 52
 <211> 7
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <220>
 <223> Clon 1415.1.1 - CDR-L2
 10 <400> 52
 Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser
 1 5
 <210> 53
 <211> 9
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <220>
 <223> Clon 1415.1.1 - CDR-L3
 20 <400> 53
 Gln Asn Gly His Asn Phe Pro Arg Thr
 1 5
 <210> 54
 <211> 366
 <212> ADN
 25 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Polinucleótido sintético
 <220>
 <223> Clon 1415.1.1 - Cadena Pesada variable
 30 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(366)
 <400> 54

ES 2 718 208 T3

```

cag gtc caa ctg cag cag cct ggg gct gag ctt gtg cag cct ggg gct 48
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Gln Pro Gly Ala
1 5 10 15

cca gtg aag ctg tcc tgc aag gct tct ggc tac att ttc acc agc tac 96
Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

tgg atg aac tgg gtg aag cag agg cct gga cga ggc ctc gag tgg att 144
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

gga agg att gat cct tcc gat agt aaa att cac tac aat caa aag ttc 192
Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Lys Ile His Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

aaa gac aag gcc aca ctg act gta gac aga tcc tcc agc aca gcc tac 240
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

atc caa ctc ggc agc ctg aca tct gag gac tct gcg gtc tat tat tgt 288
Ile Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

gca aaa gag ggg ggt tta cga cgg ggg gac tat gct atg gac tac tgg 336
Ala Lys Glu Gly Gly Leu Arg Arg Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

ggt caa gga acc tca gtc acc gtc tcc tca 366
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

```

115 120

5 <210> 55
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Constructo sintético

10 <400> 55
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Gln Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Pro Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Lys Ile His Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Ile Gln Leu Gly Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Glu Gly Gly Leu Arg Arg Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15

<220>
<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 1415.1.1 - CDR-H1

5 <400> 56
Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr Trp Met Asn
1 5 10

<210> 57
<211> 17
<212> PRT
10 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 1415.1.1 - CDR-H2

15 <400> 57
Arg Ile Asp Pro Ser Asp Ser Lys Ile His Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asp

<210> 58
<211> 13
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 1415.1.1 - CDR-H3

25 <400> 58
Glu Gly Gly Leu Arg Arg Gly Asp Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 59
<211> 337
<212> ADN
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Polinucleótido sintético

<220>
<223> Clon 1749.1.3 - Cadena Ligera variable

35 <220>
<221> CDS
<222> (1)...(336)

<400> 59
gac att gtg atg tca cag tct cca tcc tcc ctg gct gtg tca gca gga 48
Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
1 5 10 15

40

ES 2 718 208 T3

gag aag gtc act atg aac tgc aaa tcc agt cgg agt ctg ctc aac agt 96
 Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Arg Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30

aga atc cga aag aac tac ttg gct tgg tac cag cag aaa cca ggg cag 144
 Arg Ile Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

tct cct aaa ctg ctg atc tac tgg gca tcc act agg gaa tct ggg gtc 192
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

cct gat cgc ttc aca ggc agt gga tct ggg aca gat ttc act ctc acc 240
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

atc agc agt gtg cag gct gaa gac ctg gca gtt tat tac tgc aag caa 288
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
 85 90 95

tct tat aat ctg ctc acg ttc ggt gct ggg acc aag ctg gag ctg aaa 336
 Ser Tyr Asn Leu Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

c 337

<210> 60
 <211> 112
 <212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Constructo sintético

<400> 60
 Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Arg Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Arg Ile Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60
 Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
 85 90 95
 Ser Tyr Asn Leu Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

10 <210> 61
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Péptido sintético

<220>
 <223> Clon 1749.1.3 - CDR-L1

<400> 61
 Lys Ser Ser Arg Ser Leu Leu Asn Ser Arg Ile Arg Lys Asn Tyr Leu
 1 5 10 15
 Ala

	<210> 62
	<211> 7
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
5	<220>
	<223> Péptido sintético
	<220>
	<223> Clon 1749.1.3 - CDR-L2
	<400> 62
	Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
10	1 5
	<210> 63
	<211> 8
	<212> PRT
	<213> Secuencia Artificial
15	<220>
	<223> Péptido sintético
	<220>
	<223> Clon 1749.1.3 - CDR-L3
	<400> 63
	Lys Gln Ser Tyr Asn Leu Leu Thr
20	1 5
	<210> 64
	<211> 360
	<212> ADN
	<213> Secuencia Artificial
25	<220>
	<223> Polinucleótido sintético
	<220>
	<223> Clon 1749.1.3 - Cadena Pesada variable
	<220>
30	<221> CDS
	<222> (1)...(360)
	<400> 64

ES 2 718 208 T3

gac	gtg	aag	ctg	gtg	gag	tct	ggg	gga	gac	tta	gtg	aag	cct	gga	ggg	48
Asp	Val	Lys	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Asp	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Gly	
1				5					10					15		
tcc	ctg	aaa	ctc	tcc	tgt	gca	gcc	tct	gga	ttc	act	ttc	agt	agc	tat	96
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	
			20					25					30			
atc	atg	tct	tgg	gtt	cgt	cag	act	ccg	gag	aag	agg	ctg	gag	tgg	gtc	144
Ile	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Thr	Pro	Glu	Lys	Arg	Leu	Glu	Trp	Val	
			35				40					45				
gca	acc	att	agt	agt	ggg	ggg	agt	tcc	acc	tac	tat	cca	gac	agt	gtg	192
Ala	Thr	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	
	50					55					60					
aag	ggc	cga	ttc	acc	atc	tcc	aga	gac	aat	gcc	aag	aac	acc	ctg	tac	240
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
65					70				75					80		
ctg	caa	atg	agc	agt	ctg	aag	tct	gag	gac	aca	gcc	atg	tat	tac	tgt	288
Leu	Gln	Met	Ser	Ser	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	
				85				90					95			
aca	aga	gat	gat	gat	tac	gac	gta	aag	gta	ttt	gct	tac	tgg	ggc	caa	336
Thr	Arg	Asp	Asp	Asp	Tyr	Asp	Val	Lys	Val	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln	
			100					105					110			
ggg	act	ctg	gtc	act	gtc	tct	gca									360
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala									
		115				120										

<210> 65

<211> 120

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 65

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

10 <210> 66

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 1749.1.3 - CDR-H1

<400> 66
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ile Met Ser
5 1 5 10

<210> 67
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 1749.1.3 - CDR-H2

<400> 67
Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
15 Gly

<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 1749.1.3 - CDR-H3

<400> 68
Asp Asp Asp Tyr Asp Val Lys Val Phe Ala Tyr
25 1 5 10

<210> 69
<211> 319
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Polinucleótido sintético

<220>
<223> Clon 2120.4.19 - Cadena Ligera variable

35 <220>
<221> CDS
<222> (1)...(318)

<400> 69
gat atc cgg atg act cag tct cct tca ctc ctg tct gca tct gtg ggg 48
Asp Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

gac aga gtc act ctc aac tgc aaa gca agt cag aat att tat aac agc 96
Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Asn Ser
20 25 30

tta gcc tgg tat cag caa aag ctt gga gaa ggt ccc aaa gtc ctg att 144

ES 2 718 208 T3

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Glu Gly Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

ttt aat gca aac agt ttg caa acg ggc atc cca tca agg ttc agt ggc 192
Phe Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

agt gga tct ggt aca gat ttc aca ctc acc atc agc agc ctg cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

gaa gat ttt gcc aca tat ttc tgc cag cag ttt tat agc ggg tac acg 288
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95

ttt gga gct ggg acc aag ctg gaa ctg aaa c 319
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 70

<211> 106

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 70

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

Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Asn Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Glu Gly Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Phe Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

10 <210> 71

<211> 106

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<220>

<223> Clon 2120.4.19 - Cadena Ligera variable

<400> 71

ES 2 718 208 T3

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

<210> 72

<211> 106

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>

<223> Clon 2120.4.19 - Cadena Ligera variable

10 <400> 72

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

<210> 73

<211> 11

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>

<223> Clon 2120.4.19 - CDR-L1

20 <400> 73

Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Asn Ser Leu Ala
 1 5 10

<210> 74

<211> 7

<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>

<223> Clon 2120.4.19 - CDR-L2

<400> 74
 Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr
 1 5

5 <210> 75
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

10 <220>
 <223> Clon 2120.4.19 - CDR-L3

<400> 75
 Gln Gln Phe Tyr Ser Gly Tyr Thr
 1 5

15 <210> 76
 <211> 354
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Polinucleótido sintético

20 <220>
 <223> Clon 2120.4.19 - Cadena Pesada variable

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)...(354)

25 <400> 76

ES 2 718 208 T3

cag	gtg	cag	ctg	aag	gag	tca	gga	cct	ggt	ctg	gtg	cag	ccc	tca	cag	48
Gln	Val	Gln	Leu	Lys	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Ser	Gln	
1				5					10					15		
acc	ctg	tct	ctc	acc	tgc	act	gtc	tct	gga	ttc	tca	tta	acc	agc	aat	96
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Phe	Ser	Leu	Thr	Ser	Asn	
			20					25					30			
ggt	gta	agc	tgg	gtt	cgc	cag	cct	cca	gga	aag	ggt	ctg	gag	tgg	att	144
Gly	Val	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	
		35					40					45				
gca	gca	ata	tca	tct	ggt	gga	acc	aca	tat	tat	aat	tca	gcg	ttc	aaa	192
Ala	Ala	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Ala	Phe	Lys	
		50				55					60					
tcc	cga	ctg	agc	atc	agc	agg	aac	acc	tcc	aag	agc	caa	ggt	ctc	tta	240
Ser	Arg	Leu	Ser	Ile	Ser	Arg	Asn	Thr	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Leu	Leu	
		65				70				75				80		
aaa	atg	aac	agt	ctg	caa	act	gaa	gac	aca	gcc	atg	tac	ttc	tgt	gcc	288
Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Phe	Cys	Ala	
				85				90						95		
aga	cgg	tat	ggg	tac	ggg	tgg	tac	ttt	gac	ttc	tgg	ggc	cca	gga	acc	336
Arg	Arg	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Trp	Tyr	Phe	Asp	Phe	Trp	Gly	Pro	Gly	Thr	
			100					105					110			
atg	gtc	aca	gtc	tcc	tca											354
Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
			115													

<210> 77
 <211> 118
 <212> PRT
 5 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Constructo sintético

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

10 <210> 78
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 2120.4.19 - CDR-H1

<400> 78
Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn Gly Val Ser
5 1 5 10

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 2120.4.19 - CDR-H2

<400> 79
Ala Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys Ser
15 1 5 10 15

<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 2120.4.19 - CDR-H3

<400> 80
Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe
25 1 5 10

<210> 81
<211> 318
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<223> Polinucleótido sintético

<220>
<223> Clon 2107.4.10 - Cadena Ligera variable

<220>
35 <221> CDS
<222> (1)...(318)

<400> 81

ES 2 718 208 T3

```

gac atc cgg gtg act cag tct cct tca ctc ctg tct gca tct gtg gga 48
Asp Ile Arg Val Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

gac aga gtc act ctc aac tgc aaa gga agt cag aat att tat aag agc 96
Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
20 25 30

tta gcc tgg ttt cgg cta aag cgt gga gaa gct ccc aag ctc ctg att 144
Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

tat gat gca aac agt ttg caa acg ggc atc cca tca agg ttc agt ggc 192
Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

agt gga tct ggt aca gat ttc aca ctc acc atc acc agc cta cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

gaa gat gtt gcc aca tat ttc tgc cag cag tat tat agc ggt tac acg 288
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95

ttt gga gct ggg acc aag ctg gaa ctg aaa 318
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

```

5 <210> 82
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Constructo sintético

10 <400> 82
 Asp Ile Arg Val Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

15 <210> 83
 <211> 318
 <212> ADN
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Polinucleótido sintético

<220>
 <223> Clon 2107.4.10 - Cadena Ligera variable

ES 2 718 208 T3

<220>

<221> CDS

<222> (1)...(318)

<400> 83

gac atc cag gtg act cag tct cct tca ctc ctg tct gca tct gtg gga 48
Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

gac aga gtc act ctc aac tgc aaa gga agt cag aat att tat aag agc 96
Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
20 25 30

tta gcc tgg ttt cgg cta aag cgt gga gaa gct ccc aag ctc ctg att 144
Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

tat gat gca aac agt ttg caa acg ggc atc cca tca agg ttc agt ggc 192
Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

agt gga tct ggt aca gat ttc aca ctc acc atc acc agc cta cag cct 240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

gaa gat gtt gcc aca tat ttc tgc cag cag tat tat agc ggt tac acg 288
Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
85 90 95

ttt gga gct ggg acc aag ctg gaa ctg aaa 318
Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

5

<210> 84

<211> 106

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

10

<220>

<223> Constructo sintético

<400> 84

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

Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

15

<210> 85

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20

<220>

<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 2107.4.10 - CDR-L1

<400> 85
Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser Leu Ala
5 1 5 10

<210> 86
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
 <223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 2107.4.10 - CDR-L2

<400> 86
Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr
15 1 5

<210> 87
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
 <223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 2107.4.10 - CDR-L3

<400> 87
Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
25 1 5

<210> 88
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <223> Polinucleótido sintético

<220>
<223> Clon 2107.4.10 - Cadena Pesada variable

<220>
35 <221> CDS
 <222> (1)...(348)

<400> 88

ES 2 718 208 T3

cag gtg cag ctg aag gag tca gga cct ggt ctg gtg cag tcc tca cag 48
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Ser Ser Gln
 1 5 10 15

acc ctg tct ctc acc tgc act gtc tct gga ttc tca tta acc agt aat 96
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30

ggt gta agc tgg gtt cgc cag cct cca gga aag ggt ctg gag tgg att 144
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

gca gca ata tca agt ggt gga agc aca tat tat aat tca gcg ttc aaa 192
 Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 55 60

tcc cga ctg agc atc agc agg aac acc tcc aag agc caa gtt ctc tta 240
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Leu Leu
 65 70 75 80

aaa atg aac agt ctg caa act gaa gac aca ggc atg tac ttc tgt gcc 288
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Gly Met Tyr Phe Cys Ala
 85 90 95

aga cat aga ccg ttc tac ttt gat tac tgg ggc caa gga gtc atg gtc 336
 Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val
 100 105 110

aca gtc tcc tca 348
 Thr Val Ser Ser
 115

5 <210> 89
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Constructo sintético

10 <400> 89
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Ser Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Leu Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Gly Met Tyr Phe Cys Ala
 85 90 95
 Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 90
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 2107.4.10 - CDR-H1

<400> 90
Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn Gly Val Ser
5 1 5 10

<210> 91
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 2107.4.10 - CDR-H2

<400> 91
Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys Ser
15 1 5 10 15

<210> 92
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<223> Péptido sintético

<220>
<223> Clon 2107.4.10 - CDR-H3

<400> 92
25 His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 93
<211> 120
<212> PRT
30 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Péptido sintético

<400> 93
Asp Val Lys Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ile Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

35 Thr Arg Asp Asp Asp Tyr Asp Val Lys Val Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

<210> 94
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 94
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ile Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Asp Asp Asp Tyr Asp Val Lys Val Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10 <210> 95
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

15 <400> 95
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ile Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Asp Asp Asp Tyr Asp Val Lys Val Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

20 <210> 96
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

25 <400> 96

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

<210> 97

<211> 112

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 97

Asp Ile Val Met Ser Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ala Val Ser Ala Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Asn Cys Lys Ser Ser Arg Ser Leu Leu Asn Ser
 20 25 30
 Arg Ile Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45
 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

10

Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80
 Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
 85 90 95
 Ser Tyr Asn Leu Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105 110

<210> 98

<211> 112

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 98

ES 2 718 208 T3

```

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

```

<210> 99

<211> 112

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 99

```

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

```

<210> 100

<211> 113

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 100

```

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

```

<210> 101
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 101
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Ser Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Pro Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Leu Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Gly Met Tyr Phe Cys Ala
 85 90 95
 Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

10

<210> 102
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 102
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 70 75 80
 Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

20

<210> 103
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

25 <400> 103

ES 2 718 208 T3

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

5 <210> 104
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético

10 <400> 104
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 70 75 80
 Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

15 <210> 105
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 105
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Ser
 20 25 30
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

20

ES 2 718 208 T3

Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
 65 70 75 80
 Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg His Arg Pro Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 106

<211> 116

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 106

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

10 <210> 107

<211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<400> 107

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

<210> 108
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 108
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala
 20 25 30
 Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Ile Gly Glu Ser Ala Ser Asp Arg Tyr Cys Ser Gly Gly
 100 105 110
 Ser Cys Phe Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 115 120 125
 Val Ser Ser
 130

10 <210> 109
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

15 <400> 109
 Asp Ile Gln Val Thr Gln Ser Pro Ser Leu Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Leu Asn Cys Lys Gly Ser Gln Asn Ile Tyr Lys Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Phe Arg Leu Lys Arg Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
 100 105

