

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 726 539**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/06** (2006.01)  
**C07K 16/18** (2006.01)  
**C12N 5/0781** (2010.01)  
**C12N 15/13** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 37/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.01.2013 PCT/EP2013/050024**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.07.2013 WO13098419**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.01.2013 E 13700013 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2019 EP 2797952**

54 Título: **Método para proporcionar autoanticuerpos monoclonales con especificidad deseada**

30 Prioridad:

**28.12.2011 US 201161580837 P**  
**28.12.2011 EP 11195952**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.10.2019**

73 Titular/es:

**IMMUNOQUIRE AG (100.0%)**  
**Königsallee 90**  
**40212 Düsseldorf, DE**

72 Inventor/es:

**HAYDAY, ADRIAN;**  
**KROHN, KAI;**  
**RANKI, ANNAMARI;**  
**PETERSON, PÄRT;**  
**KISAND, KAI;**  
**STUART, EDWARD;**  
**MACAGNO, ANNALISA y**  
**ONUOHA, SHIMOB**

74 Agente/Representante:

**SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro**

ES 2 726 539 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

Método para proporcionar autoanticuerpos monoclonales con especificidad deseada

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos anticuerpos monoclonales humanos, así como a fragmentos, derivados y variantes de los mismos, que reconocen la interleucina 17 (IL-17). Asimismo, la presente invención se refiere a los anticuerpos para su uso en inmunoterapia de trastornos autoinmunitarios y autoinflamatorios, así como a tumores malignos. De manera más específica, la presente invención se refiere a autoanticuerpos monoclonales aislados de linfocitos B procedentes de sujetos afectados con una tolerancia o pérdida de autotolerancia central y/o periférica deteriorada, típicamente debida a una mutación en un gen implicado en la regulación inmunitaria.

15 **Antecedentes de la invención**

Las respuestas inapropiadas del sistema inmunológico pueden causar síntomas estresantes en el organismo implicado. Las respuestas inmunitarias exageradas contra sustancias extrañas o estados físicos, que generalmente no tienen ningún efecto significativo sobre la salud de un animal o de un ser humano, pueden provocar alergias con síntomas que van desde reacciones leves, tal como irritaciones de la piel, a situaciones que ponen en peligro la vida, tal como un choque anafiláctico o varios tipos de vasculitis. Las respuestas inmunitarias contra antígenos endógenos pueden causar trastornos autoinmunitarios tales como lupus eritematoso sistémico, anemia hemolítica idiopática autoinmunitaria, anemia perniciosa, diabetes mellitus de tipo 1, enfermedades de la piel con ampollas y diferentes tipos de artritis.

25 Las respuestas inmunitarias se producen de manera coordinada, implicando a varias células y requiriendo la comunicación mediante moléculas de señalización tales como las citocinas entre las células implicadas. Esta comunicación puede estar influenciada o inhibida, por ejemplo, por la intercepción de las señales o bloqueo de los receptores respectivos.

30 Las citoquinas son proteínas, péptidos y glicoproteínas solubles secretados que actúan como reguladores humorales a concentraciones de nanomolares a picomolares que se comportan como hormonas clásicas en el sentido de que actúan a nivel sistémico y que, en condiciones normales o patológicas, modulan las actividades funcionales de células y tejidos individuales. Las citocinas se diferencian de las hormonas en que no se producen por células especializadas organizadas en glándulas especializadas, es decir, no hay un solo órgano o fuente celular para estos mediadores, ya que se expresan prácticamente en todas las células implicadas en la inmunidad innata y adaptativa, tal como las células epiteliales, los macrófagos, las células dendríticas (CD), los linfocitos citolíticos naturales (NK, del inglés *natural killer*) y especialmente los linfocitos T, encontrándose, entre los más destacados, los linfocitos T auxiliares (Th, del inglés *T helper*). En este momento, las subclases de linfocitos Th1, Th2, Th17 y los linfocitos T reguladores inducidos (iTreg) se han definido dependiendo del espectro específico de las citocinas expresadas y de las respectivas respuestas inmunológicas moduladas por ellas.

45 A este respecto, los productos principales de citocinas de linfocitos Th1 son IFN-gamma, linfotóxina alfa e interleucina 2 (IL-2). Los linfocitos Th1 actúan como mediadores en las respuestas inmunitarias contra patógenos intracelulares y son responsables de algunas enfermedades autoinmunitarias (Mosmann et al., *Annu. Rev. Immunol.* 7 (1989), 145-173; Paul y Seder, *Cell* 76(1994), (241-251). Los linfocitos Th2 producen principalmente IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13, IL-25 y anfirregulina. Los linfocitos Th2 actúan como mediadores en las respuestas inmunitarias contra parásitos extracelulares y están implicados en la autoinmunidad y en alergias tales como asma, diabetes mellitus de tipo 1, esclerosis múltiple (EM) y artritis reumatoide (AR); véase, por ejemplo, Mosmann et al. (1989) y Paul y Seder, (1994), citados anteriormente.

50 Algunos linfocitos, tales como los subconjuntos de linfocitos T gamma delta y los linfocitos citolíticos naturales (NKT) producen las citocinas Th1 y Th2. Los principales productos de los linfocitos T reguladores inducidos (iTreg) son IL-10, IL-35, y TGF-beta. Los linfocitos iTreg están implicados en la inmunotolerancia, en la homeostasis de los linfocitos y en la regulación de las respuestas inmunitarias.

55 Los principales productos de citocinas de los linfocitos Th17 son IL-17 e IL-22; los linfocitos Th17 actúan como mediadores en respuestas inmunitarias contra bacterias y hongos extracelulares y también están implicados en la inflamación y en enfermedades autoinmunitarias tales como la psoriasis (Zhu y Paul, *Blood* 112 (2008), 1557-1569; Shevach, *Immunity* 25 (2006), (195-201). Este espectro de actividades patofisiológicas de producción de citocinas está muy en paralelo con los subconjuntos de linfocitos T gamma delta.

65 Dependiendo de sus respectivas funciones, las citocinas pueden clasificarse en tres categorías funcionales: regulación de respuestas inmunitarias innatas, regulación de respuestas inmunitarias adaptativas y estimulación de la hematopoyesis. Debido a sus actividades pleiotrópicas dentro de estas tres categorías, por ejemplo, en lo que concierne a la activación, proliferación, diferenciación, reclutamiento u otras respuestas fisiológicas celulares, por ejemplo, la secreción de proteínas características de la inflamación por parte de las células diana, se han encontrado

alteraciones de la señalización celular mediada por la producción de citocinas regulada de manera aberrante, como una causa de muchos trastornos asociados con respuestas inmunitarias defectuosas, por ejemplo, inflamación y cáncer. Son centrales en la inflamación y en enfermedades autoinmunitarias las citocinas IL-17A e IL-17F, IL-22, IL-12, IL-23 y los subtipos del IFN-alfa e IFN-omega. Excepto la IL-12, la IL-23 y los IFN, dichas citocinas se expresan mediante el subconjunto de linfocitos T efectoras Th17, que tienen funciones bien descritas en varios trastornos autoinmunitarios y alérgicos y en inmunología de tumores.

Las respuestas de Th17 no reguladas se asocian con inflamación crónica y con afecciones inmunopatológicas graves. Estudios realizados en modelos animales y en tejidos de pacientes afectados, han confirmado la participación de la ruta Th17 en enfermedades inflamatorias crónicas tales como acné vulgar; artritis, tal como artritis gotosa, lupus eritematoso sistémico (LES), artrosis, artritis psoriásica, artritis reumatoide (AR); asma; celiacía; enfermedad de Crohn (EC); prostatitis crónica; dermatitis (por ejemplo, dermatitis atópica); diabetes mellitus de tipo 1; glomerulonefritis; hipersensibilidad; miocarditis; esclerosis múltiple; enfermedades inflamatorias intestinales; enfermedad inflamatoria pélvica; polimiositis; psoriasis (PS); sarcoidosis; vasculitis; cistitis intersticial o inflamación producida debido a lesión por reperfusión o a rechazo de trasplante. La IL-17A induce la producción de citocinas proinflamatorias, quimiocinas y metaloproteínas de la matriz. Esto provoca la infiltración de células inflamatorias y la destrucción de la matriz extracelular. Además de la IL-17A, la citocina IL-17F relacionada, que puede heterodimerizarse con IL-17A, se ha implicado recientemente en la patogenia de la AR y la EC.

La IL-22, una tercera citocina relacionada con Th-17 (Zenewicz y Flavell, Eur. J. Immunol. 38 (2008), 3265-3268), es una citocina que actúa principalmente sobre las células epiteliales. En la piel, actúa como mediadora en la proliferación de queratinocitos y en la hiperplasia epidérmica y desempeña un papel central en enfermedades inflamatorias, tales como psoriasis. La IL-22 es un producto representativo de linfocitos Th17, otras células inmunitarias también la secretan a niveles funcionalmente significativos, especialmente los linfocitos citolíticos (NK) que expresan NKp44/NKp46 y las células inductoras de tejido linfoide después de la estimulación con IL-23. La interleucina-22 (IL-22) es un miembro de la familia de citocinas antiinflamatorias de IL-10 que actúa como mediador en la inmunidad epitelial. La expresión de IL-22 se potencia en la mucosa del colon inflamada en individuos con enfermedad inflamatoria intestinal. Cabe destacar que, para la comunicación entre las células inmunitarias la IL-22 no es necesaria. Actúa principalmente sobre las células epiteliales y, por ejemplo, sobre los hepatocitos, donde favorece la defensa antimicrobiana, la regeneración y la protección contra daños e induce reactantes de fase aguda y algunas quimiocinas (Wolk et al., Semin. Immunopathol. 32 (2010), (17-31).

La IL-23 es una citocina clave en la promoción de la inflamación crónica, secretada por células inflamatorias activadas como macrófagos y células dendríticas (para una revisión véanse Langrish et al., Immunological Reviews 202 (2004), 96-105; Ferraccioli y Zizzo, Discov. Med. 60 (2011), 413-24; y también Langrish et al., J. Exp. Med. 201 (2005), 233-40; Vaknin-Dembinsky et al., J. Neuroimmunol. 195 (2008), 140-145; Melis et al., Ann. Rheum. Dis. 69 (2010), (618-23). Inicialmente, se encontró que la IL-23 tenía un papel dando soporte a la expansión y mantenimiento de los linfocitos Th17 (Aggarwal et al., J. Biol. Chem. 278 (2003), 1910-1914; Weaver et al., Annu. Rev. Immunol. 25 (2007), (821-852). Sin embargo, se demostró que tenía múltiples efectos sobre la respuesta inmunitaria, incluida la restricción de la actividad (acumulación intestinal) de linfocitos T reguladores positivos para Foxp3 (Barnes y Powrie, Immunity 31 (2009), 401-411; Izcue et al., Immunity 28 (2008), 559-570; Ahern. Immunity 33 (2010), 279-88) y que inducía la expresión de citocinas de tipo Th17 de fuentes que no provenían de linfocitos T (Buonocore et al., Nature 464 (2010), 1371-1375; Morrison et al., Immunology 133 (2011), 397-408). Contribuye a la inflamación, por ejemplo, en la psoriasis y en enfermedades inflamatorias intestinales (véanse las publicaciones citadas anteriormente y Duvall et al., Ann. Med. 43 (2011), 503-511). La IL-23 se compone de dos subunidades, p19 y p40; la última subunidad se comparte con IL-12.