20 <210> 110
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 110

ES 2 718 208 T3

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

<210> 111

<211> 106

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 111

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

<210> 112

<211> 106

<212> PRT

15 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 112

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

<210> 113
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 113
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Pro
 85 90 95
 Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10 <210> 114
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 114
 Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30
 Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
 50 55 60
 Ser Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Leu Leu
 65 70 75 80
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Ala
 85 90 95
 Arg Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Pro Gly Thr
 100 105 110
 Met Val Thr Val Ser Ser
 115

20 <210> 115
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

25 <400> 115
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn
 20 25 30

ES 2 718 208 T3

Gly Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Ala Ala Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Phe Lys
50 55 60
Ser Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu
65 70 75 80
Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 116

<211> 118

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 116

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

10 <210> 117

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<400> 117

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

ES 2 718 208 T3

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

<210> 118

<211> 118

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 118

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

10 <210> 119

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<400> 119

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

<210> 120

<211> 106

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 120

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

10 <210> 121

<211> 106

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<400> 121

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

<210> 122
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 122
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Asn Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
 35 40 45
 Phe Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Gly Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

10 <210> 123
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

15 <400> 123
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Asn Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
 35 40 45
 Phe Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Gly Tyr Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

20 <210> 124
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

25 <400> 124

ES 2 718 208 T3

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

<210> 125

<211> 14

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 125

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 1 5 10

10 <210> 126

<211> 32

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

15 <223> Péptido sintético

<400> 126

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
 1 5 10 15
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg
 20 25 30

<210> 127

<211> 11

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético

<400> 127

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

25 <210> 128

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

30 <223> Péptido sintético

<400> 128

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Val Ala
 1 5 10

<210> 129

35 <211> 15

<212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 5 <400> 129
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

 <210> 130
 <211> 32
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 <400> 130
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

 15 <210> 131
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 20 <223> Péptido sintético

 <400> 131
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

 <210> 132
 <211> 32
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 <400> 132
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

 30 <210> 133
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 35 <223> Péptido sintético

 <400> 133
 Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser
 20 25

 <210> 134
 40 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

<400> 134
 Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Ile Ala
 1 5 10

5 <210> 135
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

10 <400> 135
 Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr
 1 5 10 15
 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 136
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 136
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

20 <210> 137
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 137
 Arg Leu Ser Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr
 1 5 10 15
 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

30 <210> 138
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

35 <400> 138
 Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asn Thr Ser Lys Ser Gln Val Val Leu Thr
 1 5 10 15
 Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg
 20 25 30

<210> 139
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 139
 Gly Phe Ser Leu Thr Ser Ser Gly Val Ser
 1 5 10
 <210> 140
 <211> 10
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 140
 Gly Phe Ser Leu Thr Ser Gln Gly Val Ser
 10 1 5 10
 <210> 141
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 141
 Gly Phe Ser Leu Thr Ser Asn Ala Val Ser
 1 5 10
 <210> 142
 20 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 25 <400> 142
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20
 <210> 143
 <211> 15
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 143
 Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15
 35 <210> 144
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 40 <223> Péptido sintético
 <400> 144
 Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 145
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 145
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10
 10 <210> 146
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 15 <400> 146
 Trp Phe Gln Leu Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15
 <210> 147
 <211> 23
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 147
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Asn Cys
 20
 25 <210> 148
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 30 <223> Péptido sintético
 <400> 148
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile Phe
 1 5 10 15
 <210> 149
 <211> 32
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 149
 Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30
 40 <210> 150
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

 <400> 150
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 1 5 10

 5 <210> 151
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 10 <223> Péptido sintético

 <400> 151
 Ser Asn Gly Val Ser
 1 5

 <210> 152
 <211> 5
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 <400> 152
 Ser Ser Gly Val Ser
 20 1 5

 <210> 153
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 25 <220>
 <223> Péptido sintético

 <400> 153
 Arg Tyr Gly Tyr Gly Trp Tyr Phe Asp Phe
 1 5 10

 30 <210> 154
 <211> 32
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 35 <400> 154
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
 20 25 30

 <210> 155
 <211> 25
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético

 <400> 155

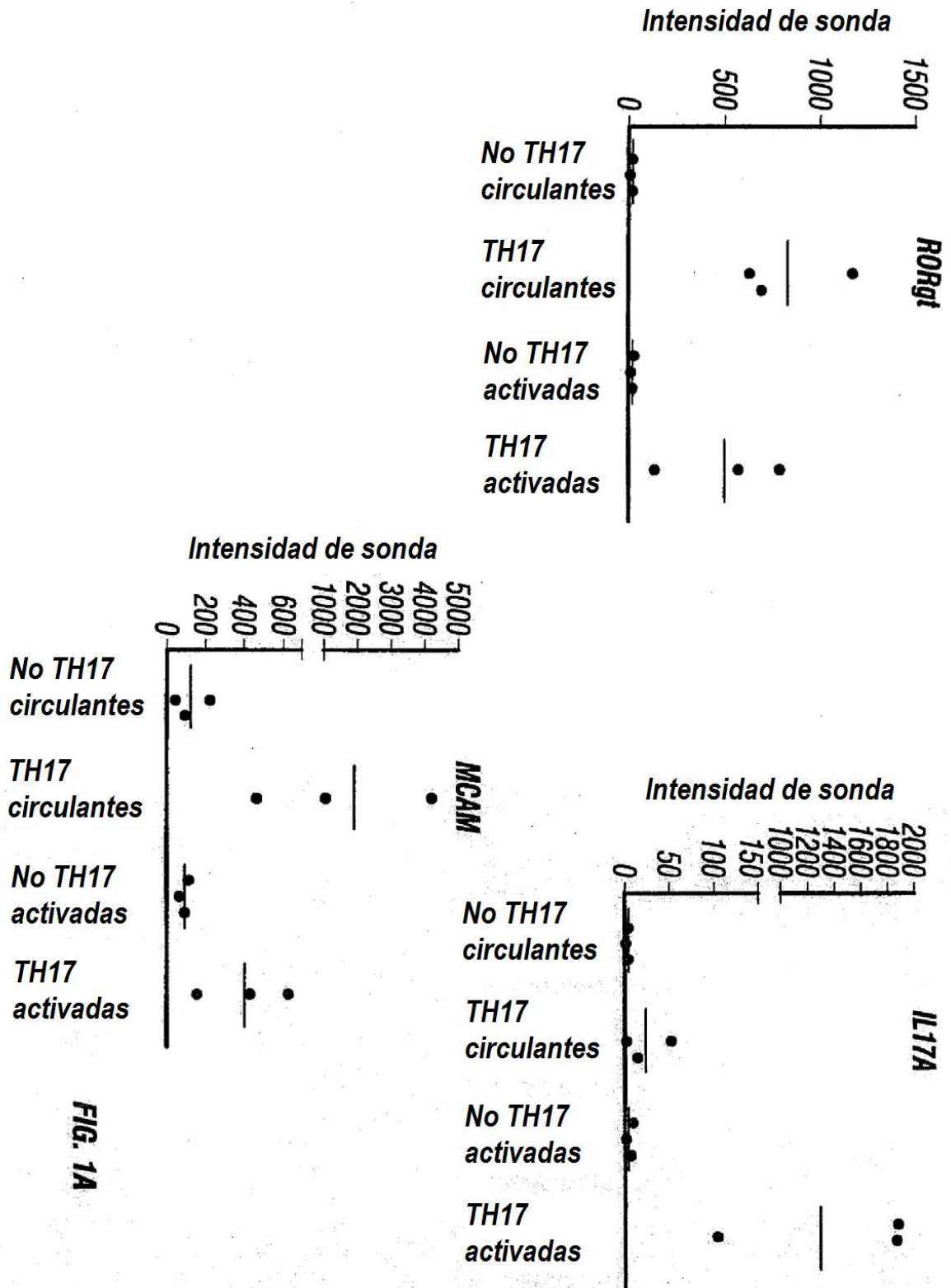
ES 2 718 208 T3

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5				10						15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser							
			20					25							

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprendiendo dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tres regiones hipervariables de cadena ligera (HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3) y tres regiones hipervariables de cadena pesada (HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3), en donde HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73, HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74, HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75, HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78 o 141, HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 y HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.
2. El anticuerpo anti-MCAM aislado o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 1, en donde HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73, HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74, HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75, HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78, HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 y HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.
3. El anticuerpo aislado de la reivindicación 1, que es un anticuerpo quimérico o humanizado.
4. El anticuerpo aislado de la reivindicación 1, que es un anticuerpo IgG1.
5. El anticuerpo aislado de la reivindicación 1, que se produce en bacterias o células CHO.
6. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 1, comprendiendo dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada, en donde la región variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquier de las SEQ ID NO:70, 71 o 72 y la región variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:77.
7. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 1, comprendiendo dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo tres regiones hipervariables de cadena ligera (HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3) y tres regiones hipervariables de cadena pesada (HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3), en donde HVR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73, HVR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74, HVR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75, HVR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:141, HVR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 y HVR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.
8. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a anticuerpo del mismo, de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende adicionalmente una región marco 2 de cadena pesada (FR2) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:134.
9. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a anticuerpo del mismo, de la reivindicación 8, en donde el anticuerpo comprende adicionalmente una región marco 3 de cadena pesada (FR3) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:135.
10. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a anticuerpo del mismo, de la reivindicación 9, en donde el anticuerpo comprende adicionalmente una región marco 1 de cadena ligera (FR1) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147.
11. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a anticuerpo del mismo, de la reivindicación 10, en donde el anticuerpo comprende adicionalmente una región marco 2 de cadena ligera (FR2) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:148.
12. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a anticuerpo del mismo, de la reivindicación 11, en donde el anticuerpo comprende adicionalmente una región marco 3 de cadena ligera (FR3) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149.
13. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a anticuerpo del mismo, de la reivindicación 7, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene al menos un 95% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:119 y una región variable de cadena ligera que tiene al menos un 95% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:123.
14. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a anticuerpo del mismo, de la reivindicación 7, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene al menos un 99% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:119 y una región variable de cadena ligera que tiene al menos un 99% de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:123.
15. El anticuerpo anti-MCAM aislado, o fragmento de unión a anticuerpo del mismo, de la reivindicación 7, en el que el anticuerpo comprende una cadena pesada de la SEQ ID NO:119 y una región variable de cadena ligera de la SEQ ID NO:123.

16. El anticuerpo aislado de la reivindicación 7, que es un anticuerpo quimérico o humanizado.
17. El anticuerpo aislado de una cualquiera de las reivindicaciones 7-15, que es un anticuerpo IgG1.
18. El anticuerpo aislado de la reivindicación 17, que se produce en bacterias o células CHO.
- 5 19. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, según cualquier reivindicación precedente.
20. Un artículo de fabricación que comprende la composición farmacéutica de la reivindicación 19.
21. Un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, según cualquier reivindicación precedente para su uso en el tratamiento de esclerosis múltiple.
- 10 22. Un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, según cualquier reivindicación precedente para uso en el tratamiento de psoriasis.
23. Un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, según cualquier reivindicación precedente para uso en el tratamiento de un tumor sólido, tal como melanoma.
24. Un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, según cualquier reivindicación precedente para su uso en el tratamiento de sarcoidosis.
- 15 25. Un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, según cualquier reivindicación precedente para uso en el tratamiento de artritis psoriásica.
26. Un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, según cualquier reivindicación precedente para uso en el tratamiento de enfermedad de Parkinson.
- 20 27. Un anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, según cualquier reivindicación precedente para su uso en el tratamiento de dermatitis de contacto alérgica.
28. El anticuerpo anti-MCAM, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 21-27, en donde el tratamiento es el tratamiento de un ser humano.



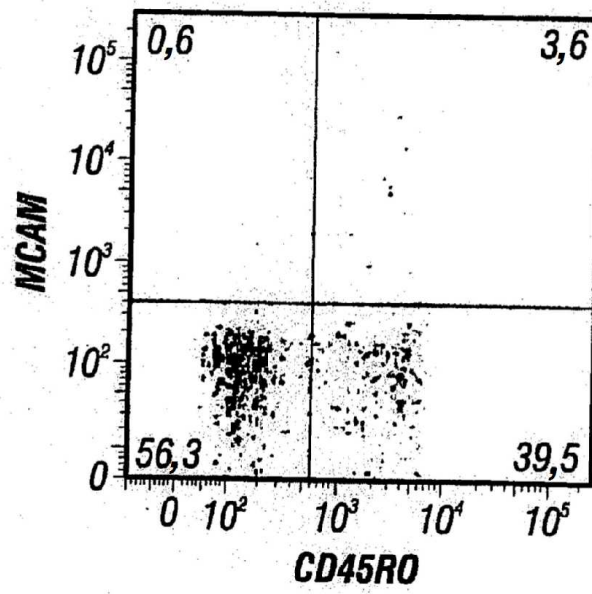


FIG. 1B

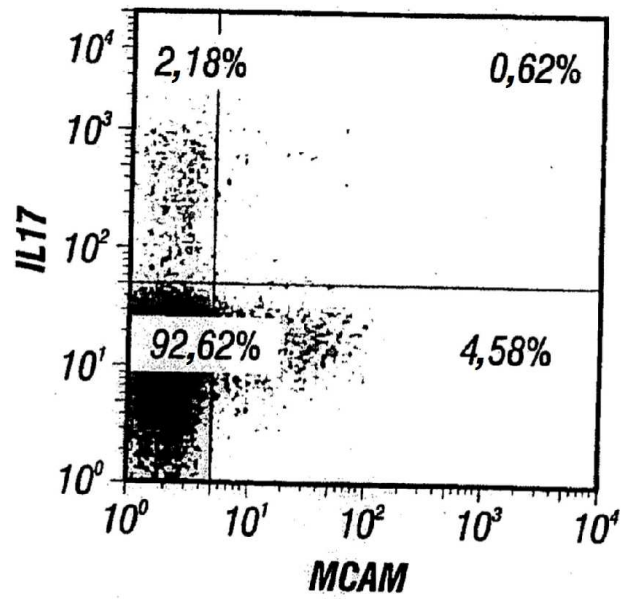


FIG. 1C

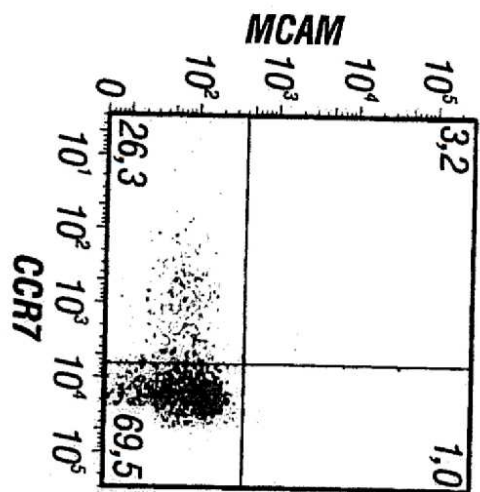


FIG. 2A

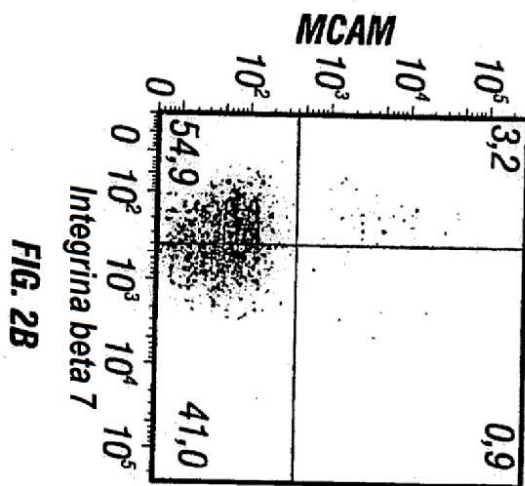
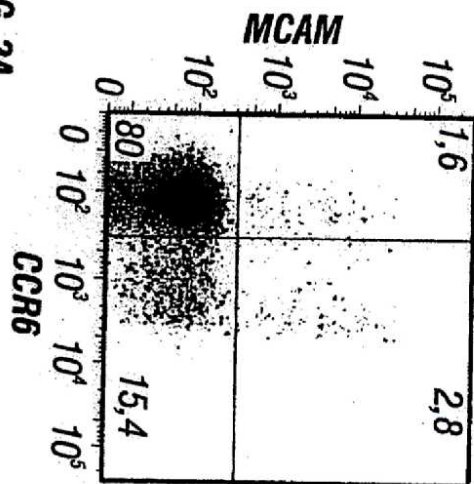
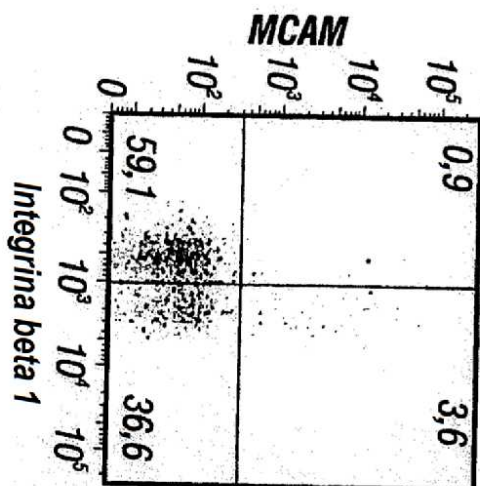
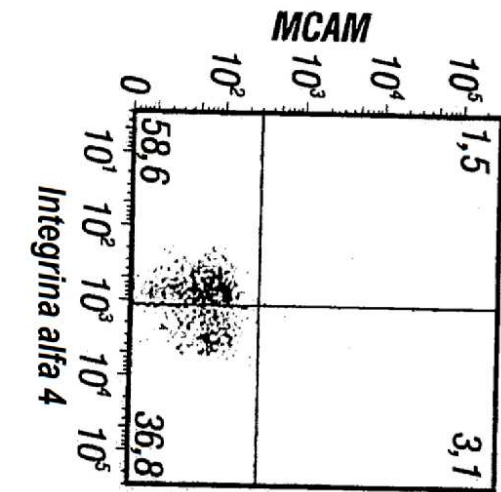


FIG. 2B



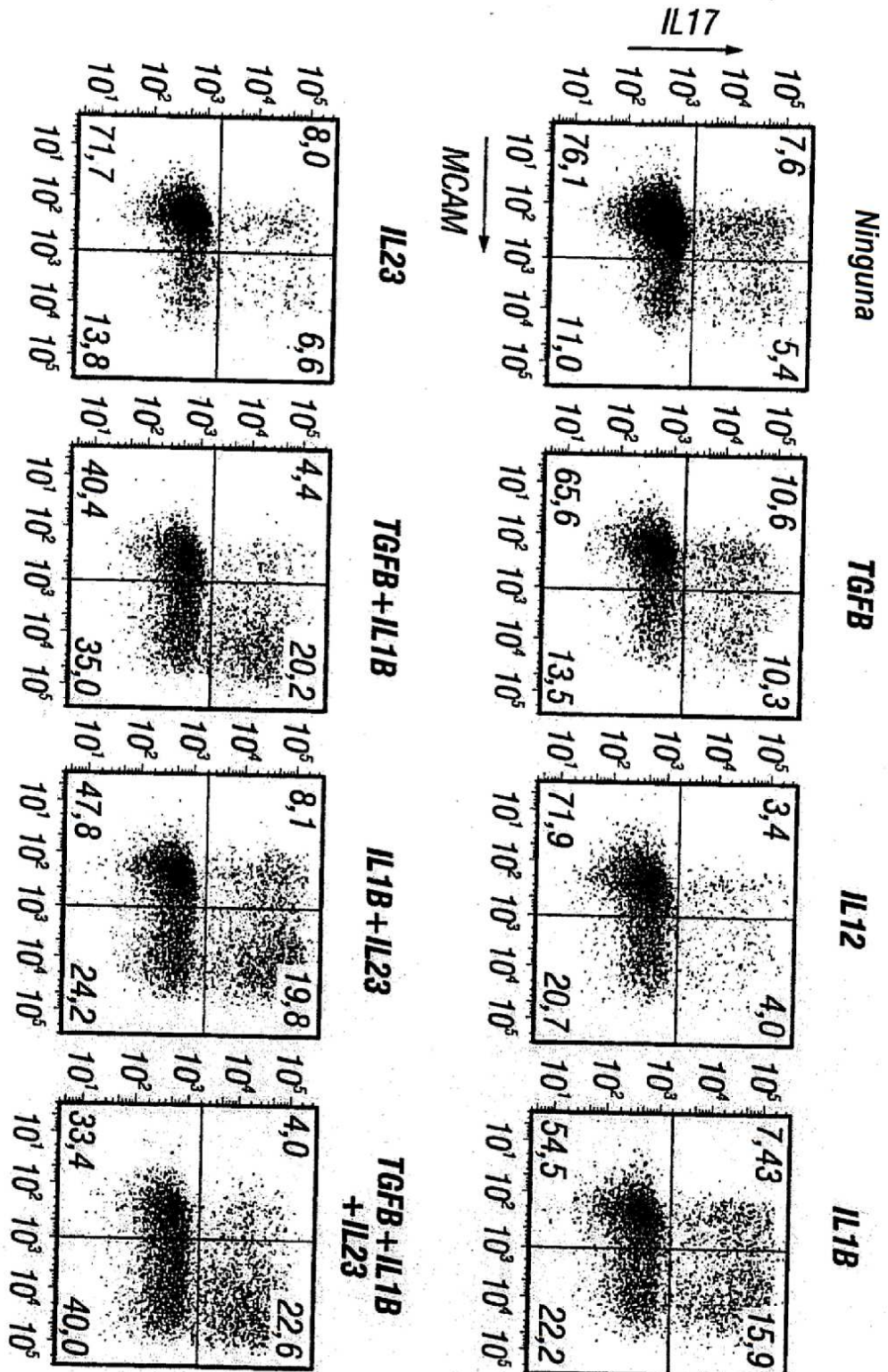


FIG. 3A

FIG. 3E

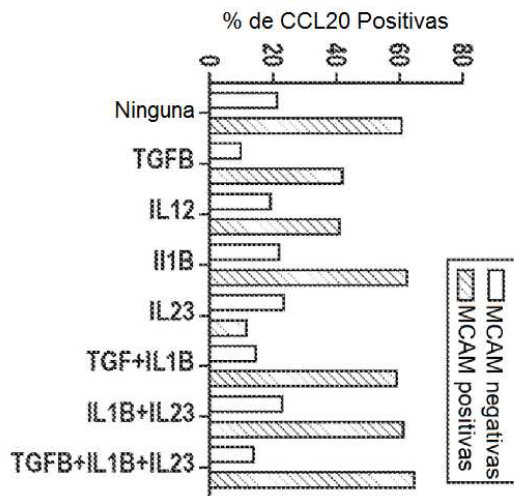


FIG. 3B

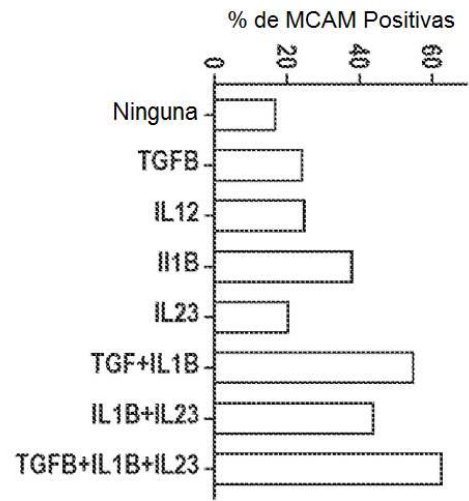


FIG. 3F

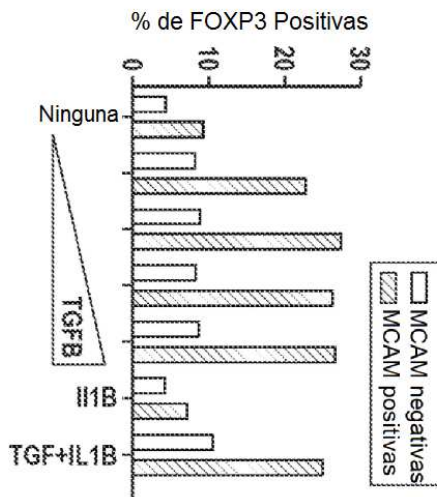


FIG. 3C

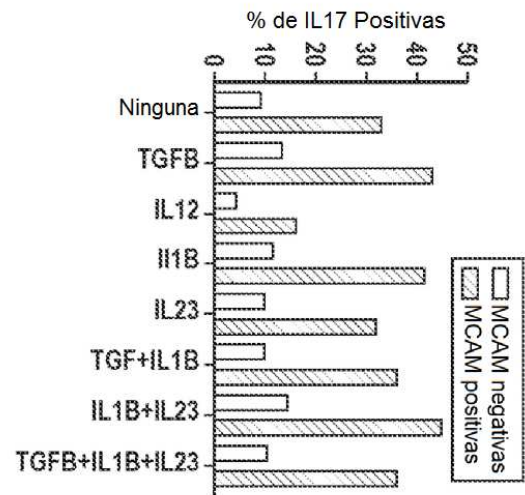


FIG. 3D

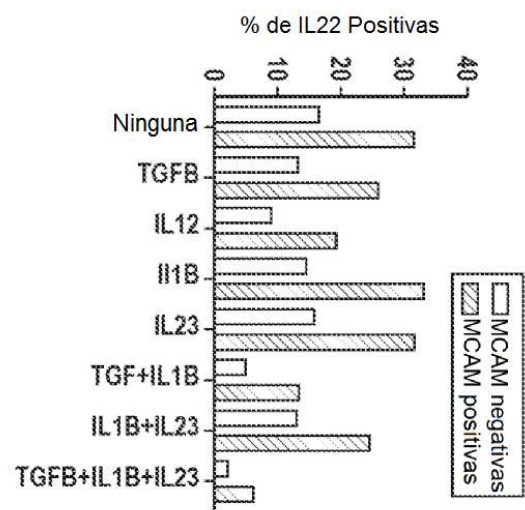




FIG. 4A

FIG. 4B

FIG. 4C



FIG. 4D

FIG. 4E

FIG. 4F



FIG. 4G

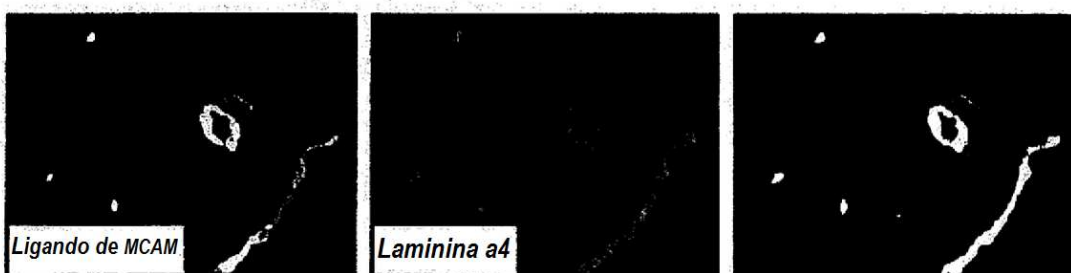


FIG. 4H

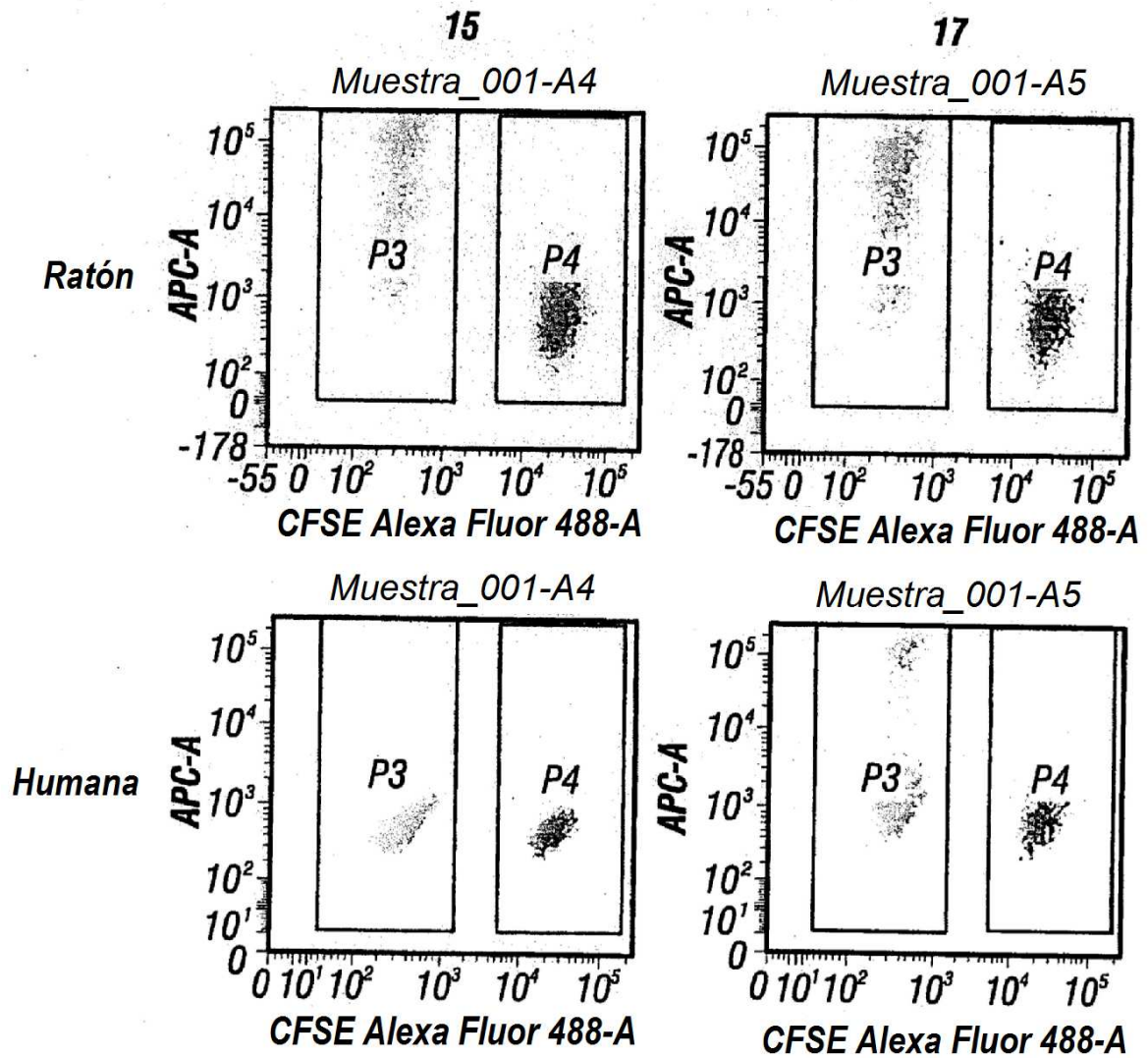


FIG. 5A

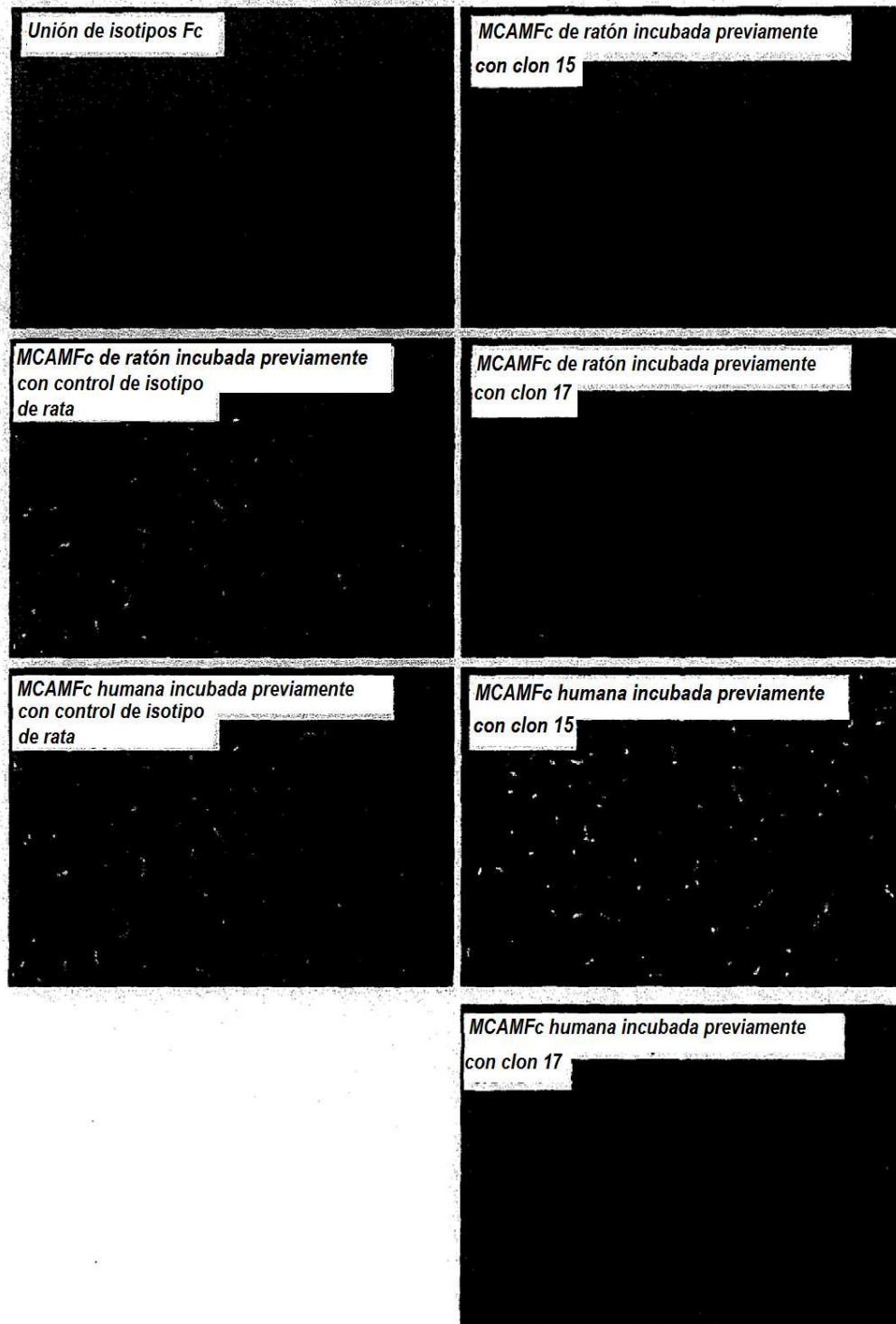
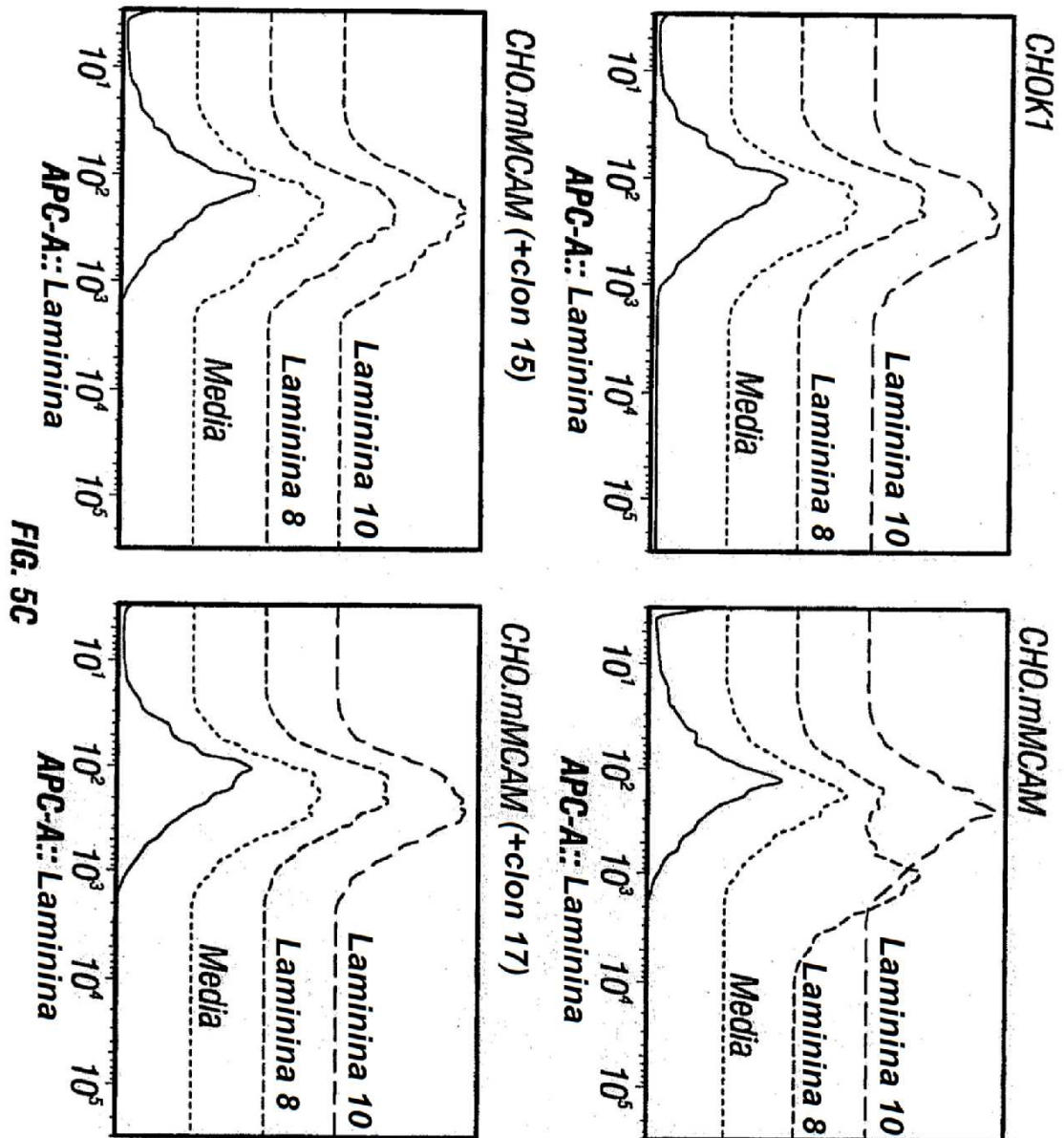


FIG. 5B