La IL-17A, La IL-22, la oncostatina M, el TNF-alfa y la IL-1 alfa, son potentes citocinas producidas por células inmunitarias y/o queratinocitos infiltrantes de la piel e inducen inflamación cutánea (Boniface et al., J. Immunol. 178 (2007), 4615-4622; Nograles et al., Br. J. Dermatol. 159 (2008), 1092-1102; Guilloteau et al., J. Immunol. 184 (2010), 5263-5270).

Enfoques terapéuticos recientes para las enfermedades inflamatorias crónicas, tales como la AR grave y la PS, implican el bloqueo del factor  $\alpha$  de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ). Aunque en algunos casos este método es sumamente eficaz, muchos pacientes son 'no respondedores'. Asimismo, una neutralización sostenida de TNF- $\alpha$  puede mejorar la susceptibilidad a infecciones microbianas, destacando la necesidad de enfoques terapéuticos alternativos y más específicos. Hasta el momento, la modulación de la función y/o diferenciación de los linfocitos Th-17 ha sido más exitosa con anticuerpos monoclonales contra IL-12 p40, que se dirigen tanto a IL-12 (un heterodímero de p35 y p40) como a IL-23 (un heterodímero de p19 y p40, un factor de crecimiento para los linfocitos Th17). Dichos anticuerpos, ustekinumab y ABT-874, que se dirigen a IL-12 p40, han tenido éxito en la psoriasis crónica en placas, de moderada a grave, y en la EC (Miossec et al., N. Engl. J. Med. 361 (2009), 888-898, Steinman, Nat. Immunol. 11 (2010), 41-44).

La forma más factible para controlar los efectos biológicos de los linfocitos Th17 y de células con propiedades relacionadas, por ejemplo, linfocitos T gamma delta productores de IL-17, sería dirigirlos a ellos y a una selección de las citocinas efectoras que producen. Este nuevo enfoque permitiría un bloqueo de IL-22 en PS, y de IL-17A (e IL-

17F) en AR y EC, dejando intactos los otros grupos no patógenos para combatir patógenos y, como en el caso de IL-22, para ejercer sus funciones reparadoras y antimicrobianas tisulares. También, en algunos respondedores iniciales, la eficacia de la farmacoterapia anti-TNF disminuye con el tiempo. Por lo tanto, los casos graves que no responden a monoterapia pueden requerir una terapia de combinación con dos o más fármacos biológicos. Se han desarrollado anticuerpos monoclonales contra IL-17A para su aplicación clínica. Se están realizando ensayos clínicos en Fase 2 de un anticuerpo monoclonal contra IL-17A (AIN457) para PS, EC y artritis psoriásica. Hasta el momento, se han ensayado inhibidores de IL-22 solo en modelos preclínicos de enfermedades autoinmunitarias (Miossec et al., N. Engl. J. Med. 361 (2009), 888-898, Steinman, Nat. Immunol. 11 (2010), 41-44).

Debido a las respuestas inmunológicas contra anticuerpos extraños, como anticuerpos de ratón en seres humanos (respuesta HAMA; Schroff et al., Cancer Res. 45 (1985), 879-885; Shawler et al., J. Immunol. 135 (1985), 1530-1535), se utilizan versiones principalmente humanizadas de anticuerpos en los enfoques terapéuticos actuales (Chan et Carter, Nature Reviews Immunology 10 (2010), 301-316; Nelson et al., Nature Reviews Drug Discovery 9 (2010), 767-774). Un enfoque para obtener dichos anticuerpos fue trasplantar las regiones determinantes de la complementariedad (CDR, del inglés *complementarity determining regions*) en una estructura completamente humana, un proceso conocido como humanización de anticuerpos (Jones et al., Nature 321 (1986), 522-525). Este enfoque a menudo se complica por el hecho de que la CDR de ratón no se transfiere fácilmente a una estructura de dominio variable humano, dando como resultado una menor afinidad del anticuerpo humanizado sobre su anticuerpo murino precursor. Por lo tanto, a menudo se requieren experimentos de mutagénesis adicionales y elaborados, para aumentar la afinidad de los anticuerpos diseñados de esta manera. Otro enfoque para obtener anticuerpos humanizados es inmunizar a ratones cuyos genes de anticuerpos innatos se hayan tenido que reemplazar con genes de anticuerpos humanos y aislar los anticuerpos producidos por estos animales. Sin embargo, este método aún requiere la inmunización con un antígeno, lo cual no es posible con todos los antígenos debido a la toxicidad de algunos de ellos. Asimismo, este método se limita a la producción de ratones transgénicos de una cepa específica.

Otro método es utilizar bibliotecas de anticuerpos humanos, tal como la presentación en fagos, como se describe, por ejemplo, en la solicitud internacional WO 2005/007699, para la generación de anticuerpos específicos para IL-13. En este caso, insertando un gen de anticuerpo humano en la población de fagos se diseñan bacteriófagos que presentan fragmentos de scFv/Fab humanos en su superficie. Por desgracia, este método presenta diversas desventajas, que incluyen la limitación de tamaño de la secuencia de proteínas para la presentación polivalente, la necesidad de secreción de las proteínas, es decir, fragmentos scFv / Fab de anticuerpos, de bacterias, los límites de tamaño de la biblioteca, el número limitado de posibles anticuerpos producidos y ensayados, una proporción reducida de anticuerpos con hipermutaciones somáticas producidas por inmunización natural y que todas las proteínas codificadas por fagos son proteínas de fusión, lo que puede limitar la actividad o accesibilidad para la unión de algunas proteínas. De manera similar, la solicitud de patente europea EP 0 616 640 A1 describe la producción de autoanticuerpos a partir de repertorios de segmentos de anticuerpos presentados en fagos. A este respecto, las fagotecas (bibliotecas de fagos) se generan a partir de seres humanos no inmunizados (véase por ejemplo, el Ejemplo 1 de la página 16, líneas 43-51; el Ejemplo 2 de la página 17, párrafo [0158], líneas 57-58). Sin embargo, los métodos descritos en esta solicitud de patente también presentan las desventajas generales, mencionadas anteriormente, de los anticuerpos generados a partir de fagotecas, en comparación con los anticuerpos producidos y madurados en un mamífero, es decir, en el cuerpo humano.

El documento WO2009/136286 desvela anticuerpos completamente humanos contra IL-17F que se obtuvieron por inmunización de ratones transgénicos que expresaban anticuerpos humanos con IL-17F humana. El anticuerpo ejemplar 15E6FK reconoce y neutraliza todas las IL-17F, IL-17A y el heterodímero IL-17A/F. En vista de lo anterior, sigue habiendo una necesidad de compuestos nuevos y adicionales como moléculas de unión de alta especificidad, que sean tolerables en seres humanos, ya sea para monoterapia o enfoques combinatorios.

Las realizaciones de la presente invención, tal como se caracteriza en las reivindicaciones, se desvela en la descripción y se ilustra en los ejemplos más adelante, solucionan este problema.

## Sumario de la invención

La presente invención se refiere a las realizaciones tal y como se caracterizan en las reivindicaciones y, en general, a anticuerpos de seres humanos afectados con una tolerancia o pérdida de autotolerancia central y/o periférica deteriorada, que puede deberse o asociarse a una génesis de autotolerancia desestabilizada o mal regulada, preferentemente causada por un trastorno autoinmunitario monogénico. Una fuente particularmente adecuada para los autoanticuerpos de acuerdo con la presente invención, son los seres humanos que tienen un trastorno asociado a una mutación en el gen *AIRE* (Regulador Autoinmune, del inglés *Autoimmune Regulator*) tal como el síndrome de poliendocrinopatía autoinmune de tipo 1 (APS1, del inglés *autoimmune polyendocrinopathy syndrome type 1*) (Peterson et al., Nat. Rev. Immunol. 8 (2008), 948-957).

La presente invención se basa generalmente en los hallazgos sorprendentes de que los pacientes con síndrome de poliendocrinopatía autoinmune de tipo 1 (APS1), proporcionan una fuente de autoanticuerpos monoclonales contra proteínas que, solas o en combinación, son responsables de y/o están asociadas a enfermedades autoinmunitarias o autoinflamatorias en las que las citocinas respectivas u otras moléculas, como se indicó anteriormente, están fuertemente implicadas en el inicio y mantenimiento de respuestas inmunitarias patógenas, tal como lupus eritematoso sistémico (LES), artritis, diabetes mellitus de tipo 1 (T1DM, del inglés *Type 1 Diabetes mellitus*) u otras,

como se indica con detalle anteriormente y más adelante en el presente documento.

La presente invención se refiere a anticuerpos monoclonales neutralizantes de alta afinidad contra IL-17F. Por lo tanto, se proporcionan anticuerpos monoclonales humanos (mAb o MAB, del inglés *monoclonal human antibodies*) contra IL-17F, que se describirán con detalle más adelante, procedentes de la respuesta inmunitaria humoral madurada naturalmente de un sujeto predeterminado, que se considera que son agentes terapéuticos inocuos y eficaces para trastornos en los que están implicadas las citocinas.

En particular, se proporcionan anticuerpos anti-IL-17F, así como fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que demuestran las características de unión inmunológica y/o las propiedades biológicas como se indica para los anticuerpos ilustrados en los Ejemplos. Cuando está presente, la expresión "características de unión inmunológica" u otras características de unión de un anticuerpo con un antígeno, en todas sus formas gramaticales, se refiere a la especificidad, afinidad, reactividad cruzada, y otras características de unión de un anticuerpo.

Naturalmente, la presente invención se extiende a líneas celulares productoras de anticuerpos y a células recombinantes. La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas, a ensayos de diagnóstico y a kits que comprenden los anticuerpos aislados de acuerdo con la presente invención y a métodos terapéuticos basados en ellos.

## Breve descripción de los dibujos

**Figura 1:** Capacidades neutralizantes *in vivo* de los anticuerpos recombinantes de la presente invención. **A:** Capacidades neutralizantes contra el heterodímero IL17A/IL-17F. La CI50 del anticuerpo recombinante 24D3 es de 6 ng/ml, siendo la del anticuerpo 17E3 de 12 ng/ml, utilizando 10 ng/ml de heterodímero IL17A/IL-17F. El anticuerpo recombinante 9A2 no es neutralizante a las concentraciones ensayadas. **B:** Capacidades neutralizantes contra IL17F. La CI50 del anticuerpo recombinante 24D3 es de 12 ng/ml, siendo la del anticuerpo 17E3 de 15 ng/ml y la del anticuerpo 9A2 de 45 ng/ml utilizando 10 ng/ml de IL17F.