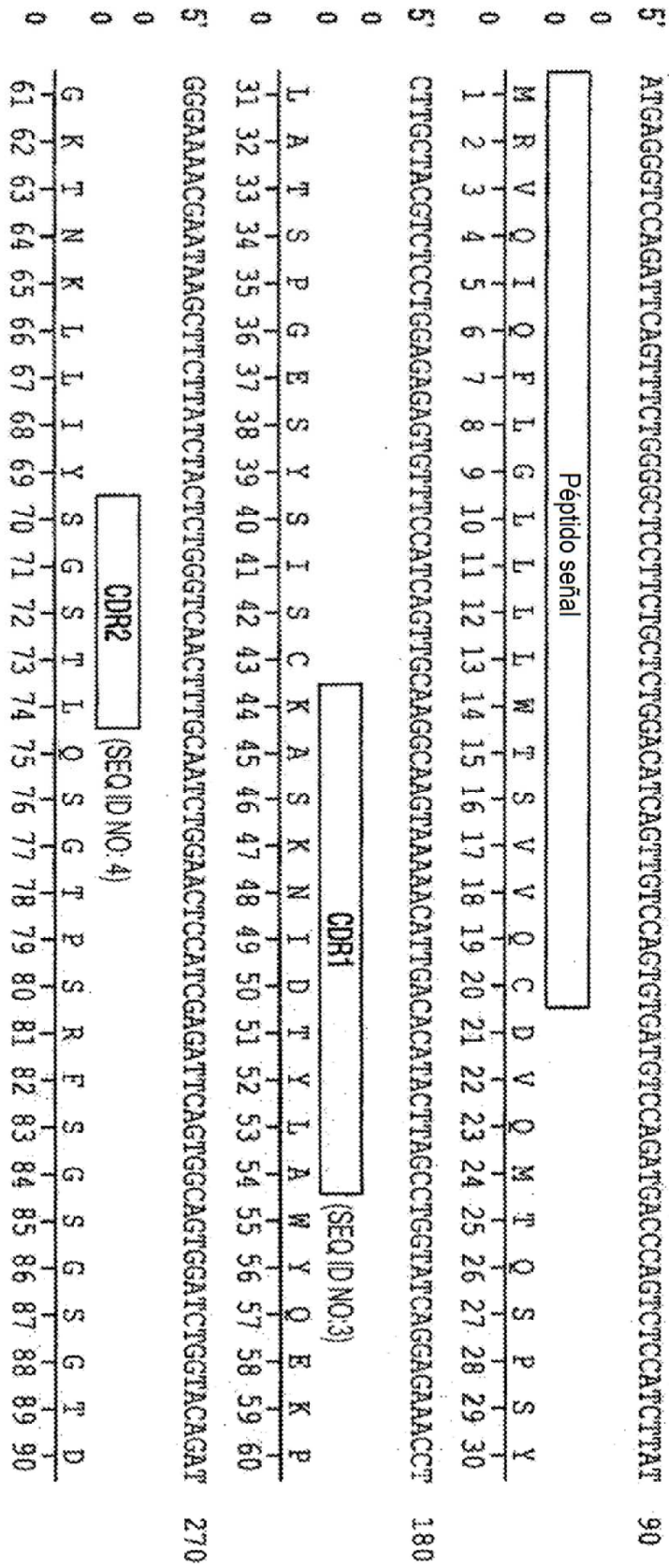


FIG. 6A

5'	TTCAAGCTCACCATCAGAAACTGGAGTCTGAGATTTCGACGTACTACTGTCAACAGCATATGATATACCGCTCAGGTTGGTTCT	360
0		
0		
0		
0	F T L T I R N L E S E D F A V Y Y C Q Q H N E Y P L T F G S	(SEQ ID NO: 5)
0	91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120	
5'	GGGACCAAGCTGGAGATCAACACGGGCTGATGCTGCACCACTGTATCCATCTTCCACCATCTCTCGGA	(SEQ ID NO: 1)
0		428
0		
0		
0		
0	G T K L E I K R A D A A P T V S I F P S S	(SEQ ID NO: 2)
0	121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142	

FIG. 6A (continuación)

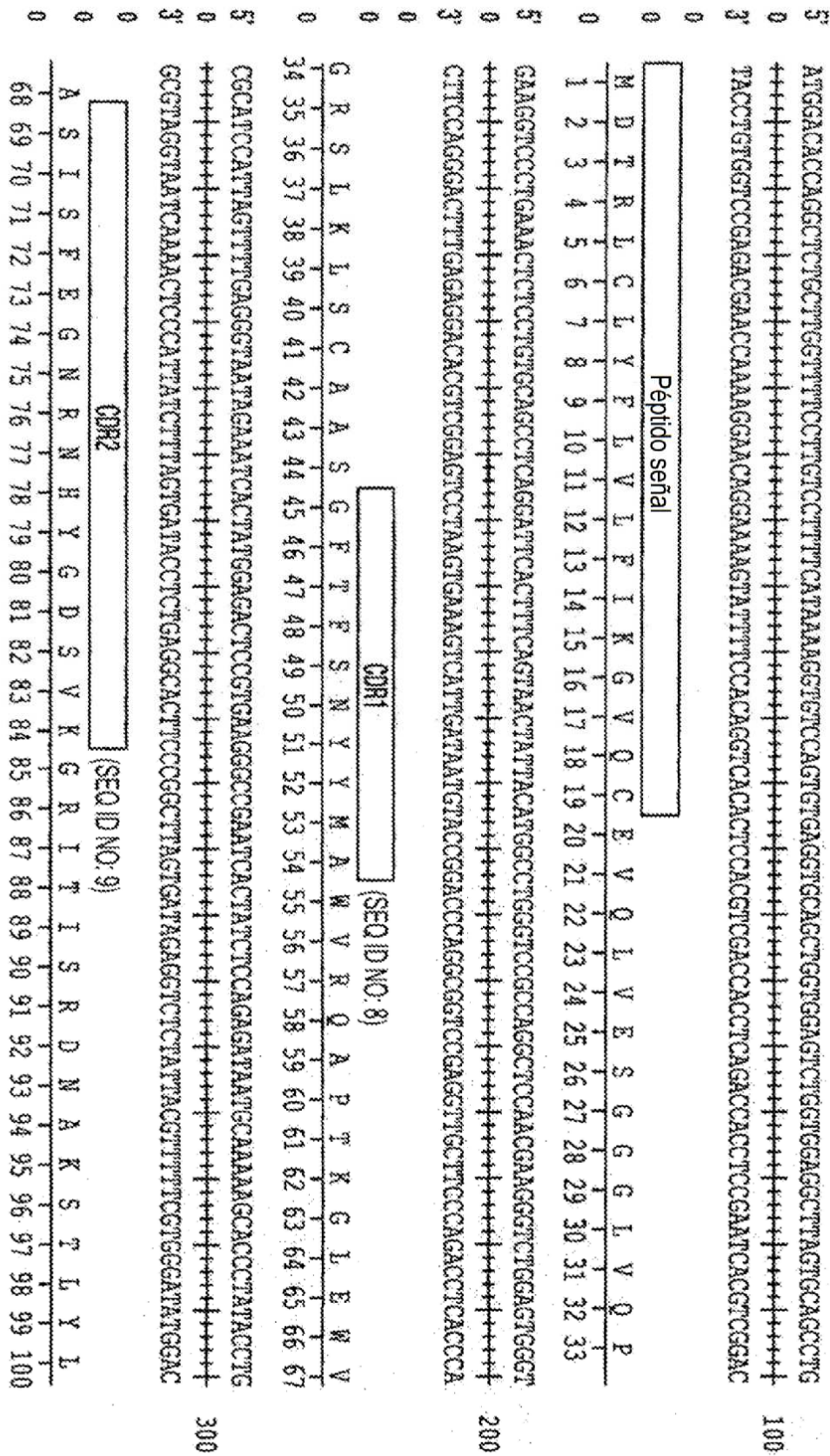


FIG. 6B

FIG. 6B (continuación)

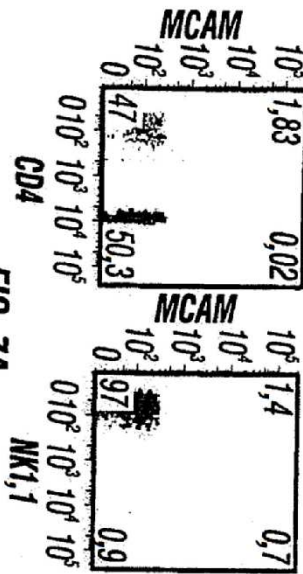


FIG. 7A

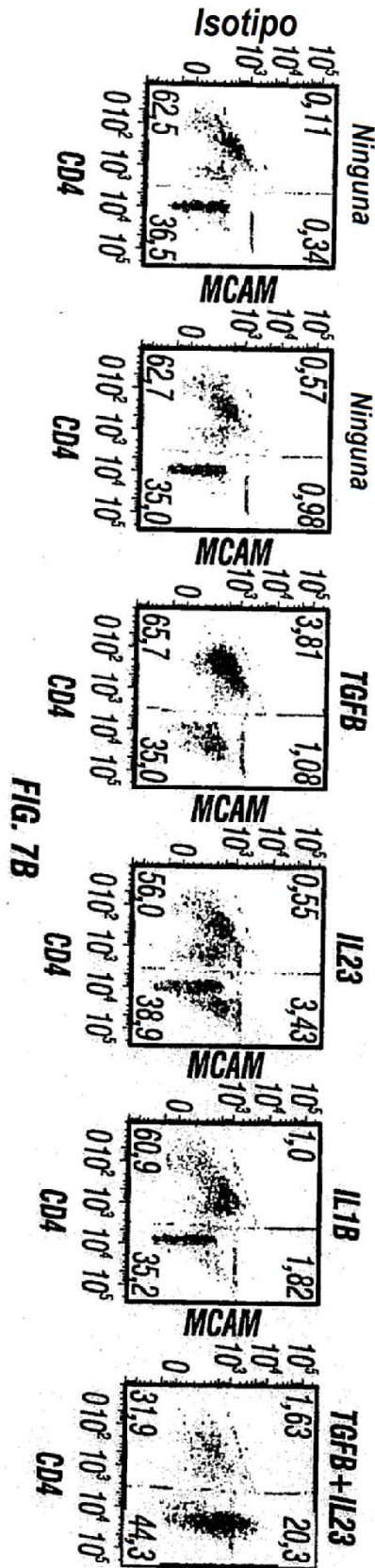


FIG. 7B

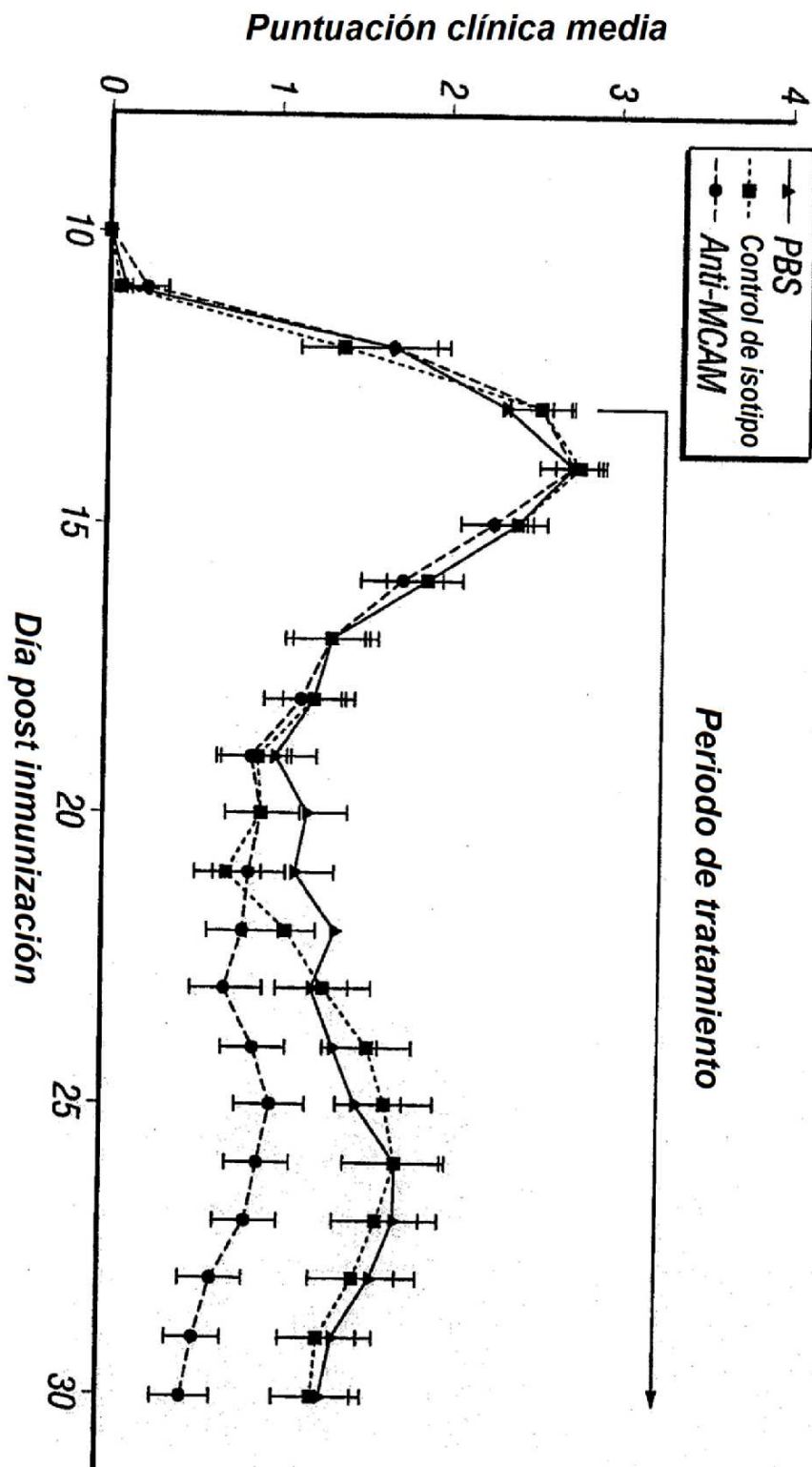
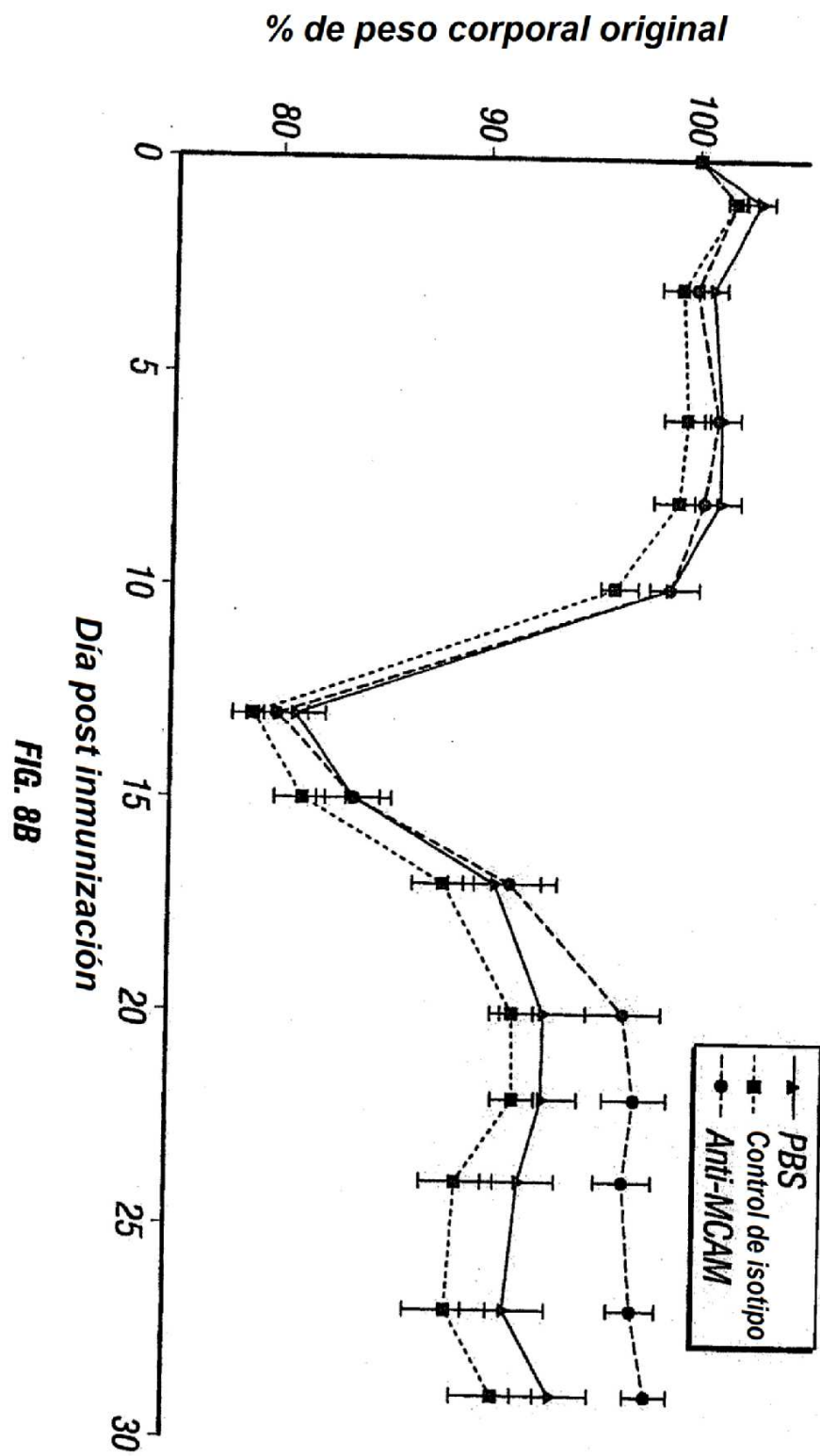


FIG. 8A



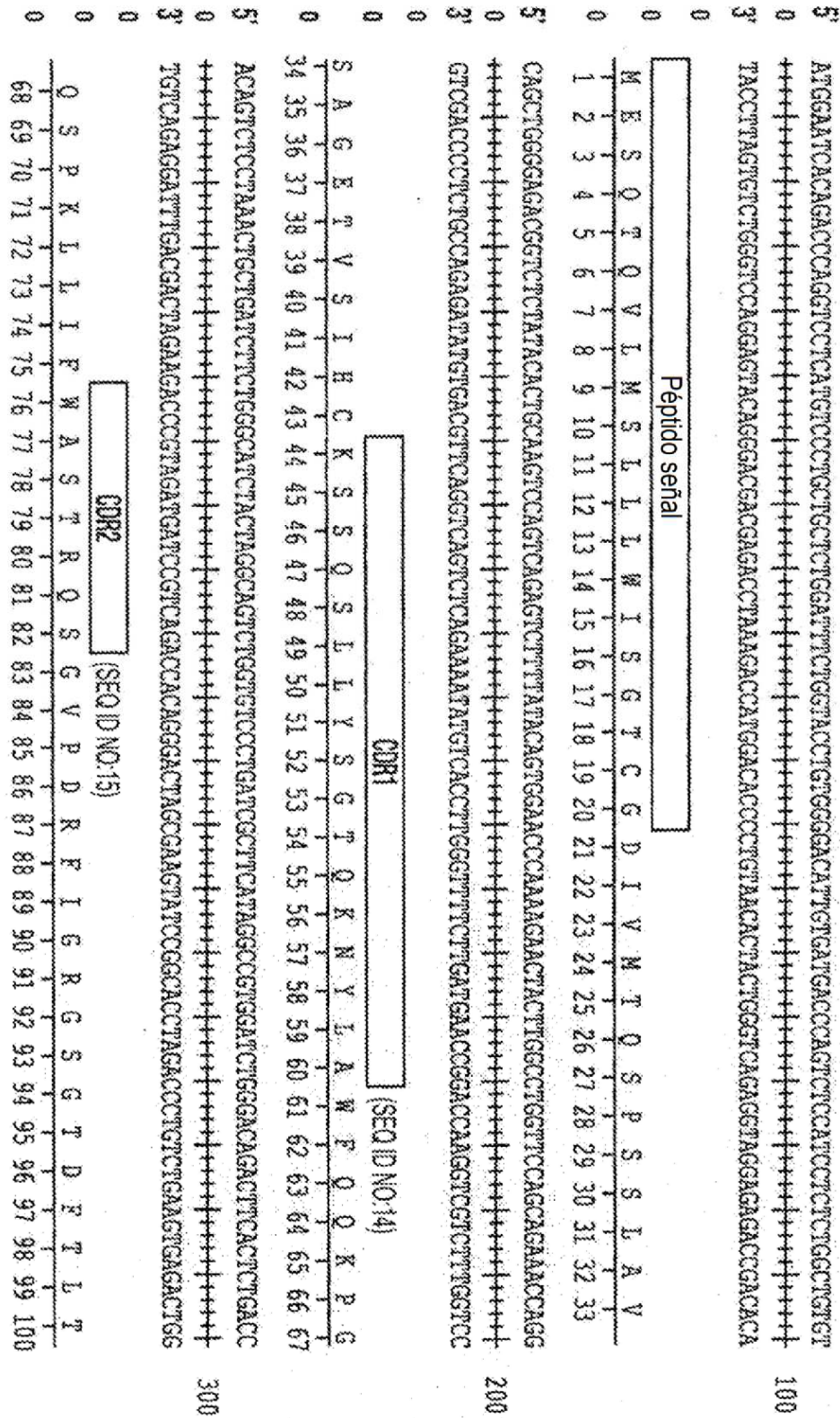


FIG. 9A

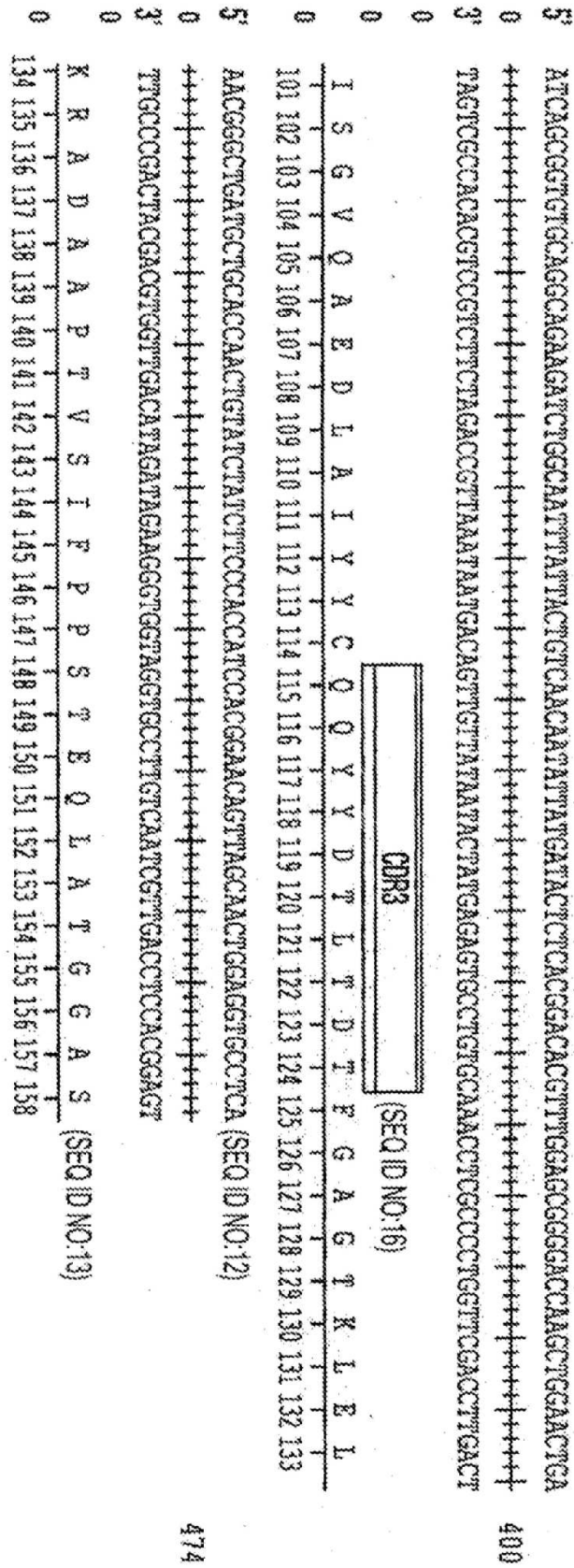


FIG. 9A (continuación)

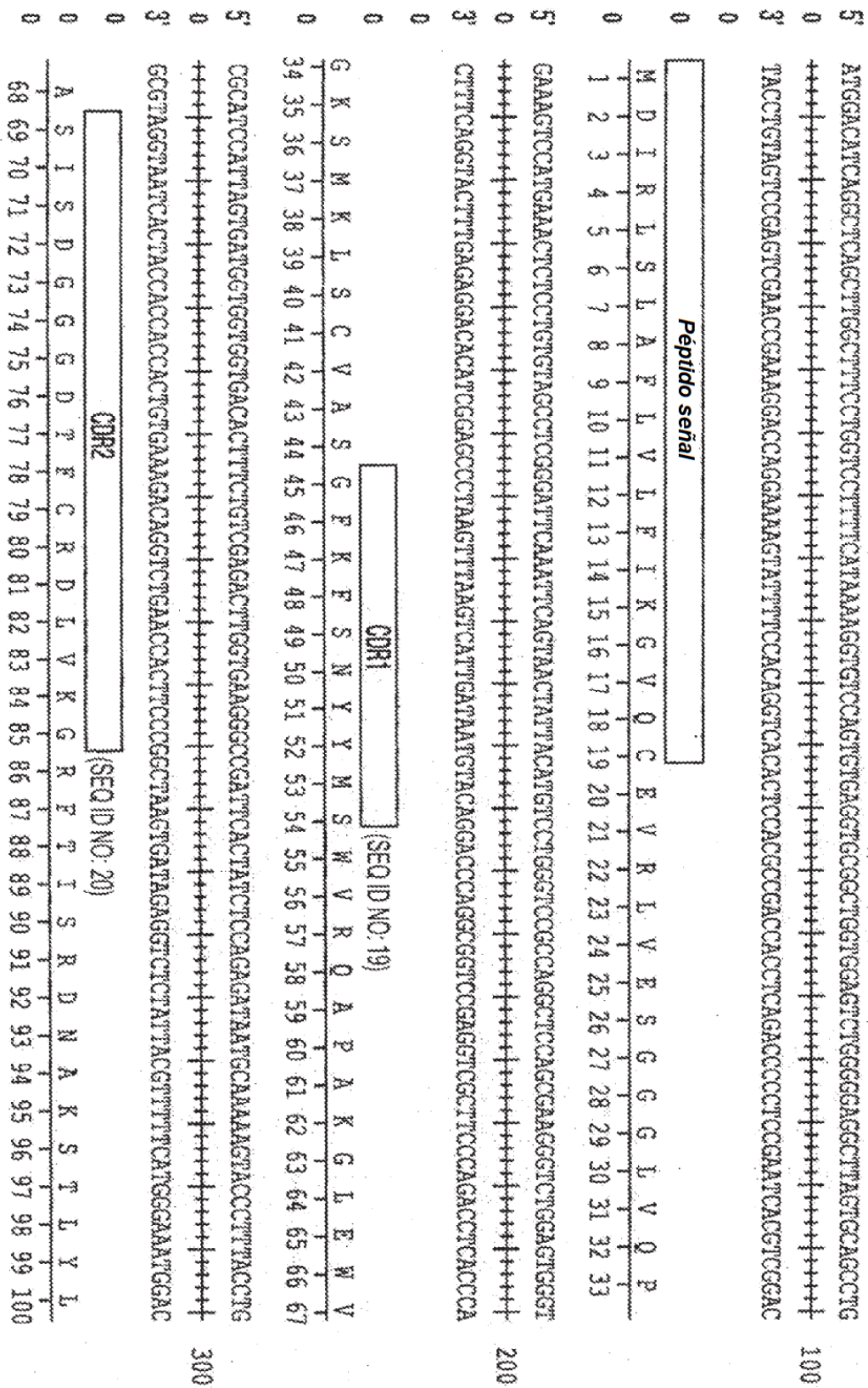


FIG. 9B

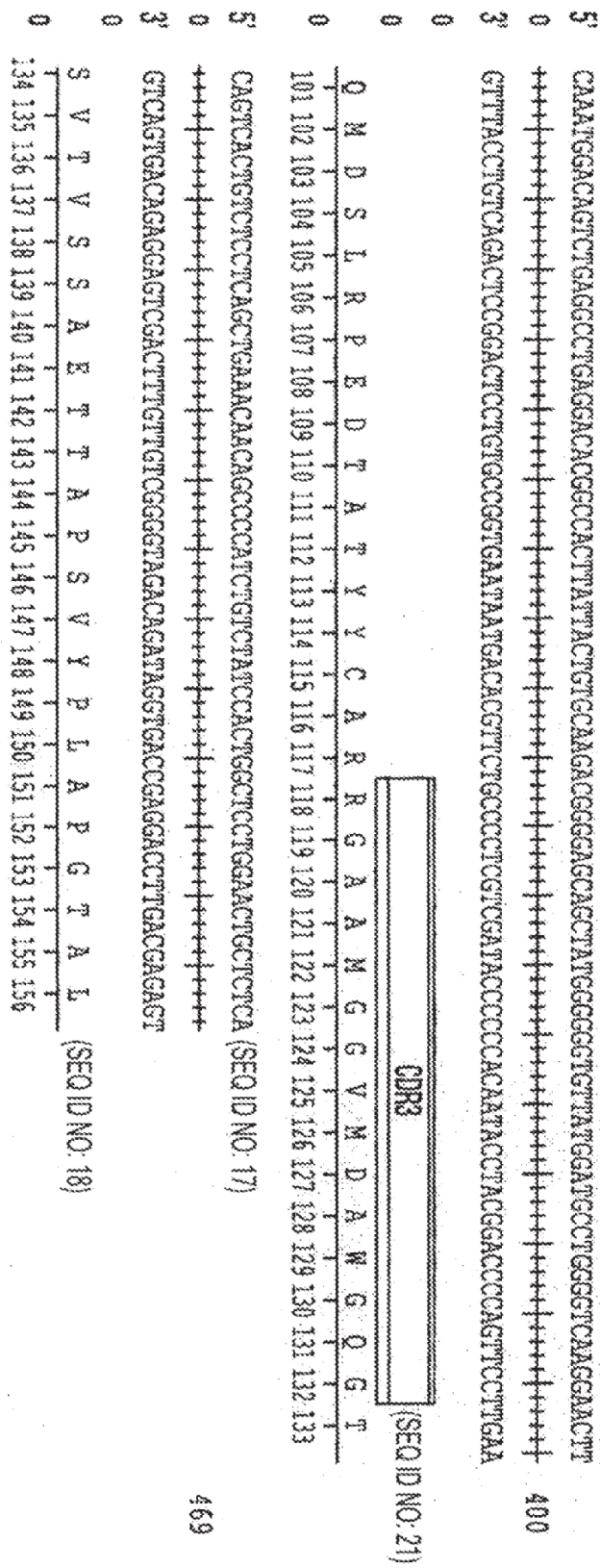


FIG. 9B (continuación)