**Figura 2:** Secuencias de aminoácidos de la región variable, es decir, cadena pesada y cadena ligera kappa/lambda (VH, VL) de los anticuerpos humanos específicos de IL-17A e IL17F de la presente invención. **A:** Anticuerpo 9A2 específico de IL-17F: IgG1, kappa (VH3; G1m17; VK1, Km3). **B:** Anticuerpo 17E3 específico de IL-17F e IL-17A: IgG1, kappa (VH1,

G1m17; VK1, Km3). **C:** Anticuerpo 24D3 específico de IL-17F: IgG1, lambda (VH3, G1m17; VL3). Las regiones estructurales (FR, del inglés *Framework*) y las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) se indican subrayando las CDR. Debido a la estrategia de clonación, la secuencia de aminoácidos en el extremo N de la cadena pesada y cadena ligera, puede contener posiblemente alteraciones inducidas por cebador en la FR1, que sin embargo no afectan sustancialmente a la actividad biológica del anticuerpo. Para proporcionar un anticuerpo humano consenso, las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos del clon original se alinean y ajustan de acuerdo con las secuencias pertinentes de la región variable de la línea germinal humana de las bases de datos; véase, por ejemplo, Vbase (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk>) que ofrece el MRC Centre for Protein Engineering (Cambridge, Reino Unido). Estudio *in vivo* de lesión psoriasisiforme con anti-IL22 y anti-IL17F + imiquimod. Protocolo experimental y cronograma de tratamiento con anticuerpos e imiquimod (IMQ) de ratones C57BL/6J. Edad de rasurado 9 semanas de vida, Control no tratado DOB: a las 10 semanas. **A:** Tablas que indican la composición del tratamiento de los cuatro grupos de animales. **B:** Cantidades del control y del anticuerpo anti-IL22 aplicadas a los animales. **C:** Cronograma experimental. Los experimentos respectivos se realizaron con el anticuerpo 24D3 anti-IL-17F. Vas = Vaselina

**Figura 4:** Resultados combinados de dos experimentos CytoEar independientes - las mediciones del grosor de la oreja a lo largo del tiempo muestran una reducción del fenotipo inducido de inflamación de oreja por IL17F, mediante inyecciones del anticuerpo 24D3, aIL-17, ejemplar de la presente invención. **(A)** Esquema de los resultados. **(B)** Experimentos de control - inyección de PBS. **(C)** Inducción de la inflamación mediante inyecciones de IL17A. **(D)** Inducción de la inflamación mediante inyecciones de IL17F - inducción reducida debido a inyecciones de 24D3. **(E)** muestra gráficas combinadas de las Figs. **B** y **C**. **(F)** muestra gráficas combinadas de las Figs. **B** y **D**. Se pudo observar una diferencia significativa (Día 8) en el grosor de la oreja entre los grupos **C** y **F** en ratones que recibieron IL-17F y tratados con IgG o 24D3 (**D**, **F**). **(D** y **F**) ANOVA bidireccional ns del Día 0 al Día 7 \*\*p<0,01 el Día 8. Las figuras **G-L** muestran los datos de las figuras correspondientes **A-F** después de la normalización a PBS. **(J** y **L**) ANOVA bidireccional: ns el Día 7; \*p<0,1 los Días 3-5; \*\*p<0,01 el Día 8; \*\*\*p<0,001 los Días 1 y 2.

**Figura 5:** Experimento CytoEar - Control del peso corporal de los animales ensayados para determinar la reducción del fenotipo de inflamación de oreja mediante tratamiento con el anticuerpo ejemplar 24D3

anti-IL-17 de la presente invención. (A) Esquema de resultados experimentales. (B) Los datos preliminares sugieren un posible efecto del tratamiento basado en una diferencia de peso observada en los grupos C y F.

5 **Figura 6:** Mapeo epitópico. Unión diferencial de los MAB IL-17 ejemplares de la presente invención a distintos sitios de unión. Los experimentos de competición cruzada muestran que los anticuerpos 17E3 y 24D3, anti-IL-17, compiten entre sí pero no contra el anticuerpo 9A2, lo que indica un sitio de unión diferente para este último. El anticuerpo 9A5 es un anticuerpo específico de MAGEA3 que no es reactivo con IL-17 y en el presente documento se utiliza como control negativo.

10 **Figura 7:** Resultados del análisis PepStar™ de las regiones de unión de los MAB a sus respectivos antígenos-IL17F. Se muestra la unión a péptidos de 20 unidades (solapamiento de 15 aminoácidos) aplicados en la micromatriz que cubre la IL-17F, incluidas todas las variantes conocidas, mostrándose la IL-17F de longitud completa en la última columna. La baja intensidad de señal observada con respecto a la unión con el antígeno de longitud completa no se correlaciona necesariamente con una ausencia de unión, ya que la baja intensidad de señal o la ausencia de señal también puede producirse debido a la orientación y al uso de lisinas de superficie para inmovilizar el antígeno. Sin embargo, la unión observada a la IL-17F de longitud completa sugiere una unión preferente de los anticuerpos ejemplares 24D3 (A), 9A2 (B) y 17E3 (C) a epítopos conformacionales. En el eje X se representan, de izquierda a derecha: Péptidos numerados de 1 a 23 y la IL-17F de longitud completa

15 **Figura 8:** Resultados del análisis basado en ProteOn XPR36 de afinidades de anticuerpos. Inyección de IL-22 e IL-17F, respectivamente en concentraciones de A1: 100 nM, A2 (33,33 nM), A3: 11,11 nM, A4: 3,70 nM, A5: 1,23 nM y A6: 0 nM (solo tampón corriente). Delante de los identificadores A1-A6 van los prefijos L1 a L6 (L1A1, etc.). Los datos se referenciaron utilizando las regiones entre las aplicaciones de la placa detectora.

#### Descripción detallada de la invención

30 La presente invención se refiere, en general, a anticuerpos anti-IL17 como se caracteriza en las reivindicaciones, que se han obtenido originalmente mediante un método de aislamiento de autoanticuerpos monoclonales con una especificidad antigénica deseada, en el que un linfocito B, que expresa el anticuerpo monoclonal, se aísla de una muestra obtenida de un mamífero que está afectado con una tolerancia o pérdida de autotolerancia central y/o periférica deteriorada, que es un trastorno típicamente asociado a una génesis de autotolerancia desestabilizada o mal regulada; véase el ejemplo 1.

35 Como se ilustra en los ejemplos, los autoanticuerpos de la presente invención reconocen preferentemente solo el antígeno humano o al menos preferencialmente el antígeno correspondiente de otras especies tales como ratones. Por lo tanto, en una realización de la presente invención, el anticuerpo es específico para el antígeno humano y preferentemente no reconoce sustancialmente el antígeno correspondiente de otra especie, tal como uno de origen murino, por ejemplo ratones en caso de un anticuerpo humano. Las características de unión tales como la especificidad y la afinidad de los anticuerpos de la presente invención se han ensayado en varios ensayos experimentales como se describe con detalle en los Ejemplos 8 y 9. A partir de datos experimentales *in vivo* podrían obtenerse indicaciones adicionales en los ensayos de potencial terapéutico de los anticuerpos ejemplares de la presente invención, por ejemplo, en la inflamación de la piel de tipo psoriasis inducida (Ejemplo 6) y en la inflamación de la oreja inducida (Ejemplo 7). En este sentido, la especificidad contra la IL-17F humana del anticuerpo ejemplar 24D3, anti-IL-17, de la presente invención, podría confirmarse por su efecto terapéutico observado en los experimentos de inflamación de oreja inducida por inyecciones de IL-17F humana y descritos en el Ejemplo 7, y por la ausencia de un efecto significativo en la inflamación de la piel de tipo psoriasis inducida por IMQ, como se muestra en el Ejemplo 6 (ningún efecto significativo sobre la inflamación mediada por la IL-17F murina). En comparación, un anticuerpo anti-IL-22 ejemplar de reactividad cruzada de ratón ha mostrado un efecto terapéutico en él, reduciendo los síntomas clínicos de las lesiones psoriasisiformes inducidas por IMQ.

40 Como se ha demostrado adicionalmente para los anticuerpos de la presente invención, son capaces de neutralizar la actividad biológica de su proteína diana. En este contexto, el término "neutralizante" significa que el anticuerpo de la presente invención es capaz de intervenir con la actividad biológica de su proteína diana en un ensayo bioquímico o basado en células, como puede evaluarse realizando el ensayo respectivo en presencia del anticuerpo objeto de la presente invención, en el que la actividad biológica de la proteína diana se reduce al mismo tiempo que aumenta el nivel del anticuerpo de la presente invención sometido al ensayo en comparación con la actividad biológica de la proteína sin la presencia del anticuerpo de la presente invención y en presencia de un compuesto, por ejemplo, un anticuerpo de control que se sabe que no afecta a la actividad biológica de la proteína diana. Dicho ensayo bioquímico e *in vitro* también puede realizarse utilizando un anticuerpo de referencia que se sabe que es capaz de neutralizar la actividad biológica de la proteína diana tal como se ha demostrado para el anticuerpo anti-IL-17 de la presente invención y sometiendo el anticuerpo candidato a la muestra de ensayo, en el que puede observarse un efecto neutralizante aditivo resultante de la actividad combinada del anticuerpo de referencia y candidato o se observa una competición del anticuerpo candidato y del anticuerpo de referencia que puede determinarse marcando

cualquiera de los anticuerpos. Por lo tanto, el anticuerpo de la presente invención obtenido mediante el método desvelado en el presente documento, es capaz de neutralizar la actividad biológica de IL-17.

5 Tal como se ha demostrado en los Ejemplos 4 y 6 adjuntos, se han identificado y clonado moléculas de unión, es decir, anticuerpos, que muestran actividad neutralizante *in vitro* particularmente alta con bajas concentraciones inhibitoras (CI50) para la citocina IL-17F sometida a ensayo. A este respecto, se proporcionan anticuerpos con una alta afinidad por sus respectivas moléculas diana, por ejemplo IL-17, que muestran una DE50 al concentraciones por debajo de 100 ng/ml, preferentemente por debajo de 10 ng/ml. Para más detalles con respecto a la afinidad de unión de los anticuerpos de la presente invención, véase, por ejemplo, el apartado "Características de unión" más adelante.

10 En la presente invención se indican ejemplos de dichas moléculas de unión, es decir, anticuerpos y fragmentos de unión de los mismos, que se caracterizan por que comprenden, en su región variable, es decir, dominio de unión, al menos la  $V_H$  y  $V_L$  de la región variable que comprende la secuencia de aminoácidos representada en la Figura 2 de (V<sub>H</sub>) (SEQ ID NO: 15, 23) y (V<sub>L</sub>) (SEQ ID NO: 17, 25) - véanse las secuencias ejemplares de las CDR subrayadas en la Fig. 2.

20 Por tanto, la presente se refiere, en general, a anticuerpos humanos y a fragmentos de unión a antígeno de los mismos, en el que el anticuerpo reconoce un epítipo conformacional en IL-17F y es capaz de neutralizar la actividad biológica de IL-17F, y el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende en su cadena variable pesada (V<sub>H</sub>, *variable heavy*) y en su cadena variable ligera (V<sub>L</sub>, *variable light*), la secuencia de aminoácidos de la cadena V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> de las SEQ ID NO: 15 y 17, respectivamente, o de las SEQ ID NO: 23 y 25, respectivamente.

25 Para proporcionar anticuerpos completamente humanos y fragmentos Fab nativos de los mismos, el anticuerpo humano de la presente invención comprende preferentemente además una región constante C<sub>H</sub> y/o C<sub>L</sub> que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos C<sub>H</sub> y C<sub>L</sub> expuestas en la Tabla 1 (SEQ ID NO: 11, 13, 19, 21, 27, 29) o una secuencia de aminoácidos derivada de las mismas con una identidad de al menos 60 %.