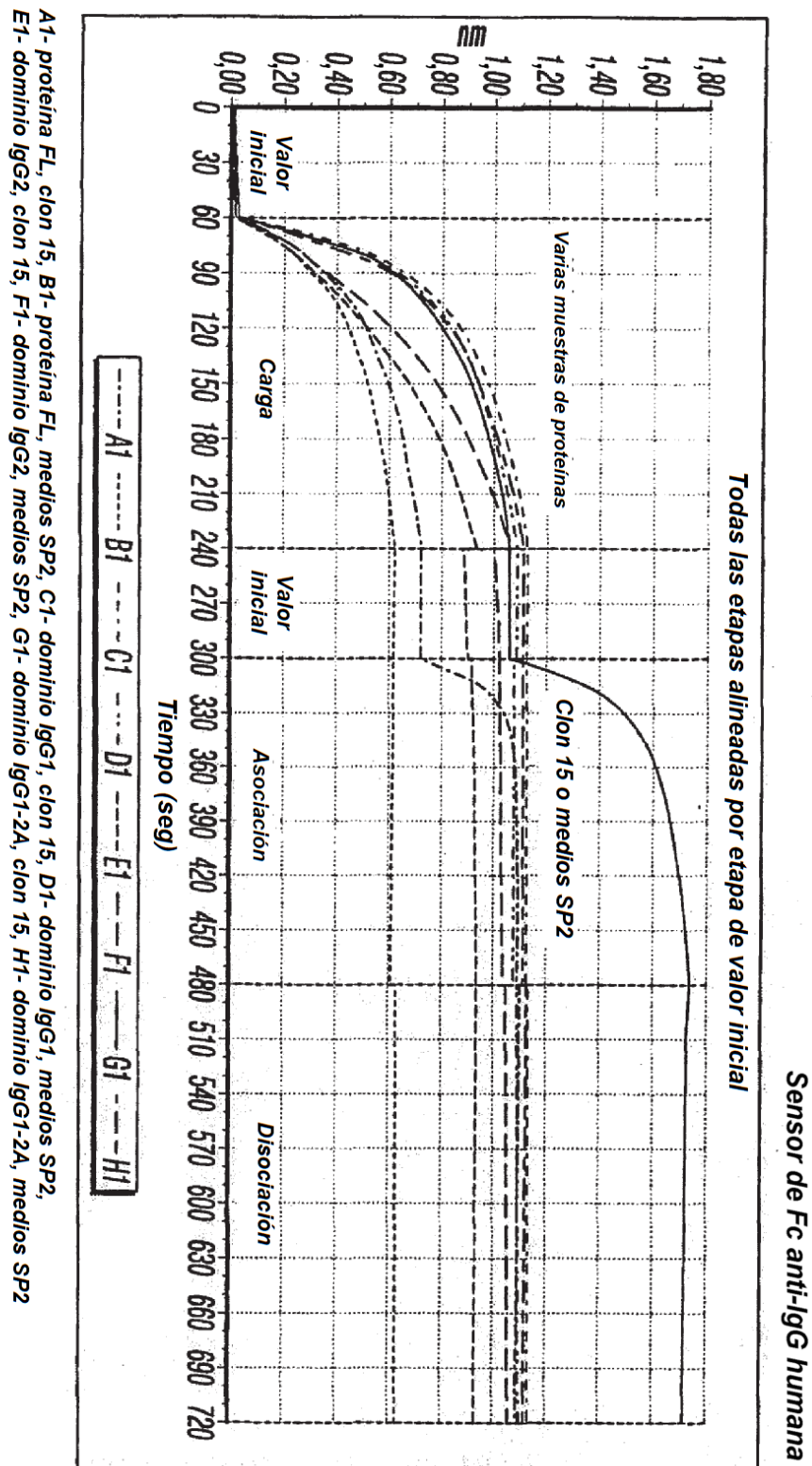


FIG. 10A

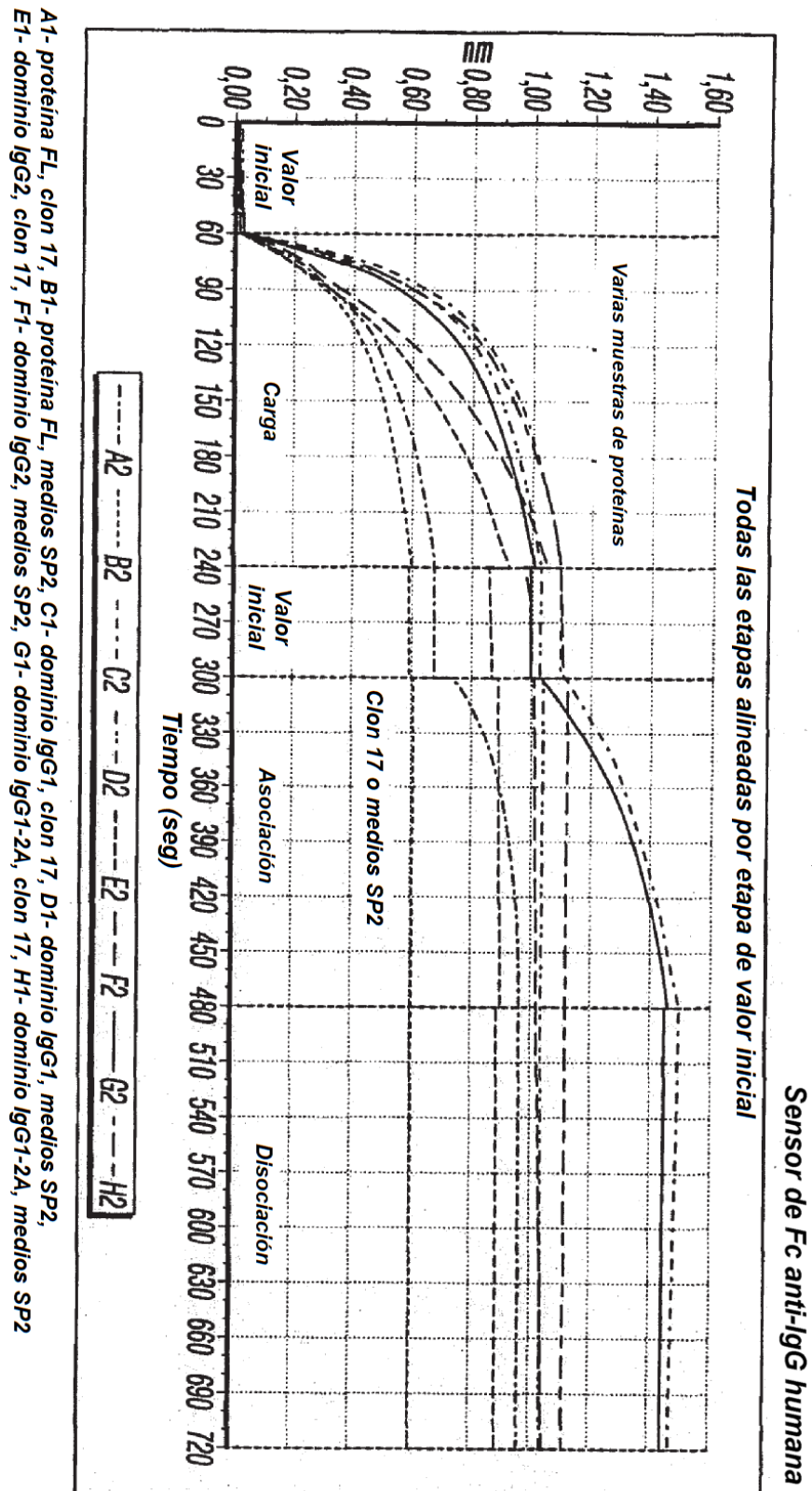


FIG. 10B

MGLPRIVCAFLLAACCCPRVAGVPGEAEOAPAEIVVEVGSTALIKCGLSOSQGNLSHVDFSVHKEKR
 TLIFFVRQGGOSEPEGEYEORLSLQDRGATIALTOVTPODERIFLCQGRPRSQEYRIQLRVYKAPERN
 IOVNPGLIPVNSKEPEEVATCVGRNGYPIPOVIWYKNRPLKEKNRVHIQSSOTVESSGLYTLQSIKA
 QLVKEDKDAQFYCELNRYRLPSGNHMKESREVTVPVFYPTKEVWLEVEPVGMKEGDRVEIRCLADGNPP
 HFSISKONPSTREAEETITNDNGVLVLEPARKESGRYECQAWNLDTMISLSEPOELVNVYSDVRVSP
 AAPERQESSLITCEAESSQDLEFQWIREETDOVLERGVLQHLDKREAGGGRCVASVPSIPGLNRT
 QLVKLAIFGPPWMAFKERKVMVKNMVLNLSCEASGHPRPTISWNVNGTASEQDDQDPQRLSTLNVLVT
 ELLETGVECTASNDLGKNTSILFLELVNLTLTPDSNTTGLSTASTASPHTRANSISTERKLEPEESRGV
 VIVAVIVCILLVAVLGAVLYFLYKKGKLPKRSGKQEIITLPPSRKTELVEEVKSDKLPPEMGLLOGSSGD
 KRAPGDQGEKYIDL RH (SEQ ID NO: 11)

FIG. 11A

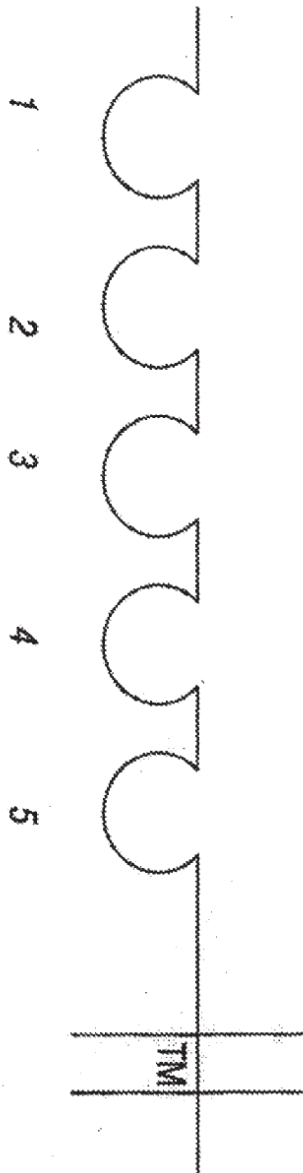


FIG. 11B

malssawrsv lplwllwsaa csraasgddn afpfdiegs avgrqdpbet seprvalgrl ppaekcnag
 fthlsgecv pcdngnsne clsggycvh cgrnttghehc ekoldgyigd sirgapqfcq ppcpplphla
 nfaescyrkn gavrcicnen yagpncerca pyygnppli gstockcds gnsdpnlife dcdvrtqcr
 nclnttgfk cercapgyg dariakncav cncggpcds vtgecleegf eptgmcdpt iscdkcwdl
 tddlrilaals ieeegsgvis vssgaahrh vneinatllyl lktkiseren qyalrkigin naentmksll
 sdevelveke ngasrkqglv qkesmdtinh asqlvegahd mrdkigeinn kmlyygeehel lskelisekl
 vlagkmlleei rrrqpfiftgr elvdeadea yellsqaesw qrlhnetrtll fpvleqldd ynaklsdlge
 aldgainyvr daedmrata argrdhekgq ervregmev nmsltsads lttprltlse lddiknasg
 iyaeldgaks elqvklsnls nlshdlvgea idhaqdlge anelsrklhs sdmnglvqka ldsnvyeni
 vnyvseanet aefalnttdr ydavsigid qiiyhkdese nlnqareld akaesssdea vadtsrvvg
 alarksaikt rlsdavrklq aaergdaqqr lqsriltee anrtmevqq atapmanlt nwsqnlqhd
 ssayntavns ardavnltte vvpqldqlr lveqkrpasn vsasiqrile liaqtrvas kqvsmfddg
 qsavvehst smdlkafts lslymkpvpk rpeltetadq fillygskna kkeymglaik ndnlvynyl
 gtdveipid skpvsswpay fsivkiervg khgkvfltp slstaeeft ikkgefsqdd slldldpedt
 vfyvgvpsn fklptslnlp gfvgclelat lndvlslyn fkhlymdps tsvpcardkl aftgsraasy
 ffdsgyavv rdlttrgkfg qvtrfdiev tpadngllll mvngsmffrl emrngylhvf ydfgfsqpv
 hledtlkqg indakyheis illyndkkmi lvdrtrhvkx mdnekmkipf tdiylggap elldqralra
 hlpldinfrg cmkgfqqk dlnlleqtet lgvgygcped slsrrayfn ggsfiassiqk isffdgfeg
 fnrtllqng llfyaasgd vfsisldngt vimdvkgikv qsvdkgndg lshfvissvs ptryelivdk
 srvgsknptk gkieqtgase kkfyfgspt saqyanftgc isnayftrvd rdvevedfqr ytekvhtsly
 ecpiespif llhkkgnls kpkasqnnkg gkskdapswd pvalklpern tprnshchls nspralehay
 qygtansrq efehlkgdfg aksqfsirlr trshgmify vsdqeendfm tflahgrlv ymfngvghkkl
 kirsgekynd glwhdvifir erssgrlvid glrvleeslp pteatwkikg piylggvapg kavknvqins
 iysfsgclsn lqingasits asqtsvtpc fegpmetgty fsteggyvl desfnlgkft elafevrprs
 ssqtlvhgns vngeylnvnm knqyvlvkn ngirdfstsv tpxqslcdgr whritvirds nvqldvdse
 vnhvvgplnp kpichrepvt vgvpesllt prlapskft gcirhfvldg hpvsfskaal vsgavslnsc
 paa (SEQ ID NO: 27)