30 En caso de una secuencia derivada, dicha secuencia muestra una identidad de al menos 60 %, más preferentemente (en el siguiente orden) una identidad de al menos 70 %, de al menos 75 %, de al menos 80 %, de al menos 85 %, de al menos 90 %, y más preferentemente de 95 %, de al menos 96-99%, o incluso de 100%, con una secuencia del grupo que consiste en las secuencias mencionadas anteriormente e identificadas en el Listado de Secuencias. El porcentaje de identidad entre dos secuencias está en función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias, teniendo en cuenta el número de huecos, y la longitud de cada hueco, que necesita introducirse para obtener un alineamiento óptimo de las dos secuencias. Utilizando un algoritmo matemático, muy conocido por el experto la materia, puede realizarse la comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias. Las identidades a las que se hace referencia en el presente documento se determinarán utilizando los programas BLAST como se menciona más adelante en este documento.

40 Tal y como se ha explicado anteriormente, se proporcionan anticuerpos completamente humanos para aplicaciones terapéuticas. Un fragmento de unión a antígeno del anticuerpo puede ser, por ejemplo, un fragmento Fv monocatenario (scFv, del inglés *single chain Fv*), un fragmento F(ab'), un fragmento F(ab) o un fragmento F(ab')<sub>2</sub>.

45 Como se menciona en una realización preferida, la presente invención se refiere a anticuerpos que son sustancialmente completamente humanos, preferentemente IgG que incluye al menos la cadena pesada constante I (C<sub>H</sub>1) y la cadena ligera correspondiente de la región constante, es decir,  $\gamma$ -1,  $\gamma$ -2,  $\gamma$ -3 o  $\gamma$ -4 en combinación con lambda o kappa. En una realización particular preferida, las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de esas regiones constantes aisladas de los anticuerpos objeto ilustrados en los Ejemplos, se utilizan como se muestra en la Tabla 1 a continuación y en las SEC ID NO: 10-13, 18-21 y 26-29.

50 De acuerdo con lo anterior, en una realización, la presente invención también proporciona un polinucleótido que codifica al menos la región variable de una cadena de inmunoglobulina del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la presente invención. Normalmente, dicha región variable codificada por el polinucleótido comprende al menos una región determinante de la complementariedad (CDR) de la  $V_H$  y/o  $V_L$  de la región variable de dicho anticuerpo. Las regiones variables y constantes de los anticuerpos se describen más adelante con más detalle en el apartado "Estructura de IgG". En una realización preferida de la presente invención, el polinucleótido comprende, consiste esencialmente en, o consiste en, un ácido nucleico que tiene una secuencia polinucleotídica de la región  $V_H$  o  $V_L$  de un anticuerpo de la presente invención como se representa en la Tabla 1 a continuación. A este respecto, el experto en la materia apreciará fácilmente que los polinucleótidos que codifican al menos el dominio variable de la cadena ligera y/o pesada pueden codificar el dominio variable de cualquiera de las cadenas de inmunoglobulina o solo una de ellas.

65

**Tabla 1: Secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de las regiones variables y constantes (V<sub>H</sub>, V<sub>L</sub>, C<sub>H</sub>, do<sub>L</sub>) de los anticuerpos específicos de IL-17A e IL17F de la presente invención.**

<p>anticuerpo 9A2 específico de IL-17F: IgG1, kappa (V<sub>H</sub>3; G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 17E3 específico de IL-17F e IL-17A: IgG1, kappa (V<sub>H</sub>1, G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 24D3 específico de IL-17F: IgG1, lambda (V<sub>H</sub>3, G1m17; VL3). Los nucleótidos o aminoácidos subrayados y en negrita, indican las regiones codificantes de <b>CDR</b> en la secuencia de cadena variable. Los nucleótidos subrayados y en cursiva indican secuencias en las secuencias de cadena constante que no se han secuenciado pero que se han <i>obtenido de bases de datos</i>.</p>	
Anticuerpo	Secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de las cadenas variable pesada (V <sub>H</sub> ) y variable ligera (V <sub>L</sub> ), pesada constante (C <sub>H</sub> ) y ligera constante (C <sub>L</sub> ).
9A2-V <sub>H</sub>	<p>GAGGTGCAATTGGAGGAGTCTGGCGGAGGCTTGGTTTCAGCCTGGAGGGTCCCT  GAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCCCCTTCAGCA<b>ACTATGAAATGAAT</b>  GGGTCCGCCAGGCTCCCGGAAGGGACTGGAGTGGATTT<b>CATACATTAGTGTG</b>  <b>AGCGGTGGTCCCGCTCACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATTT</b>  CAGAGACGACGCCACAAAGTCACTGTTTTCTGCAAATGAACCGCTGAGAGCCG  ACGACACGGCAGTTTATTACTGTGTGCGC<b>CGCGAATATGTCACTGGCCGCAAT</b>  <b>TACAACACTACCCCTACATGGACGTC</b>TTGGGGCACTGGGACCACGGTCACCGT  CTCCCA SEQ ID NO:6</p>
9A2-V <sub>H</sub>	<p>EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFS<b>NYEMN</b>WVRQAPGKLEWIS<b>YISV</b>  <b>SGGPAHYADSVKGRFT</b>ISRDDATKSLFLQMNRLRADDTAVVY<b>CVRREYVTGRN</b>  <b>YNYYPYMDVWGTGTTVTVSP</b> SEQ ID NO:7</p>
9A2-V <sub>L</sub> de tipo kappa	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCGTCCTCCCTGTCTGCTTCTGTTGGGGACAG  AGTCACCATCACTTGC<b>CGGGCAAGTCAGACCATAAGTGATTATTTAAAT</b>TGGT  ACCAGCACAAACCAGGGGAAGCCCTAAACTCCTAATCTAT<b>CTGCATCCACC</b>  <b>TTGCAACGT</b>GGGGTGCCTTACCGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTT  CGTTTTACCATTAGTAGTCTGCAGTCTGATGATTTTGC<b>ACTTACTACTGTC</b>  <b>AAAGACTTCCAGTACCGCCCTCACT</b>TTCGGCGAGGGACCAAGGTGGAGGTC  AAA SEQ ID NO:8</p>
9A2-V <sub>L</sub> de tipo kappa	<p>DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC<b>CRASQTISDYL</b>NWYQHKPGEAPKLLI<b>YSAST</b>  <b>LQ</b>RGVPSRFSGSGSGTDFVFTISSLQSDDFATY<b>YCCQTSSTAL</b>TFGGGTKVEV  K SEQ ID NO:9</p>
9A2-C <sub>H</sub>	<p>GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCAC  CTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC  CGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTC  CCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT  GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC  CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAAC</p>
	<p>CACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCTGGGGGGACCGTCAGTCTT  CCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGG  TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC  TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA  GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGG  ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA  GCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA  GGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCC  TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  AGCAATGGGCAGCCGAGAAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTC  CGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC  AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC  TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA SEQ ID NO:10</p>

ES 2 726 539 T3

<p>anticuerpo 9A2 específico de IL-17F: IgG1, kappa (VH3; G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 17E3 específico de IL-17F e IL-17A: IgG1, kappa (VH1, G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 24D3 específico de IL-17F: IgG1, lambda (VH3, G1m17; VL3). Los nucleótidos o aminoácidos subrayados y en negrita, indican las regiones codificantes de <b>CDR</b> en la secuencia de cadena variable. Los nucleótidos subrayados y en cursiva indican secuencias en las secuencias de cadena constante que no se han secuenciado pero que se han <i>obtenido de bases de datos</i>.</p>	
Anticuerpo	Secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de las cadenas variable pesada (VH) y variable ligera (VL), pesada constante (CH) y ligera constante (CL).
9A2-C <sub>H</sub>	<p>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  PAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKT  HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN  WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE  SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNH  YTQKSLSLSPGK SEQ ID NO:11</p>
9A2-C <sub>L</sub> de tipo kappa	<p>CGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT  GAAATCTGGAAGTGCCTCTGTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAG  AGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG  GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCAC  CCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAG  TCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAG  TGTTAG SEQ ID NO:12</p>
9A2-C <sub>L</sub> de tipo kappa	<p>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNRFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE  C SEQ ID NO:13</p>
17E3-V <sub>H</sub>	<p>CAGGTGCAACTGGTCCAGTCTGGGGCTGAAGTGGCGAAGCCTGGGGCCTCAGT  GAGACTTTCCTGCAAGGCGTCTGGATTAGTTTATCAAGTATTATATGCACT  GGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGGTTCATCGAGCCC  <b>ACCGGTGGTGGCACAAGCTCCGCACAGAAGTTCGAGACAGAGTCACCCTGAG</b>  CAGGGACACGTCCACGGCCACTGTCCATTTGGAAGTGAAGTAGGCTGACTCTTG  AGGACACGGGCATTTATTTCTGTGTGAGAGACTCCATATATTGTAACATGGG  <b>ACCTGTTCATCGGACTGTGATCGATGCTTTTGGACATTTGGGGCCAAGGGACGGC</b>  GGTCACCGTCTCTTCA SEQ ID NO:14</p>
17E3-V <sub>H</sub>	<p>QVQLVQSGAEVAKPGASVRLSCKASGFSFI <b>KYYMH</b>WVRQAPGQGLEWMGV<b>IEP</b>  <b>TGGGTSSAQKFR</b>DRVTL SRDTSTATVHLEVSRLTLEDTG IYFCVR<b>DSIYCKHG</b>  <b>TCHRTVIDAFDI</b>WGQGTAVTVSS SEQ ID NO:15</p>
17E3-V <sub>L</sub> de tipo kappa	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCAGTAGGAGACCG  AGTCACCATCACTTGCCGGTCAAGTCAGGACATAAAAAATGATTTAGCCTGGT  ATCAGCAGAAGCCAGGAAAAGCCCTGAGCGCCTGATCTATGCTGCATCCAAT  <b>TTGCAGAGTGGGGTCCCATCAAGGTTAGCGGCAGTGGCTCTGGGACAGAATT</b>  CAGTCTTACAATCAGTGGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGAACCTTATTACTGTC  <b>TACAGCATAATAGTTACCTCTGCTCACTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAG</b>  ATCAAA SEQ ID NO:16</p>
17E3-V <sub>L</sub> de tipo kappa	<p>DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRSSQDIKNDLAWYQQKPKAPERLIYAASN  <b>LQ</b>SGVPSRFSGSGSGTEFSLTISGLQPEDFATY<b>YCLQHN</b>S<b>YPL</b>LTFFGGG<b>TKVE</b>  IK SEQ ID NO:17</p>
17E3-C <sub>H</sub>	<p>GCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCAC  CTCTGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC  CGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC</p>

ES 2 726 539 T3

<p>anticuerpo 9A2 específico de IL-17F: IgG1, kappa (VH3; G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 17E3 específico de IL-17F e IL-17A: IgG1, kappa (VH1, G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 24D3 específico de IL-17F: IgG1, lambda (VH3, G1m17; VL3). Los nucleótidos o aminoácidos subrayados y en negrita, indican las regiones codificantes de <b>CDR</b> en la secuencia de cadena variable. Los nucleótidos subrayados y en cursiva indican secuencias en las secuencias de cadena constante que no se han secuenciado pero que se han <i>obtenido de bases de datos</i>.</p>	
Anticuerpo	Secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de las cadenas variable pesada (VH) y variable ligera (VL), pesada constante (CH) y ligera constante (CL).
	<p>CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT  GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC  CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC  CACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCTGGGGGGACCGTCAGTCTT  CCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG  TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC  TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAGCCGCGGGAGGA  GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAGG  ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA  GCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA  GGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCC  TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  AGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTC  CGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC  AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC  TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA SEQ ID NO:18</p>
17E3-C <sub>H</sub>	<p>ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF  PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT  HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN  WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  APIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE  SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSVCSVMHEALHNH  YTQKSLSLSPGK SEQ ID NO:19</p>
17E3-C <sub>L</sub> de tipo kappa	<p>CGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT  GAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAG  AGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAG  GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCAC  CCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAG  TCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAG  TGTTAG SEQ ID NO:20</p>
17E3-C <sub>L</sub> de tipo kappa	<p>RTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ  ESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE  C SEQ ID NO:21</p>
24D3-V <sub>H</sub>	<p>GAGGTGAAGTTGGAGGAGTCTGGGGGAGACCTGGTAAAGCCTGGGGGGTCTCT  TAGACTCTCCTGTGTAGCCTCTGGATTCACTTTCGGC<b>ACCGCCTGGATGAGCT</b>  GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTGGC<b>CGTATTAGCAAC</b>  <b>AAAGACACTGGTGGGAGAATAGACTACGCCGCACCCGTGAGAGGCAGATT</b>CGC  CATCTCAAGAGATGATTGAAAGCCACCCTGTTTCTGCAAAATGAACAGCCTGA  AAACCGAGGACACAGCCGTGTATTTTTGTACTACA<b>AAATTTTACGATGTTTTG</b>  <b>ACTGGTGATCATGTTGACTATT</b>GGGGCCAGGGAACCGTGGTCGTCGTCCTCCTC  A SEQ ID NO:22</p>

ES 2 726 539 T3

<p>anticuerpo 9A2 específico de IL-17F: IgG1, kappa (VH3; G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 17E3 específico de IL-17F e IL-17A: IgG1, kappa (VH1, G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 24D3 específico de IL-17F: IgG1, lambda (VH3, G1m17; VL3). Los nucleótidos o aminoácidos subrayados y en negrita, indican las regiones codificantes de <b>CDR</b> en la secuencia de cadena variable. Los nucleótidos subrayados y en cursiva indican secuencias en las secuencias de cadena constante que no se han secuenciado pero que se han <i>obtenido de bases de datos</i>.</p>	
Anticuerpo	Secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de las cadenas variable pesada (VH) y variable ligera (VL), pesada constante (CH) y ligera constante (CL).
24D3-V <sub>H</sub>	<p><b><u>E</u>VKLEESGGDLVKPGGSLRLSCVASGFTFG<b><u>TAWMS</u></b>WVRQAPGKGLEWVGRIS<b><u>N</u></b>  <b><u>KDTGGRIDYAAPVRGR</u></b>FAISRDDS<b><u>KATLFLQMN</u></b>SLKTEDTAVYFCT<b><u>TNFDVL</u></b>  <b><u>TGDHVDYWGQGTVVVSS</u></b> SEQ ID NO:23</b></p>
24D3-V <sub>L</sub> de tipo lambda	<p>TCCTATGAGCTGACACAGCCACCCTCGGTGTCAGTGTCCCAGGAGAGACGGC  CAGGATCCCCTGCT<b><u>CCTGGAGAAACATTGCCAAAGAACTTGT</u></b>TTATTGGTATC  AGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTATTGATGATTTATA<b><u>AAAGACAGTGAGAGG</u></b>  <b><u>CCCTC</u></b>ACGAATATCTGAGCGATTCTCTGGCTCCA<b><u>ACTCAGGGACAATGGCCTC</u></b>  CTTGACCATCAGTGGAGTCCAGGCAGAAGACGAGGCTGACTATTACTGT<b><u>CAAA</u></b>  <b><u>CATCAGACAGCAGTGGTGTGGT</u></b>TTTCGGCGGAGGGACCAAGTTGACCGTCTTA  SEQ ID NO:24</p>
24D3-V <sub>L</sub> de tipo lambda	<p>SYELTQPPSVSVSPGETARIP<b><u>CSGETLPK</u></b>KL<b><u>VY</u></b>WYQKPGQAPV<b><u>LMIYKDSER</u></b>  <b><u>PSRI</u></b>SERFSGSNSGT<b><u>MASLTISGVQA</u></b>EDEADY<b><u>YCQTS</u></b><b><u>DS</u></b>SG<b><u>VV</u></b>FGGGT<b><u>KLTVL</u></b>  SEQ ID NO: 25</p>
Anticuerpo	Secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de las cadenas variable pesada (VH) y variable ligera (VL), pesada constante (CH) y ligera constante (CL).
24D3-C <sub>H</sub>	<p>GCCTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCAC  CTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAAC  CGGTGACGGTGTCTGTGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTC  CCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT  GCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC  CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAA<b><u>ACT</u></b>  CACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCTGGGGGGACCGTCAGTCTT  CCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGG  TCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC  TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA  GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGT<b><u>CAGCGT</u></b>CCTCACCGTCTGCACCAGG  ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCA  GCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA  GGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGT<b><u>CAGCC</u></b>  TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG  AGCAATGGGCAGCCGGAGAACA<b><u>ACTACAAGACCACGCCTCCCGT</u></b>GCTGGACTC  CGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC  AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC  TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA SEQ ID NO:26</p>
24D3-C <sub>H</sub>	<p>ASTKGPSVFLPAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTF  PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKKVEPKSCDKT  HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI<b><u>SRTPEV</u></b>TCVVVDVSHEDPEVKFN  WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  APIEKTI<b><u>S</u></b>KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE  SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV<b><u>FSC</u></b>VMHEALHNH  YTQKSLSLSPGK SEQ ID NO:27</p>

<p>anticuerpo 9A2 específico de IL-17F: IgG1, kappa (VH3; G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 17E3 específico de IL-17F e IL-17A: IgG1, kappa (VH1, G1m17; VK1, Km3). anticuerpo 24D3 específico de IL-17F: IgG1, lambda (VH3, G1m17; VL3). Los nucleótidos o aminoácidos subrayados y en negrita, indican las regiones codificantes de <b>CDR</b> en la secuencia de cadena variable. Los nucleótidos subrayados y en cursiva indican secuencias en las secuencias de cadena constante que no se han secuenciado pero que se han <u>obtenido de bases de datos</u>.</p>	
Anticuerpo	Secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de las cadenas variable pesada (VH) y variable ligera (VL), pesada constante (CH) y ligera constante (CL).
24D3-C <sub>L</sub> de tipo lambda	<p>GGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGA  GCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGG  GAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGCGGGAGTG  GAGACCACCACACCCTCCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTA  TCTGAGCCTGACGCTGAGCAGTGGAAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGG  TCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCTACAGAATGTTCA  TAG SEQ ID NO: 28</p>
24D3-C <sub>L</sub> de tipo lambda	<p>GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV  ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRYSQVTHEGSTVEKTVAPTECS  SEQ ID NO: 29</p>

El experto en la materia apreciará fácilmente que el dominio variable del anticuerpo que tiene el dominio variable descrito anteriormente puede utilizarse para la construcción de otros polipéptidos o anticuerpos de especificidad y función biológica deseadas. El experto en la materia apreciará fácilmente que utilizando los dominios variables o CDR descritos en el presente documento, pueden construirse anticuerpos de acuerdo con métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, como se describe en las solicitudes de patente europea EP 0 451 216 A1 y EP 0 549 581 A1. Asimismo, el experto en la materia sabe que la afinidad de unión puede mejorarse realizando sustituciones de aminoácidos en las CDR o en los bucles hipervariables (Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196 (1987), 901-917) que se superponen parcialmente con las CDR definidas por Kabat.

El polinucleótido de la invención que codifica el anticuerpo descrito anteriormente puede ser, por ejemplo, ADN, ADNc, ARN o ADN o ARN producido de manera sintética o una molécula de ácido nucleico quimérico producida de manera recombinante que comprende cualquiera de esos polinucleótidos, ya sea en solitario o en combinación. En una realización preferida, se proporciona un vector que comprende el polinucleótido anterior, opcionalmente en combinación con dicho polinucleótido que codifica la región variable de la otra cadena de inmunoglobulina de dicho anticuerpo. Dichos vectores pueden comprender genes adicionales tales como genes marcadores que permiten la selección de dicho vector en una célula hospedadora adecuada y en condiciones adecuadas.

Preferentemente, el polinucleótido de la invención está unido operativamente a secuencias de control de expresión que permiten la expresión en células procariontas o eucariotas. La expresión de dicho polinucleótido comprende la transcripción del polinucleótido en un ARNm traducible. Los expertos en la materia conocen elementos reguladores que garantizan la expresión en células eucariotas, preferentemente en células de mamífero. Habitualmente comprenden secuencias reguladoras que garantizan el inicio de la transcripción y, opcionalmente, señales poli-A que garantizan la terminación de la transcripción y la estabilización de la transcripción. Los elementos reguladores adicionales pueden incluir potenciadores transcripcionales y traduccionales, y/o regiones promotoras heterólogas o asociadas de forma natural.

A este respecto, el experto en la materia apreciará fácilmente que los polinucleótidos que codifican al menos el dominio variable de la cadena ligera y/o pesada, pueden codificar los dominios variables de ambas cadenas de inmunoglobulina o solo una cadena.

De la misma manera, para la expresión, dichos polinucleótidos pueden estar bajo el control del mismo promotor o pueden controlarse por separado. Posibles elementos reguladores que permiten la expresión en células hospedadoras procariontas comprenden, por ejemplo, los promotores P<sub>L</sub>, lac, trp o tac en *E. coli*, y son ejemplos de elementos reguladores que permiten la expresión en células hospedadoras eucariotas el promotor AOX1 o GAL1 en levadura o los promotores de CMV, SV40, RSV, el potenciador de CMV, el potenciador de SV40 o un intrón de globina en células de mamífero y en otras células animales.

Además de los elementos que son responsables del inicio de la transcripción, dichos elementos reguladores también pueden comprender señales de terminación de la transcripción, como el sitio de poli A SV40 o el sitio de poli A tk, cadena abajo del polinucleótido. Asimismo, dependiendo del sistema de expresión utilizado, a la secuencia codificante del polinucleótido de la invención, pueden añadirse secuencias líder capaces de dirigir el polipéptido a un compartimento celular o secretarlo en el medio, siendo dichas secuencias muy conocidas en la técnica. La

5 secuencia, o secuencias, líder se ensamblan en la fase apropiada con secuencias de traducción, de iniciación y de terminación, y preferentemente, una secuencia líder capaz de dirigir la secreción de proteína traducida, o una parte de la misma, en el espacio periplasmático o medio extracelular. Opcionalmente, la secuencia heteróloga puede codificar una proteína de fusión que incluye un péptido de identificación C o N-terminal que confiere características deseadas, por ejemplo, estabilización o purificación simplificada del producto recombinante expresado. En este contexto, en la técnica se conocen vectores de expresión adecuados tales como los vectores de expresión de ADNc de Okayama-Berg pcDV1 (Pharmacia), pCDM8, pRc/CMV, pcDNA1, pcDNA3 (Invitrogen), o pSPORT1 (GIBCO BRL).