FIG. 12A

malssawrsv lplwlwsaa csraasgddn afpfdiegss avgrqdppt seprvalgrl ppaekcnag
 fthltsgcev pcdongusne cldsggyovh cqrnttgehc ekcldyigd sirgapqfcq pcpclphla
 nfaescyrkn gavrcicnen yagpacerca pygygnplli gstockcdcs gnsdpnlife dcddevtgqr
 nclnrttgfk cercapgyy darlakncav cnoggygcds vtgecleegf eptgcdcqv wldtdlrla
 alsieegksq vlsvssgaaa hrhvneinat lylktklse renqyalrki qinnaentmk slsdveelv
 ekenqasrky glvqkesmdt inhasqlveq abdmrdkige innknllyge ehelspkxis eklvraqm
 eeirsrqpf tgreivdeea deayellsqa eswqrlnet rtlfpvleq lddynaklsd lgealdqaln
 yvrdaedmr ataarqrdhe kgqervregm evvmslsts adslitprlt lseiddtkn asglyaeidg
 akselgvklis nlsnshdlv geaidhaqdl qgeanelsrk lhssdmnglv qkaldasnvv enlvnyvsea
 netaefalnt tdriydavsg idtqilyhkd esenlmgar elqakaesss deavadsrr vggalarksa
 lktrlsdavk qlqaaergda qgrlgsrll teeantime vqgatapman nltwsgnlq hfdssaynta
 vnsardavrn ltevvpqld qlrtveqkrp asnvasasigr ireliaqtrs vaskiqvsmu fdqgsavevh
 srtsmdlka ftslslymkp pvkrpellet adqfilylgs knakkeymgd aikndnlvyn ynlgtkdei
 pldskpvssw payfsivkie rvqkhgkvfl tpslssstae ekfikkgefs gddsildlp edtvfyvgv
 psnfklptsl nlpqfvgle latlnndvis lynfkhlynm dpstsvpcar dklafitgsra asyffdggy
 avrlditrrg kfgvtrfdi evrtpadngl ilmwngsmf frlemrngyl hvfydfgfsq gpvhledtik
 kaqindakyh eisilyhndk kmilvdrth vksmdekmmk ipftdiyigq appealgsra lrahpldin
 frgcmkgf gkxdfnlleq tetlgvgygc pedslisrra yfngqsfias iqkissfdgf eggnfrtlq
 pngllfyas gsdvffsild ngtvlmdvkq ikvqsvdkqy ndglshfvls svsptryell vdksvrgskn
 ptkgkieqtq asekkfyfgg spisagyanf tgcisnayft rvdrdveved fgrytekvht slyecpiess
 plflhkkkgk nlskpkasqn kkggkskdap swdpvalklp erntprnshc hlsnspraie haygygtan
 srqefehlkq dfgaksgfsi rlttrsshgm lfyvsddeen dfmtlflahg rlvymfnvgh kklkirsqek
 yndglwhdvi firerssgrl vidglrvlee slppteatwk ikqpiylgv apgkavknvq inslysfsgc
 lsnlqngas itsasqtsfv tpcfeqmet gtyfsteggy vvidesfnig lkfeiafevr prssgtlvh
 ghsvngeyln vhmknqgviv kvnnglrdfs tsvtpkqslc rdsnvvqldv dsevnhvvgp
 lnpkpidhre pvtvgvpes lltprlaspk pftgclrhv idghpvsfsk aalvsgavsi nscpaa

(SECID NO: 28)

FIG. 12B

Figura 13

Clon 1174.1.3 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAGAGGG
CCACCATCTCATGCAGGGCCAGCAAAAGTGTGAGTACATCTGGCTATAGTTATATG
TACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTATCTTGCATC
CAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTGAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC
TTCACCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCA
ACACAGTAGGGAGCTTCCATTACGTTTCGGCTCGGGGACAAAGTTGGAAATAAAA
C (SEQ ID NO:29)

Clon 1174.1.3 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Aminoácidos)

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMYWYQQKPGQPPKLLIYASNLE
SGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQHSRELPFTFGSGTKLEIK (SEQ
ID NO:30)

Clon 1174.1.3 – CDR-L1 (Secuencia de Aminoácidos)

RASKSVSTSGYSYMY (SEQ ID NO:31)

Clon 1174.1.3 – CDR-L2 (Secuencia de Aminoácidos)

ASNLES (SEQ ID NO:32)

Clon 1174.1.3 – CDR-L3 (Secuencia de Aminoácidos)

QHSRELPFT (SEQ ID NO:33)

Figura 14

Clon 1174.1.3 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

CAGATTCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCA
AGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTCACAACTATGGAATGAACTGGGTG
AAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTG
GAGAGCCAACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTGTCTTTGGAAACC
TCTGCCAGCACTGCCTATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACATGGCTAC
ATATTTCTGTGCAAGATATAGGTATAATAAATACGAGAGGGCTATGGACTACTGGG
GTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:34)

Clon 1174.1.3 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Aminoácidos)

QIQLVQSGPELKPGETVKISKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGE
PTYADDFKGRFALSLETSASTAYLQINNKNEDMATYFCARYRYNKYERAMDYWGQG
TSVTVSS (SEQ ID NO:35)

Clon 1174.1.3 – CDR-H1 (Secuencia de Aminoácidos)

GYTFTNYGMN (SEQ ID NO:36)

Clon 1174.1.3 – CDR-H2 (Secuencia de Aminoácidos)

WINTYTGEPTYADDFKG (SEQ ID NO:37)

Clon 1174.1.3 – CDR-H3 (Secuencia de Aminoácidos)

YRYNKYERAMDY (SEQ ID NO:38)

Figura 15

Clon 1414.1.2 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTGTGTCAGCAGGAGAGAAGG
TCACTATGAGCTGCAAATCCAGTCAGAGTCTGCTCAACAGTAGCACCCGAAAGAAC
TTCTTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATCTACTG
GGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGG
ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTA
CTGCAAGCAATCTTATAATCGGTACACGTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATA
AAACG (SEQ ID NO:39)

Clon 1414.1.2 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Aminoácidos)

DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSSTRKNFLAWYQQKPGQSPKLLIYWA
STRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCKQSYNRYTFGGGTKLEIK
(SEQ ID NO:40)

Clon 1414.1.2 – CDR-L1 (Secuencia de Aminoácidos)

KSSQSLLNSSTRKNFLA (SEQ ID NO:41)

Clon 1414.1.2 – CDR-L2 (Secuencia de Aminoácidos)

WASTRES (SEQ ID NO:42)

Clon 1414.1.2 – CDR-L3 (Secuencia de Aminoácidos)

KQSYNRYT (SEQ ID NO:43)

Figura 16

Clon 1414.1.2 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

GAGATCCAGCTGCAGCAGACTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTG
AAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTTATTCATTCACTGACTACATCATGCTCTGGGTG
AAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGAAATATTAATCCTTACTCTGG
TAGTAGTGGCTACAATCTGAAGTTCAAGGGCAAGGCCaCATTGACTGTAGACAAAT
CTTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGTCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTC
TATTACTGTGCAAGAGGGAAGGACTTTGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCT
CAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:44)

Clon 1414.1.2 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Aminoácidos)

EIQLQQTGPELVKPGASVKISCKASGYSFTDYIMLWVKQSHGKSLEWIGNINPYSGSS
GYNLKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARGKDFAMDYWGQGTSTV
SS (SEQ ID NO:45)

Clon 1414.1.2 – CDR-H1 (Secuencia de Aminoácidos)

GYSFTDYIML (SEQ ID NO:46)

Clon 1414.1.2 – CDR-H2 (Secuencia de Aminoácidos)

NINPYSGSSGYNLKFKG (SEQ ID NO:47)

Clon 1414.1.2 – CDR-H3 (Secuencia de Aminoácidos)

GKDFAMD (SEQ ID NO:48)

Figura 17

Clon 1415.1.1 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

GACATTGTGATGACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGATAGAGT
CTCTCTTTCATGCAGGGCCAGCCAGAGTATTAGCGACTACTTACACTGGTATCAAC
AAAAATCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAATATGCTTCCCAATCCATCTCTG
GGATCCCCTCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGGTCAGATTTCACTCTCAGTATC
AACAGTGTGGAACCTGAAGATGTTGGAGTGTATTACTGTCAAAATGGTCACAACTT
TCCTCGGACGTTGCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAAC (SEQ ID NO:49)

Clon 1415.1.1 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Aminoácidos)

DIVMTQSPATLSVTPGDRVSLSCRASQSIDYLHWYQQKSHESPRLLIKYASQSIGIP
SRFSGSGSGSDFTLSINSVEPEDVGVYYCQNGHNFRTFGGGTKLEIK (SEQ ID
NO:50)

Clon 1415.1.1 – CDR-L1 (Secuencia de Aminoácidos)

RASQSIDYLH (SEQ ID NO:51)

Clon 1415.1.1 – CDR-L2 (Secuencia de Aminoácidos)

YASQSIG (SEQ ID NO:52)

Clon 1415.1.1 – CDR-L3 (Secuencia de Aminoácidos)

QNGHNFRT (SEQ ID NO:53)

Figura 18

Clon 1415.1.1 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

CAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTTGTGCAGCCTGGGGCTCCAGTG
AAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACATTTTCACCAGCTACTGGATGAACTGGGT
GAAGCAGAGGCCTGGACGAGGCCTCGAGTGGATTGGAAGGATTGATCCTTCCGAT
AGTAAAATTCACCTACAATCAAAAGTTCAAAGACAAGGCCACACTGACTGTAGACAG
ATCCTCCAGCACAGCCTACATCCAACCTCGGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCG
GTCTATTATTGTGCAAAAGAGGGGGGTTTACGACGGGGGGGACTATGCTATGGACT
ACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (SEQ ID NO:54)

Clon 1415.1.1 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Aminoácidos)

QVQLQQPGAELVQPGAPVKLSCKASGYIFTSYWMNVKQRPGRGLEWIGRIDPSDS
KIHYNQKFKDKATLTVDSSSTAYIQLGSLTSEDSAVYYCAKEGGLRRGDYAMDYWG
QGTSVTVSS (SEQ ID NO:55)

Clon 1415.1.1 – CDR-H1 (Secuencia de Aminoácidos)

GYIFTSYWMN (SEQ ID NO:56)

Clon 1415.1.1 – CDR-H2 (Secuencia de Aminoácidos)

RIDPSDSKIHYNQKFKD (SEQ ID NO:57)

Clon 1415.1.1 – CDR-H3 (Secuencia de Aminoácidos)

EGGLRRGDYAMDY (SEQ ID NO:58)

Figura 19

Clon 1749.1.3 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

GACATTGTGATGTCACAGTCTCCATCCTCCCTGGCTGTGTCAGCAGGAGAGAAGG
TCACTATGAACTGCAAATCCAGTCGGAGTCTGCTCAACAGTAGAATCCGAAAGAAC
TACTTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATCTACTG
GGCATCCACTAGGGAATCTGGGGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGG
ACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCTGAAGACCTGGCAGTTTATTA
CTGCAAGCAATCTTATAATCTGCTCACGTTCCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTG
AAAC (SEQ ID NO:59)

Clon 1749.1.3 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Aminoácidos)

DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMNCKSSRSLNSRIRKNYLAWYQQKPGQSPKLLIWAS
TRESGVPDRFTGSGSGTDFLTISVQAEDLAVYYCKQSYNLLTFGAGTKLELK
(SEQ ID NO:60)

Clon 1749.1.3 – CDR-L1 (Secuencia de Aminoácidos)

KSSRSLNSRIRKNYLA (SEQ ID NO:61)

Clon 1749.1.3 – CDR-L2 (Secuencia de Aminoácidos)

WASTRES (SEQ ID NO:62)

Clon 1749.1.3 – CDR-L3 (Secuencia de Aminoácidos)

KQSYNLLT (SEQ ID NO:63)

Figura 20

Clon 1749.1.3 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

GACGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTG
AAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACITTCAGTAGCTATATCATGTCTTGGGT
CGTCAGACTCCGGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTGCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTA
GTTCCACCTACTATCCAGACAGTGTGAAGGGCCGATTACcATCTCCAGAGACAAT
GCCAAGAACACCCTGTACCTGCAAATGAGCAGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCA
TGTATTACTGTACAAGAGATGATGATTACGACGTAAAGGTATTTGCTTACTGGGGC
CAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA (SEQ ID NO:64)

Clon 1749.1.3 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Aminoácidos)

DVKLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYIMSWVRQTPEKRLEWVATISSGGSST
YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCTRDDDYDVKVFAYWGQGL
VTVSA (SEQ ID NO:65)

Clon 1749.1.3 – CDR-H1 (Secuencia de Aminoácidos)

GFTFSSYIMS (SEQ ID NO:66)

Clon 1749.1.3 – CDR-H2 (Secuencia de Aminoácidos)

TISSGGSSTYYPDSVKG (SEQ ID NO:67)

Clon 1749.1.3 – CDR-H3 (Secuencia de Aminoácidos)

DDDYDVKVFAY (SEQ ID NO:68)

Figura 21A

Clon 2120.4.19 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

GATATCCGGATGACTCAGTCTCCTTCACTCCTGTCTGCATCTGTGGGGGACAGAGT
CACTCTCAACTGCAAAGCAAGTCAGAATATTTATAACAGCTTAGCCTGGTATCAGC
AAAAGCTTGGAGAAGGTCCCAAAGTCCTGATTTTAAATGCAAACAGTTTGCAAACG
GGCATCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACTCACCAT
CAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCCACATATTTCTGCCAGCAGTTTATAGCG
GGTACACGTTTGGAGCTGGGACCAAGCTGGAACGAAAC (SEQ ID NO:69)

Clon 2120.4.19 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Aminoácidos- Versión 1)

DIRMTQSPSLLSASVGDRVTLNCKASQNIYNLSAWYQQKLGEQPKVLIFNANSQTGIP
SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQFYSGYTFGAGTKLELK (SEQ ID
NO:70)

Clon 2120.4.19 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Aminoácidos- Versión 2)

DIQVTQSPSLLSASVGDRVTLNCKASQNIYNLSAWYQQKLGEQPKVLIFNANSQTGIP
SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQFYSGYTFGAGTKLELK (SEQ ID
NO:71)

Clon 2120.4.19 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Aminoácidos- Versión 3)

DIVLTQSPSLLSASVGDRVTLNCKASQNIYNLSAWYQQKLGEQPKVLIFNANSQTGIP
SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQFYSGYTFGAGTKLELK (SEQ ID
NO:72)

Clon 2120.4.19 – CDR-L1 (Secuencia de Aminoácidos)

KASQNIYNLSA (SEQ ID NO:73)

Figura 21B

Clon 2120.4.19 – CDR-L2 (Secuencia de Aminoácidos)

NANSLQT (SEQ ID NO:74)

Clon 2120.4.19 – CDR-L3 (Secuencia de Aminoácidos)

QQFYSGYT (SEQ ID NO:75)

Figura 22

Clon 2120.4.19 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGTCTGGTGCAGCCCTCACAGACCCTG
TCTCTCACCTGCACTGTCTCTGGATTCTCATTAAACCAGCAATGGTGTAAGCTGGGT
TCGCCAGCCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGATTGCAGCAATATCATCTGGTGGA
ACCACATATTATAATTGCGGTTCAAATCCCGACTGAGCATCAGCAGGAACACCTC
CAAGAGCCAAGTTCTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGAAGACACAGCCATGT
ACTTCTGTGCCAGACGGTATGGGTACGGGTGGTACTTTGACTTCTGGGGCCCAGG
AACCATGGTCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:76)

Clon 2120.4.19 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Aminoácidos)

QVQLKESGPGLVQPSQTLSTCTVSGFSLTSNGVSWVRQPPGKGLEWIAAISSGGTT
YYNSAFKSRLSISRNTSKSQVLLKMNSLQTEDTAMYFCARRYGYGWYFDWGPSTM
VTVSS (SEQ ID NO:77)

Clon 2120.4.19 – CDR-H1 (Secuencia de Aminoácidos)

GFSLTSNGVS (SEQ ID NO:78)

Clon 2120.4.19 – CDR-H2 (Secuencia de Aminoácidos)

AISSGGTTYNSAFKS (SEQ ID NO:79)

Clon 2120.4.19 – CDR-H3 (Secuencia de Aminoácidos)

RYGYGWYFDF (SEQ ID NO:80)

Figura 23A

Clon 2107.4.10 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Ácido Nucleico- Versión 1)

GACATCCGGGTGACTCAGTCTCCTTCACTCCTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAG
TCACTCTCAACTGCAAAGGAAGTCAGAATATTTATAAGAGCTTAGCCTGGTTTCGG
CTAAAGCGTGGAGAAGCTCCCAAGCTCCTGATTTATGATGCAAACAGTTTGCAAAC
GGGCATCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACTCACC
ATCACCAGCCTACAGCCTGAAGATGTTGCCACATATTTCTGCCAGCAGTATTATAG
CGGTTACACGTTTGGAGCTGGGACCAAGCTGGAAGTAAA (SEQ ID NO:81)

Clon 2107.4.10 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Ácido Nucleico- Versión 2)

GACATCCAGGTGACTCAGTCTCCTTCACTCCTGTCTGCATCTGTGGGAGACAGAGT
CACTCTCAACTGCAAAGGAAGTCAGAATATTTATAAGAGCTTAGCCTGGTTTCGGC
TAAAGCGTGGAGAAGCTCCCAAGCTCCTGATTTATGATGCAAACAGTTTGCAAACG
GGCATCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACTCACCAT
CACCAGCCTACAGCCTGAAGATGTTGCCACATATTTCTGCCAGCAGTATTATAGCG
GTTACACGTTTGGAGCTGGGACCAAGCTGGAAGTAAA (SEQ ID NO:82)

Clon 2107.4.10 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Aminoácidos- Versión 1)

DIRVTQSPSLLSASVGDRVTLNCKGSQNIYKSLAWFRLKRGEAPKLLIYDANSLQTGIP
SRFSGSGSGTDFTLTITSLQPEDVATYFCQQYYSGYTFGAGTKLELK (SEQ ID
NO:83)

Clon 2107.4.10 – Cadena Ligera Variable (Secuencia de Aminoácidos- Versión 2)