10 Preferentemente, las secuencias de control de expresión serán sistemas promotores eucariotas en vectores capaces de transformar o transfectar células hospedadoras eucariotas, pero también pueden utilizarse secuencias de control para hospedadores procariotas. Una vez que el vector se ha incorporado en el hospedador apropiado, el hospedador se mantiene en condiciones adecuadas para la expresión de alto nivel de las secuencias de nucleótidos, y, según se desee, para la recogida y purificación de las cadenas ligeras, cadena pesadas, dímeros de cadenas ligeras/pesadas o anticuerpos intactos de inmunoglobulina, fragmentos de unión u otras formas de inmunoglobulina que pueden aparecer más adelante; véase, Beychok, Cells of Immunoglobulin Synthesis, Academic Press, N.Y., (1979).

20 Asimismo, la presente invención se refiere a vectores, particularmente plásmidos, cósmidos, virus y bacteriófagos, utilizados convencionalmente en ingeniería genética, que comprenden un polinucleótido que codifica el antígeno o preferentemente un dominio variable de una cadena de inmunoglobulina de un anticuerpo de la invención; opcionalmente en combinación con un polinucleótido de la invención que codifica el dominio variable de la otra cadena de inmunoglobulina del anticuerpo de la invención. Preferentemente, dicho vector es un vector de expresión y/o un vector de transferencia o de direccionamiento de genes.

25 Los vectores de expresión derivados de virus, tales como, retrovirus, virus de la variolovacuna, virus adenoasociados, virus del herpes o virus del papiloma bovino, pueden utilizarse para el suministro de los polinucleótidos o vectores de la invención en la población de células diana. Para construir vectores víricos recombinantes pueden utilizarse métodos que los expertos en la materia conocen bien; véanse, por ejemplo, las técnicas descritas en Sambrook, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. y en Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates y Wiley-Interscience, N. Y. 1994).  
30 Como alternativa, los polinucleótidos y vectores de la invención pueden reconstituirse en liposomas para el suministro a células diana. Los vectores que contienen los polinucleótidos de la invención (por ejemplo, el dominio, o dominios, variable de cadena pesada y/o ligera de las secuencias que codifican las cadenas de inmunoglobulina y las secuencias de control de expresión) pueden transferirse a la célula hospedadora mediante métodos bien conocidos, que varían dependiendo del tipo de hospedador celular. Por ejemplo, normalmente, en las células procariotas se utiliza la transfección con cloruro de calcio, mientras que para la transformación de otros hospedadores celulares, puede utilizarse el tratamiento con fosfato de calcio o la electroporación; véase Sambrook, citado anteriormente.

40 Con respecto a lo anterior, la presente invención se refiere asimismo a una célula hospedadora que comprende dicho polinucleótido o vector. Dicha célula hospedadora puede ser una célula procariota o eucariota. El polinucleótido o vector de la invención que está presente en la célula hospedadora puede estar integrado en el genoma de la célula hospedadora o puede mantenerse de manera extracromosómica. La célula hospedadora puede ser cualquier célula procariota o eucariota, tal como una célula bacteriana, de insecto, fúngica, vegetal, animal o de ser humano; las células hospedadoras adecuadas y los métodos para la producción de los anticuerpos de la presente invención se describen más adelante con más detalle en el apartado "Células hospedadoras".

50 Las moléculas de unión, los anticuerpos o fragmentos de los mismos, pueden utilizarse como un producto terapéutico. Sin embargo, en una realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que proporciona la presente invención, está marcado de forma detectable o unido a un fármaco, en el que el marcador detectable se selecciona del grupo que consiste en una enzima, un radioisótopo, un fluoróforo, un péptido y un metal pesado. Los anticuerpos marcados o los fragmentos de unión a antígeno de la presente invención, pueden utilizarse para detectar dianas específicas *in vivo* o *in vitro*, incluidos los ensayos de tipo "inmunoquímica/inmunomarcaje" *in vitro*.  
55 Estas técnicas pueden utilizarse *in vivo* de una manera que es similar a la de las técnicas de obtención de imágenes utilizadas en medicina nuclear para detectar tejidos, células u otro material que exprese el antígeno de interés. Más adelante en el apartado "marcadores y diagnósticos", se describen con más detalle marcadores, su uso en diagnósticos y su acoplamiento a las moléculas de unión de la presente invención.

60 Por otra parte, la presente invención también se refiere a composiciones que comprenden el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, el polinucleótido, el vector o la célula, mencionados anteriormente. En una realización, la composición es una composición farmacéutica y comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables, las vías de administración y el régimen de dosificación, pueden tomarse de la bibliografía correspondiente conocida por el experto en la materia y se describen también con más detalle, más adelante, en los apartados "Vehículos farmacéuticos" y "Régimen de dosificación".

65 Además de los ensayos *in vitro* basados en células y bioquímicos, la utilidad terapéutica del anticuerpo de la

presente invención, puede validarse en modelos animales apropiados, tales como para la psoriasis, la EII, la candidiasis; véanse los ejemplos 5 y 6, y para el modelo de enfermedad intestinal inflamatoria EII (colitis inducida por DSS (dextrano sulfato de sodio)) véase Wirtz et al., Nature Protocols 2 (2007), 541 - 546; para un modelo de Psoriasis (Imiquimod) véase van der Fits et al, J Immunol 182 (2009), 5836-5845; para un modelo de esclerosis múltiple (encefalomielitis autoinmune experimental (EAE)) véase Miller, S. D. y Karpus, W. J., Current Protocols in Immunology. 78 (2007), 15.1.1-15.1.18 y la página web <http://hookelabs.com/products/eaee/>; para un modelo de artritis reumatoide (artritis inducida por colágeno) véase Julia J Inglis et al, Nature Protocols 3 (2008), 612 - 618.

En una realización, la composición farmacéutica comprende además un agente adicional útil para tratar una inflamación o un trastorno autoinmunitario, seleccionado del grupo que consiste en fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), corticosteroides, antihistaminas y combinaciones de los mismos. Además o como alternativa, en una realización adicional, la composición farmacéutica comprende además un agente adicional útil para tratar una enfermedad relacionada con inflamación, seleccionado del grupo que consiste en fármacos inmunosupresores y antiinflamatorios o "antirreumáticos".

En otra realización, la composición es una composición diagnóstica y comprende además reactivos utilizados convencionalmente en métodos de diagnóstico inmunológicos o basados en ácidos nucleicos.

Asimismo, la presente invención proporciona el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno mencionado anteriormente, para uso en el tratamiento o en la prevención de la progresión de un trastorno inflamatorio o autoinmunitario; para la mejora de los síntomas asociados a la inflamación o a un trastorno autoinmunitario; para diagnosticar o examinar a un sujeto para determinar la presencia o el riesgo de que un sujeto desarrolle inflamación o un trastorno autoinmunitario.

A este respecto pueden utilizarse varias vías de aplicación. En una realización de la presente invención, se proporciona el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno mencionado anteriormente, que está diseñado para administrarse por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intranasal, parenteral, o como un aerosol.

Debido a la multitud de moléculas adecuadas en el tratamiento de, por ejemplo, trastornos asociados a inflamación, la presente invención también proporciona varios métodos de tratamiento de dichos trastornos. En una realización, se proporciona un método para tratar un trastorno asociado a una inflamación o un trastorno autoinmunitario, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno mencionado anteriormente.

En una realización de éste método, dicho trastorno se selecciona del grupo que consiste en acné común; artritis, tal como artritis gotosa, lupus eritematoso sistémico (LES), artrosis, artritis psoriásica, artritis reumatoide; asma; celiaquía; prostatitis crónica; dermatitis; diabetes mellitus de tipo 1; glomerulonefritis; hipersensibilidad; miocarditis; esclerosis múltiple; enfermedades inflamatorias intestinales; enfermedad inflamatoria pélvica; polimiositis; psoriasis; sarcoidosis; vasculitis; APS1; cistitis intersticial o inflamación producida debido a lesión por reperusión o a rechazo de trasplante; véanse líneas anteriores.

Los métodos de tratamiento basados en el uso de un solo anticuerpo monoclonal específico para un epítipo de un antígeno particular, que está relacionado o que causa una enfermedad, pueden presentar varias deficiencias. Por ejemplo, las dificultades, y probablemente la ineficacia del tratamiento, pueden deberse a la multiplicidad de los mecanismos patógenos que causan un trastorno específico, que requiere el direccionamiento simultáneo de varios antígenos. Asimismo, hay que tener en cuenta la diversidad intrínseca de la población de pacientes en relación con, por ejemplo, el polimorfismo, la heterogeneidad de la glicosilación o la leve desnaturalización de un antígeno dado, ya sea en diferentes pacientes o en un paciente, lo que puede conducir, cuando menos, a una disminución de la eficacia de unión del anticuerpo monoclonal utilizado. Algunas de estas deficiencias pueden evitarse, por ejemplo, mediante exploraciones previas al tratamiento para determinar si el antígeno es, desde el punto de vista inmunológico, relevante para los pacientes a los que se pretende tratar y si hay cambios de epítipo en los pacientes en particular. Sin embargo, a menudo, dichas exploraciones se omiten debido a la urgencia del tratamiento o a las limitaciones de los costes. Por lo tanto, la presente invención se refiere además a métodos basados en la aplicación de más de un tipo de una molécula de unión a la vez a un paciente. Estas moléculas de unión pueden unirse específicamente a un antígeno en diferentes epítopos o cada una de las moléculas de unión aplicadas se une específicamente a otro antígeno relacionado con la enfermedad. En el caso de que las moléculas de unión de la presente invención se dirijan (se unan específicamente) a un antígeno, su especificidad de unión se dirige a distintos epítopos de dicho antígeno. El uso de dichos cócteles se contempla, en particular, para el tratamiento de pacientes que padecen trastornos autoinmunitarios, tales como APS1, quienes, en vista de la presencia de autoanticuerpos contra aproximadamente 3000 antígenos endógenos, a menudo no son susceptibles de recibir monoterapia con un anticuerpo en particular. En dichos casos, se espera que la terapia de combinación con dos o más anticuerpos monoclonales de la presente invención con la misma o diferente especificidad antigénica logre al menos algún alivio de los síntomas.

Por lo tanto, en una realización, se proporciona una composición adicional que comprende un cóctel que consiste

esencialmente en los dos anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención que se unen específicamente a IL-17F.

5 En otra realización, la presente invención se refiere a un kit para el diagnóstico de un trastorno que viene acompañado de la presencia de una proteína asociada al trastorno como se define en uno cualquiera de los péptidos reivindicados, comprendiendo dicho kit el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, el polinucleótido, el vector o la célula mencionados anteriormente, opcionalmente con reactivos y/o instrucciones de uso. Asociado a los kits de la presente invención, por ejemplo, dentro de un envase que comprenda el kit, puede haber un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de agentes farmacéuticos o productos biológicos, cuyo aviso refleja la aprobación por la agencia de la fabricación, el uso o la venta para la administración en seres humanos. Además, o como alternativa, el kit comprende reactivos y/o instrucciones para su uso en ensayos de diagnóstico apropiados. Las composiciones, es decir, los kits de la presente invención, son, por supuesto, particularmente adecuados para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de un trastorno que viene acompañado de la presencia de un antígeno asociado a inflamación definido anteriormente, en particular aplicables para el tratamiento de enfermedades como las mencionadas anteriormente.