DIQVTQSPSLLSASVGDRVTLNCKGSQNIYKSLAWFRLKRGEAPKLLIYDANSLQTGIP
SRFSGSGSGTDFTLTITSLQPEDVATYFCQQYYSGYTFGAGTKLELK (SEQ ID
NO:84)

Clon 2107.4.10 – CDR-L1 (Secuencia de Aminoácidos)

KGSQNIYKSLA (SEQ ID NO:85)

Figura 23B

Clon 2107.4.10 – CDR-L2 (Secuencia de Aminoácidos)

DANSLQT (SEQ ID NO:86)

Clon 2107.4.10 – CDR-L3 (Secuencia de Aminoácidos)

QQYYSGYT (SEQ ID NO:87)

Figura 24

Clon 2107.4.10 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Ácido Nucleico)

CAGGTGCAGCTGAAGGAGTCAGGACCTGGTCTGGTGCAGTCCTCACAGACCCTGT
CTCTCACCTGCACTGTCTCTGGATTCTCATTAACCAGTAATGGTGTAAGCTGGGT
CGCCAGCCTCCAGGAAAGGGTCTGGAGTGGATTGCAGCAATATCAAGTGGTGGAA
GCACATATTATAATTCAGCGTTCAAATCCCGACTGAGCATCAGCAGGAACACCTCC
AAGAGCCAAGTTCTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGAAGACACAGGCATGTA
CTTCTGTGCCAGACATAGACCGTTCTACTTTGATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGG
TCACAGTCTCCTCA (SEQ ID NO:88)

Clon 2107.4.10 – Cadena Pesada Variable (Secuencia de Aminoácidos)

QVQLKESGPGLVQSSQTLSTCTVSGFSLTSNGVSWVRQPPGKGLEWIAAISSGGST
YYNSAFKSRLSISRNTSKSQVLLKMNSLQTEDTGMVFCARHRPFYFDYWGGQVMVT
V (SEQ ID NO:89)

Clon 2107.4.10 – CDR-H1 (Secuencia de Aminoácidos)

GFSLTSNGVS (SEQ ID NO:90)

Clon 2107.4.10 – CDR-H2 (Secuencia de Aminoácidos)

AISSGGSTYYNSAFKS (SEQ ID NO:91)

Clon 2107.4.10 – CDR-H3 (Secuencia de Aminoácidos)

HRPFYFDY (SEQ ID NO:92)

	CDR-H1	CDR-H2
1749.1.3_VH_pro	DVKLVESGGDLVKGPGSLKLSCAASGETFESSYIMSWVRQTPPEKRLIEWAN [*] TISSGGSSITYIPDSVKGRFTI 70	
h1749VH1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGETFESSYIMSWVRQAPFGKLEWVA [*] TISSGGSSITYIPDSVKGRFTI 70	
h1749VH2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGETFESSYIMSWVRQAPFGKRLIEWVA [*] TISSGGSSITYIPDSVKGRFTI 70	
U96282_VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGETFESSYIMSWVRQAPFGKLEWVA [*] NIKQDGSSEKYVDSVKGRFTI 70	
1749.1.3_VH_pro		
h1749VH1	SRDNAKNTLYLQMSIKSEDTAMYYCTFEDDDYDVKVEFAYWGQGTIVTSSA 120 (SEQ ID NO: 93)	
h1749VH2	SRDNAKNSLYLQMSIRAEEDTAVYYCTRDQDYDVKVEFAYWGQGTMTVSS 120 (SEQ ID NO: 94)	
U96282_VH	SRDNAKNSLYLQMSIRAEEDTAVYYCTRDQDYDVKVEFAYWGQGTMTVSS 120 (SEQ ID NO: 95)	
	SRDNAKNSLYLQMSIRAEEDTAVYYCTRDGALFGVSHI [*] WGQGTMTVSS 120 (SEQ ID NO: 96)	

FIG. 25A

	CDR-L1	CDR-L2
1749.1.3_VL_pro	DIVMSQSESSLAVSAGEKVTINCKSSRSLSLNSRIRKNYLA [*] WYQOKPGOSP [*] PKLLI [*] WASTRESGV [*] PDRETG 70	
h1749VL1	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSRSLSLNSRIRKNYLA [*] WYQOKPGOP [*] PKLLI [*] WASTRESGV [*] PDRETS 70	
h1749VL2	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSRSLSLNSRIRKNYLA [*] WYQOKPGOP [*] PKLLI [*] WASTRESGV [*] PDREFTG 70	
X02990_VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSI [*] LYSSDNKNYLA [*] WYQOKPGOP [*] PKLLI [*] WASTRESGV [*] PDRETS 70	
1749.1.3_VL_pro		
h1749VL1	SGSGTDFTLTISSVQAE [*] DLAVYYCKQSYNL-LTFGAGTKLEIK 112 (SEQ ID NO: 97)	
h1749VL2	SGSGTDFTLTISSIQAE [*] DVAVYYCKQSYNL-LTFGQGTKEIK 112 (SEQ ID NO: 98)	
X02990_VL	SGSGTDFTLTISSIQAE [*] DVAVYYCKQSYNL-LTFGQGTKEIK 112 (SEQ ID NO: 99)	
	SGSGTDFTLTISSIQAE [*] DVAVYYCKQSYNL [*] PTWTFGQGTVEIK 113 (SEQ ID NO: 100)	

FIG. 25B

	CDR-L1	CDR-L2
2107_L17-6_pro	DIQVTSLSLSASVGRVTINQKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID	DIQVTSLSLSASVGRVTINQKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID
h2107_VL1	DIQMISPSLSASVGRPVITITCKKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID	DIQMISPSLSASVGRPVITITCKKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID
h2107_VL2	DIQMISPSLSASVGRPVITITCKKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID	DIQMISPSLSASVGRPVITITCKKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID
h2107_VL3	DIQMISPSLSASVGRPVITITCKKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID	DIQMISPSLSASVGRPVITITCKKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID
086803_VL	DIQMISPSLSASVGRPVITITCKKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID	DIQMISPSLSASVGRPVITITCKKSONIKYKSLWFRINRNGAPKLLITYDANSIQTGIPSPFSGSGSGTID
2107_L17-6_pro	FTLITITSIQPEDVATVYQQQYVSG-YTFGAGTKLEIK 106 (SEQ ID NO: 109)	FTLITITSIQPEDVATVYQQQYVSG-YTFGAGTKLEIK 106 (SEQ ID NO: 109)
h2107_VL1	FTLITITSIQPEDVATVYQQQYVSG-YTFGAGTKVEIK 106 (SEQ ID NO: 110)	FTLITITSIQPEDVATVYQQQYVSG-YTFGAGTKVEIK 106 (SEQ ID NO: 110)
h2107_VL2	FTLITITSIQPEDVATVYQQQYVSG-YTFGAGTKVEIK 106 (SEQ ID NO: 111)	FTLITITSIQPEDVATVYQQQYVSG-YTFGAGTKVEIK 106 (SEQ ID NO: 111)
h2107_VL3	FTLITITSIQPEDVATVYQQQYVSG-YTFGAGTKVEIK 106 (SEQ ID NO: 112)	FTLITITSIQPEDVATVYQQQYVSG-YTFGAGTKVEIK 106 (SEQ ID NO: 112)
086803_VL	FTLITITSIQPEDVATVYQQKINSAPPLPFGGTVVEIK 107 (SEQ ID NO: 113)	FTLITITSIQPEDVATVYQQKINSAPPLPFGGTVVEIK 107 (SEQ ID NO: 113)

FIG. 26A

FIG. 26B

2120_4.19.6_VL_topo_pro	DIRNTQSPSILASVGDVRVITINCKASQNIYNSLAWYQOKLGGEPKVLINANSLOITIEPSRFSGSGSGCTD 70
h2120_VL1	DIQMTQSPFSSIASVGDVRVITITOKASQNIYNSLAWYQOKPKAKPKVLINANSLOITIEPSRFSGSGSGCTD 70
h2120_VL2	DIQMTQSPSSIASVGDVRVITITCKASQNIYNSLAWYQOKPKAKPKVLINANSLOITIEPSRFSGSGSGCTD 70
h2120_VL3	DIQMTQSPSSIASVGDVRVITINCKASQNIYNSLAWYQOKPKAKPKVLINANSLOITIEPSRFSGSGSGCTD 70
X84343_VL	DIQMTQSPSSIASVGDVRVITITCKASQNIYNSLAWYQOKPKAKPKVLINANSLOITIEPSRFSGSGSGCTD 70
2120_4.19.6_VL_topo_pro	FLTLTISSIQPEDFATYVQQQFYSG-YTFGAGTKLEIK 106 (SEQ ID NO: 120)
h2120_VL1	FLTLTISSIQPEDFATYVQQQFYSG-YTFGQGTKLEIK 106 (SEQ ID NO: 121)
h2120_VL2	FLTLTISSIQPEDFATYVQQQFYSG-YTFGQGTKLEIK 106 (SEQ ID NO: 122)
h2120_VL3	FLTLTISSIQPEDFATYVQQQFYSG-YTFGQGTKLEIK 106 (SEQ ID NO: 123)
X84343_VL	FLTLTISSIQPEDFATYVQQQSYSTFRSGQGTKLEIK 107 (SEQ ID NO: 124)

FIG. 27B

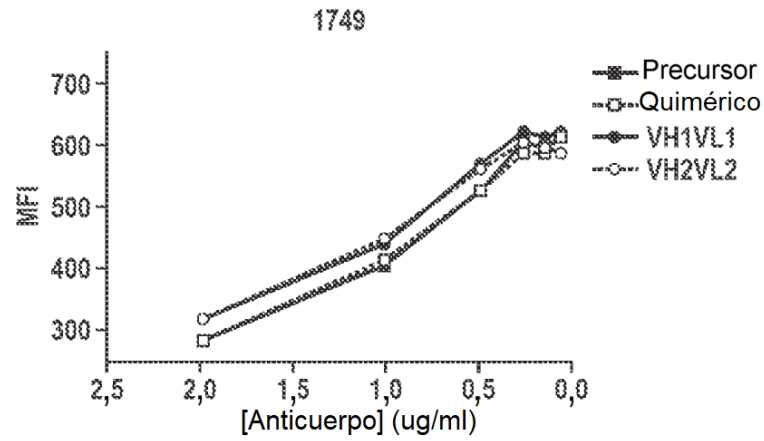


FIG. 28A

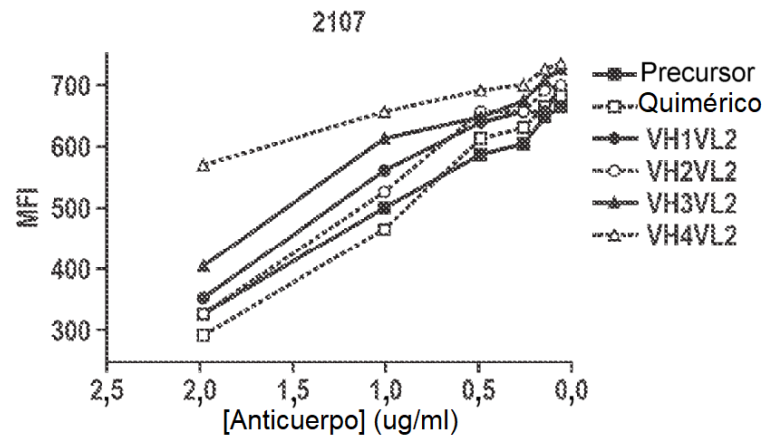


FIG. 28B

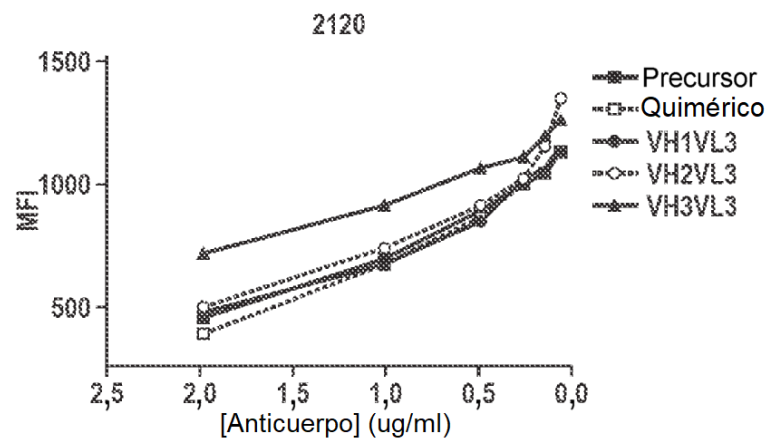


FIG. 28C

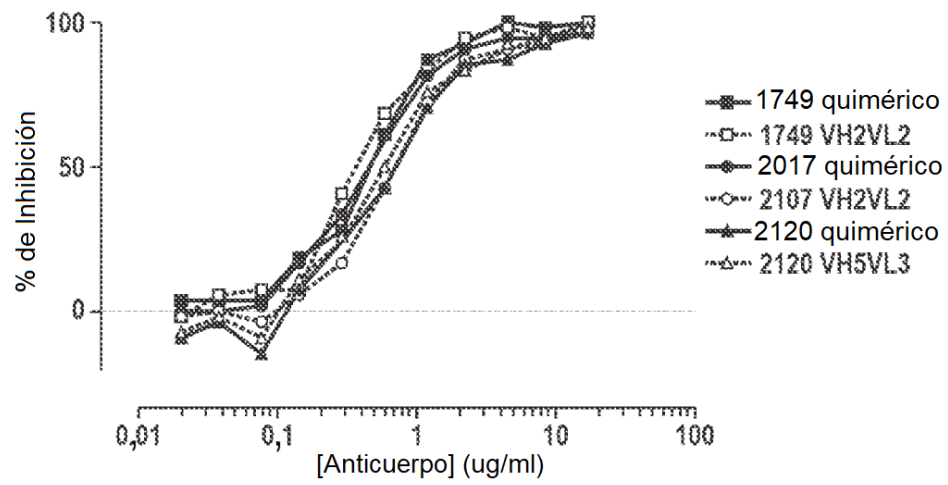


FIG. 29A

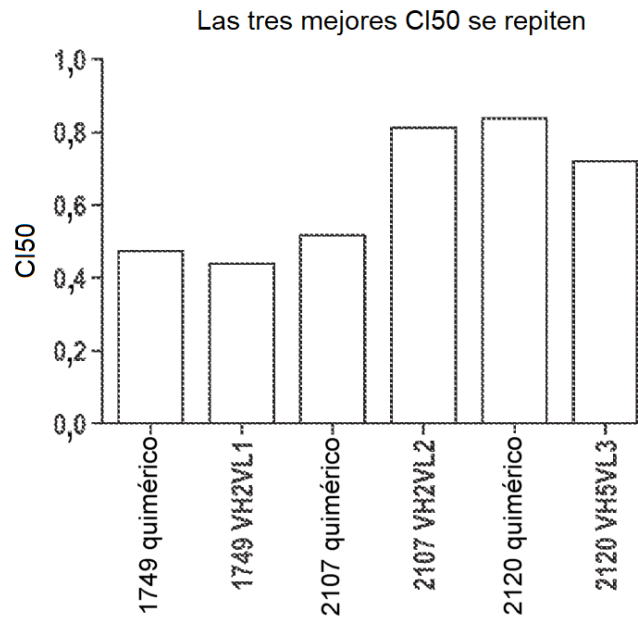


FIG. 29B

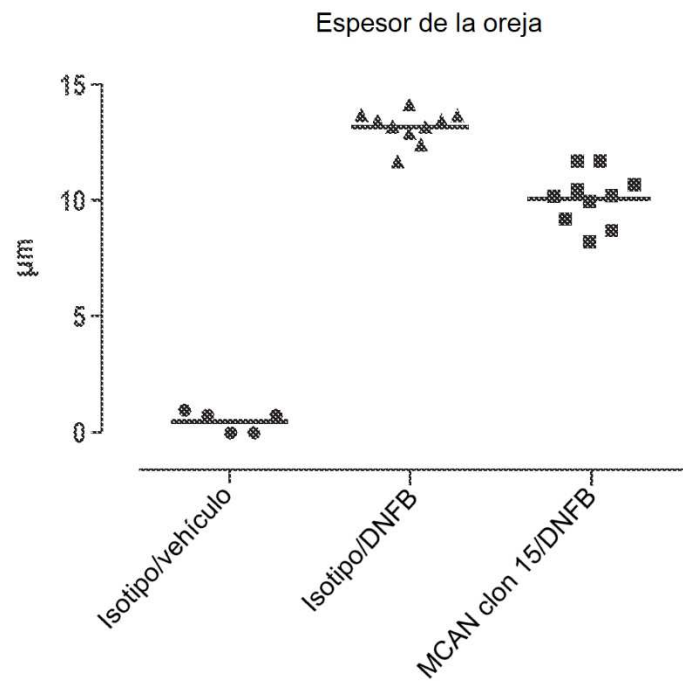


FIG. 30