20 En otra realización, la presente invención se refiere a una composición de diagnóstico que comprende uno cualquiera de los anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno, polinucleótidos, vectores o células de la invención descritos anteriormente y opcionalmente a medios adecuados para la detección, tales como reactivos utilizados convencionalmente en métodos de diagnóstico inmunológicos o basados en ácidos nucleicos. Los anticuerpos de la invención son, por ejemplo, adecuados para su uso en inmunoensayos en los que pueden utilizarse en fase líquida o unirse a un vehículo en fase sólida. Son ejemplos de inmunoensayos que pueden utilizar el anticuerpo de la invención los inmunoensayos competitivos y no competitivos en formato directo o indirecto. Son ejemplos de dichos inmunoensayos, el radioinmunoensayo (RIA), el de tipo sándwich (ensayo inmunométrico), la citometría de flujo y el ensayo de transferencia de Western. Los antígenos y anticuerpos de la invención pueden unirse a muchos vehículos diferentes y utilizarse para aislar células específicamente unidas a ellos. Los ejemplos de vehículos muy conocidos incluyen vidrio, poliestireno, cloruro de polivinilo, polipropileno, polietileno, policarbonato, dextrano, nailon, amilosas, celulosas naturales y modificadas, poliácridamidas, agarosas y magnetita. A efectos de la presente invención, la naturaleza del vehículo puede ser soluble o insoluble. Existen muchos marcadores y métodos de marcaje diferentes que conocen los expertos habituales en la técnica. Como ejemplos de los tipos de marcadores que pueden utilizarse en la presente invención se incluyen enzimas, radioisótopos, metales coloidales, compuestos fluorescentes, compuestos quimioluminiscentes y compuestos bioluminiscentes; véanse también las realizaciones explicadas anteriormente en el presente documento.

35 En este contexto, la presente invención también se refiere a medios diseñados específicamente para este propósito. Por ejemplo, se puede utilizar una matriz basada en proteínas o anticuerpos, que, por ejemplo, esté cargada con antígenos derivados de la proteína asociada al trastorno mencionado y que contenga el antígeno asociado a la inflamación, para detectar autoanticuerpos que puedan estar presentes en pacientes que padecen enfermedades autoinmunitarias, en particular, artritis, diabetes de tipo I o APECED/APS1, o con anticuerpos o moléculas de unión a antígeno equivalentes de la presente invención que reconocen específicamente uno cualquiera de esos antígenos asociados a inflamación. El diseño de los inmunoensayos de micromatrices se resume en Kusnezow et al., Mol. Cell Proteomics 5 (2006), 1681-1696. Por consiguiente, la presente invención también se refiere a micromatrices cargadas con moléculas de unión o antígenos identificados de acuerdo con la presente invención.

#### 45 *Definiciones y realizaciones*

A menos que se indique otra cosa, un término como se usa en este documento tiene la definición que se proporciona en el Diccionario Oxford de Bioquímica y Biología Molecular, Oxford University Press, 1997, revisado en el año 2000 y reimpresso en el 2003, ISBN 0 19 850673 2.

50 Cabe señalar que el término "una" entidad se refiere a una o más de esa entidad; por ejemplo, "un anticuerpo", se entiende que representa uno o más anticuerpos. Por tanto, los términos "un", "uno(a)", uno(a) o más", y "al menos uno(a)", pueden utilizarse indistintamente en el presente documento.

55 El término "neutralizante" y "anticuerpo neutralizante", respectivamente, se utiliza como es habitual en la técnica en cuanto a que significa que un anticuerpo reduce o suprime al menos alguna actividad biológica de un antígeno o de un microorganismo vivo. Por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-17F de la presente invención es un anticuerpo neutralizante, si, en cantidades adecuadas, suprime la actividad de la citocina, por ejemplo, en un ensayo como el que se describe en el apartado de Ejemplos. La neutralización se define comúnmente como la concentración inhibitoria al 50 % (CI 50) y puede evaluarse estadísticamente en función del área bajo la curva (ABC) de la titulación de la neutralización. Para enfermedades tumorales, la neutralización puede evaluarse, por ejemplo, determinando la inhibición del crecimiento del tumor. Por ejemplo, se sabe que para la tumorigénesis se requiere la secreción de interleucina-6 inducida por injertos oncogénicos y que pueden utilizarse anticuerpos anti-IL-6 para la terapia del cáncer correspondiente; véase, por ejemplo, Ancrile et al., "Genes and development" 21 (2007), 1714-1719. La neutralización de un agente infeccioso, tal como un virus, se define como la pérdida de infectividad a través de la reacción del virus o de su célula diana, por ejemplo, bloqueando el receptor del virus que da como resultado la

reducción de células infectadas que puede determinarse fácilmente en ensayos apropiados, basados en células, conocidos por el experto en la materia. El experto en la materia puede determinar fácilmente otras actividades biológicas que pueden ser "neutralizadas" por el anticuerpo de la presente invención.

- 5 Los términos "fragmento", "variante", "derivado" y "análogo", cuando se refieren a anticuerpos o a polipéptidos de anticuerpos de la presente invención, incluyen cualquier polipéptido que conserve al menos algunas de las propiedades de unión a antígeno de la molécula de unión, anticuerpo o polipéptido nativo correspondiente. Los fragmentos de polipéptidos de la presente invención, incluyen fragmentos proteolíticos, así como fragmentos de delección, además de los fragmentos de anticuerpo específicos explicados en cualquier otra parte del presente documento. Las variantes de anticuerpos y polipéptidos de anticuerpos de la presente invención, incluyen fragmentos como los descritos anteriormente, y también polipéptidos con secuencias de aminoácidos modificadas debido a sustituciones, supresiones e inserciones de aminoácidos. Las variantes pueden producirse de manera natural o no natural. Pueden producirse variantes no naturales utilizando técnicas de mutagénesis conocidas en la materia. Los polipéptidos variantes pueden comprender sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos conservativas o no conservativas. Los derivados de moléculas de unión de la presente invención, por ejemplo, anticuerpos y polipéptidos de anticuerpos de la presente invención, son polipéptidos que se han modificado para que presenten características adicionales que no se encuentran en el polipéptido nativo. Como ejemplos se incluyen proteínas de fusión. En el presente documento, los polipéptidos variantes también pueden denominarse "análogos de polipéptidos". Como se usa en el presente documento, un "derivado" de una molécula de unión o de un fragmento de la misma, un anticuerpo o un polipéptido de anticuerpo, se refiere a un polipéptido en cuestión que tiene uno o más restos químicamente derivatizados mediante la reacción de un grupo lateral funcional. También se incluyen como "derivados" aquellos péptidos que contienen uno o más derivados de aminoácidos de origen natural de los veinte aminoácidos convencionales. Por ejemplo, la 4-hidroxiprolina puede sustituirse por prolina; la 5-hidroxilisina puede sustituirse por lisina; la 3-metilhistidina puede sustituirse por histidina; la homoserina puede sustituirse por serina; y la ornitina puede sustituirse por lisina.

#### Polinucleótidos:

- 30 El término "polinucleótido" pretende abarcar un ácido nucleico singular así como varios ácidos nucleicos, y se refiere a una molécula o construcción de ácido nucleico aislada, por ejemplo, ARN mensajero (ARNm) o ADN plasmídico (ADNp). Un polinucleótido puede comprender un enlace fosfodiéster convencional o un enlace no convencional (por ejemplo, un enlace amida, tal como el que se encuentra en los ácidos peptidonucleicos (APN). La expresión "ácido nucleico" se refiere a uno cualquiera o más segmentos de ácido nucleico, por ejemplo, fragmentos de ADN o ARN, presentes en un polinucleótido. Por ácido nucleico o polinucleótido "aislado" se entiende una molécula de ácido nucleico, ADN o ARN, que se ha extraído de su ambiente natural. Por ejemplo, a efectos de la presente invención, se considera que un polinucleótido recombinante contenido en un vector que codifica un anticuerpo, está aislado. Como ejemplos adicionales de un polinucleótido aislado, se incluyen polinucleótidos recombinantes mantenidos en células hospedadoras heterólogas o polinucleótidos en solución (parcial o sustancialmente) purificados. Las moléculas de ARN aisladas incluyen transcritos de ARN *in vivo* o *in vitro* de polinucleótidos de la presente invención. Los polinucleótidos o ácidos nucleicos aislados de acuerdo con la presente invención incluyen además dichas moléculas producidas de manera sintética. Además, un polinucleótido o un ácido nucleico puede ser o puede incluir un elemento regulador, tal como un promotor, un sitio de unión a ribosomas o un terminador de la transcripción.

- 45 Como se usa en el presente documento, una "región codificante" es una parte de ácido nucleico que consiste en codones traducidos en aminoácidos. Aunque un "codón de terminación" (TAG, TGA o TAA) no se traduce en un aminoácido, puede considerarse que dicho codón forma parte de una región codificante, pero cualquier secuencia flanqueante, por ejemplo, promotores, sitios de unión a ribosomas, terminadores transcripcionales, intrones, y similares, no forman parte de una región codificante. En una sola construcción polinucleotídica, puede haber dos o más regiones codificantes de la presente invención, por ejemplo, en un solo vector o en construcciones polinucleotídicas distintas, por ejemplo, en vectores distintos (diferentes). Asimismo, cualquier vector puede contener una sola región codificante, o puede comprender dos o más regiones codificantes, por ejemplo, un solo vector puede codificar independientemente una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina y una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina. Además, un vector, polinucleótido o ácido nucleico de la invención, puede codificar regiones codificantes heterólogas, ya sea fusionado o no fusionado a un ácido nucleico que codifica una molécula de unión, un anticuerpo, o fragmento, una variante o derivados de los mismos. Las regiones codificantes heterólogas incluyen, sin limitación, elementos o motivos especializados, tales como un péptido señal secretor o un dominio funcional heterólogo.

- 60 En determinadas realizaciones, el polinucleótido o ácido nucleico es ADN. En el caso de que sea ADN, un polinucleótido que comprende un ácido nucleico que codifica un polipéptido normalmente puede incluir un promotor y/u otros elementos de control de la transcripción o traducción asociados operativamente a una o más regiones codificantes. Una asociación operativa es cuando una región codificante para un producto génico, por ejemplo, un polipéptido, se asocia a una o más secuencias reguladoras, de tal modo que sitúan la expresión del producto génico bajo la influencia o el control de la(s) secuencia(s) reguladora(s). Dos fragmentos de ADN (tales como una región codificante de polipéptido y un promotor asociado a esta) se "asocian operativamente" o se "unen operativamente" si la inducción de la función del promotor da como resultado la transcripción de ARNm que codifica el producto génico

deseado y si la naturaleza de la unión entre los dos fragmentos de ADN no interfiere con la capacidad de la expresión de las secuencias reguladoras para dirigir la expresión del producto génico o interferir con la capacidad del molde de ADN para transcribirse. Por lo tanto, una región promotora estará asociada operativamente a un ácido nucleico que codifica un polipéptido si el promotor es capaz de efectuar la transcripción de ese ácido nucleico. El promotor puede ser un promotor específico de célula que dirige la transcripción sustancial del ADN solo en células predeterminadas. Otros elementos de control de la transcripción, aparte de un promotor, por ejemplo, potenciadores, operadores, represores y señales de terminación de la transcripción, pueden asociarse operativamente al polinucleótido para dirigir la transcripción específica de célula. En el presente documento se desvelan promotores adecuados y otras regiones de control de la transcripción.

Los expertos en la materia conocen una variedad de regiones de control de la transcripción. Estas incluyen, sin limitación, regiones de control de la transcripción que actúan en células de vertebrados, tales como, pero sin limitación, segmentos promotores y potenciadores de citomegalovirus (el promotor temprano inmediato, junto con el intrón-A), virus de simio 40 (el promotor temprano) y retrovirus (tales como, el virus del sarcoma de Rous). Otras regiones de control de la transcripción incluyen aquellas derivadas de genes de vertebrado, tales como actina, proteína de choque térmico, hormona del crecimiento bovino y  $\beta$  globina de conejo, así como otras secuencias capaces de controlar la expresión génica en células eucariotas. Como regiones de control de la transcripción adecuadas adicionales se incluyen promotores y potenciadores específicos de tejido, así como promotores inducibles por linfocinas (por ejemplo, promotores inducibles por interferones o interleucinas).

De manera similar, los expertos en la materia conocen una variedad de elementos de control de la traducción. Estos incluyen, pero sin limitación, sitios de unión a ribosomas, codones de inicio y terminación de la traducción y elementos derivados de picornavirus (particularmente un sitio de entrada a ribosoma interno, o IRES (del inglés, *internal ribosome entry site*), también denominado secuencia CITE).

En otras realizaciones, un polinucleótido de la presente invención es ARN, por ejemplo, en forma de ARN mensajero (ARNm), ARN en horquilla pequeño (ARNhp), ARN interferente pequeño (ARNip) o cualquier otro producto de ARN.

Las regiones codificantes de polinucleótidos y ácidos nucleicos de la presente invención, pueden asociarse a regiones codificantes adicionales que codifican péptidos señal o secretores, que dirigen la secreción de un polipéptido codificado por un polinucleótido de la presente invención. De acuerdo con la hipótesis de señal, las proteínas secretadas por células de mamífero tienen un péptido señal o una secuencia líder secretora que se escinde de la proteína madura una vez que se ha iniciado la exportación de la cadena de proteína en crecimiento a través del retículo endoplasmático rugoso. Los expertos habituales en la materia son conscientes de que los polipéptidos secretados por células de vertebrado tienen generalmente un péptido señal fusionado al extremo N-terminal del polipéptido, que se escinde del polipéptido completo o de "longitud completa", para producir una forma secretada o "madura" del polipéptido. En determinadas realizaciones, se utiliza el péptido señal nativo, por ejemplo, un péptido señal de cadena pesada o de cadena ligera de inmunoglobulina, o un derivado funcional de esa secuencia, que conserva la capacidad de dirigir la secreción del polipéptido que está asociado operativamente a esta. Como alternativa, puede utilizarse un péptido señal heterólogo de mamífero o un derivado funcional del mismo. Por ejemplo, la secuencia líder de tipo silvestre puede sustituirse por la secuencia líder del activador tisular del plasminógeno (TPA, del inglés *tissue plasminogen activator*) humano o por la  $\beta$ -glucuronidasa de ratón.

#### Expresión:

El término "expresión" como se usa en el presente documento se refiere a un proceso por el cual un gen produce un producto bioquímico, por ejemplo, un ARN o polipéptido. El proceso incluye cualquier manifestación de la presencia funcional del gen dentro de la célula incluyendo, sin limitación, atenuación génica, así como, expresión transitoria y expresión estable. Este incluye, sin limitación, la transcripción del gen en ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia (ARNt), ARN en horquilla pequeño (ARNhp), ARN pequeño de interferencia (ARNip) o cualquier otro producto de ARN, y la traducción de dicho ARNm en polipéptido(s). Si el producto final deseado es un producto bioquímico, la expresión incluye la creación de ese producto bioquímico y de cualquiera de sus precursores. La expresión de un gen produce un "producto génico". Como se usa en el presente documento, un producto génico puede ser un ácido nucleico, por ejemplo, un ARN de interferencia pequeño (ARNip), un ARN mensajero producido por la transcripción de un gen, o un polipéptido que se traduce a partir de una transcripción. Los productos génicos descritos en el presente documento incluyen además ácidos nucleicos con modificaciones postranscripcionales, por ejemplo, poliadenilación, o polipéptidos con modificaciones postraduccionales, por ejemplo, metilación, glicosilación, adición de lípidos, asociación con otras subunidades de proteínas, escisión proteolítica, y modificaciones similares.

Se puede utilizar una variedad de sistemas de vector de expresión/hospedador que contengan y expresen secuencias de polinucleótidos. Estos incluyen, pero sin limitación, microorganismos tales como bacterias transformadas con bacteriófagos recombinantes, plásmidos, o vectores de expresión de ADN cósmido; levadura transformada con vectores de expresión de levadura; sistemas de células de insecto infectadas con vectores de expresión de virus (por ejemplo, baculovirus); sistemas de células vegetales transformadas con vectores de expresión de virus (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, TMV) o con vectores de expresión bacterianos (por ejemplo, plásmidos Ti o pBR322); o sistemas de células animales.

Para expresar el péptido, el polipéptido o la proteína de fusión (en lo sucesivo denominado "producto" en el presente documento) en una célula hospedadora, puede utilizarse un procedimiento como el siguiente. Un fragmento de restricción que contiene una secuencia de ADN que codifica dicho producto puede clonarse en un plásmido recombinante apropiado que contiene un origen de replicación que actúa en la célula hospedadora y un marcador seleccionable apropiado. El plásmido puede incluir un promotor para la expresión inducible del producto (por ejemplo, pTrc (Amann et al, Gene 69 (1988), 301 315) y pET1 Id (Studier et al., Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990), 60 89). El plásmido recombinante puede introducirse en la célula hospedadora, por ejemplo, mediante electroporación y las células que contienen el plásmido recombinante pueden identificarse mediante la selección del marcador en el plásmido. La expresión del producto puede inducirse y detectarse en la célula hospedadora mediante un ensayo específico para el producto.

En algunas realizaciones, la expresión del ADN que codifica el producto/péptido puede optimizarse en la célula hospedadora. Por ejemplo, el ADN puede incluir codones para uno o más aminoácidos que son predominantes en la célula hospedadora en relación con otros codones para el mismo aminoácido.

Como alternativa, la expresión del producto puede realizarse mediante síntesis *in vitro* de la proteína en extractos acelulares que también son particularmente adecuados para la incorporación de aminoácidos modificados o no naturales para estudios funcionales; véase también más adelante. El uso de sistemas de traducción *in vitro* puede tener ventajas sobre la expresión génica *in vivo* cuando el producto sobreexpresado es tóxico para la célula hospedadora, cuando el producto es insoluble o forma cuerpos de inclusión, o cuando la proteína experimenta una rápida degradación proteolítica por proteasas intracelulares. Los sistemas de traducción acelulares más utilizados consisten en extractos de reticulocitos de conejo, de germen de trigo y de *Escherichia coli*. Todos ellos preparados como extractos crudos que contienen todos los componentes macromoleculares (ribosomas 70S u 80S, ARNt, aminoacil-ARNt sintetasas, factores de iniciación, elongación y terminación, etc.) necesarios para la traducción de ARN exógeno. Para facilitar que la traducción sea eficaz, cada extracto debe complementarse con aminoácidos, fuentes de energía (ATP, GTP), sistemas de regeneración de energía (creatina fosfato y creatina fosfocinasa para sistemas eucariotas, y fosfoenol piruvato y piruvato cinasa para el lisado de *E. coli*) y otros cofactores conocidos en la materia ( $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ , etc.). En el comercio se encuentran disponibles sistemas de transcripción/traducción apropiados, por ejemplo de Promega Corporation, Roche Diagnostics, y Ambion, es decir, Applied Biosystems (Anderson, C. et al., Meth. Enzymol. 101 (1983), 635-644; Arduengo, M. et al. (2007), The Role of Cell-Free Rabbit Reticulocyte Expression Systems in Functional Proteomics in, Kudlicki, Katzen y Bennett eds., Cell-Free Expression Vol. 2007. Austin, Tx: Landes Bioscience, págs. 1-18; Chen y Zubay, Meth. Enzymol. 101 (1983), 674-90; Ezure et al., Biotechnol. Prog. 22 (2006), 1570-1577).

#### Células hospedadoras:

En lo que respecta a la presente invención, una célula hospedadora puede ser cualquier célula procariota o eucariota, tal como una célula bacteriana, de insecto, fúngica, vegetal, animal o de ser humano. Las células fúngicas preferidas son, por ejemplo, las del género *Saccharomyces*, en particular las de la especie *S. cerevisiae*. El término "procariota" pretende incluir todas las bacterias que pueden transformarse o transfectarse con moléculas de ADN o ARN para la expresión de un anticuerpo de la invención o de las cadenas de inmunoglobulina correspondientes. Los hospedadores procariotas pueden incluir bacterias gramnegativas y grampositivas tales como, por ejemplo, *E. coli*, *S. typhimurium*, *Serratia marcescens* y *Bacillus subtilis*. Se entiende que el término "eucariota" incluye células de levadura, de plantas superiores, de insecto y preferentemente de mamífero, más preferentemente células HEK 293, NSO, CSO y CHO. Dependiendo del hospedador empleado en un procedimiento de producción recombinante, los anticuerpos o las cadenas de inmunoglobulina codificadas por el polinucleótido de la presente invención, pueden estar o no glicosilados(as). Los anticuerpos de la invención o las cadenas de inmunoglobulina correspondientes, también pueden incluir un resto inicial del aminoácido metionina. Para transformar o transfectar el hospedador puede utilizarse un polinucleótido de la invención utilizando cualquiera de las técnicas comúnmente conocidas por los expertos habituales en la materia. Asimismo, en la técnica se conocen bien métodos para la preparación de genes fusionados, unidos operativamente y para expresarlos, por ejemplo, en células de mamífero y bacterias (Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1989). Las construcciones genéticas y los métodos descritos en el presente documento, pueden utilizarse para la expresión del anticuerpo de la invención o de las cadenas de inmunoglobulina correspondientes, en hospedadores eucariotas o procariotas. En general, junto con el hospedador, se utilizan vectores de expresión que contienen secuencias promotoras que facilitan la transcripción eficaz del polinucleótido insertado. El vector de expresión contiene típicamente un origen de replicación, un promotor y un terminador, así como genes específicos que son capaces de proporcionar selección fenotípica de las células transformadas. A partir de diversas fuentes, pueden obtenerse células fuente adecuadas para las secuencias de ADN y células hospedadoras para la expresión y secreción de inmunoglobulinas, tal como de la American Type Culture Collection ("Catalogue of Cell Lines and Hybridomas," Quinta Edición (1985) Rockville, Maryland, Estados Unidos). Asimismo, para la producción a gran escala del anticuerpo de la invención, pueden utilizarse animales transgénicos, preferentemente mamíferos, que comprendan las células de la invención.

Los hospedadores transformados pueden crecer en fermentadores y cultivarse de acuerdo con técnicas conocidas en la materia para lograr un crecimiento celular óptimo. Una vez expresados, los anticuerpos completos, sus

dímeros, cadenas ligeras y pesadas individuales, u otras formas de inmunoglobulina de la presente invención, pueden purificarse según procedimientos estándar de la técnica, incluyendo precipitación con sulfato de amonio, columnas de afinidad, cromatografía en columna, electroforesis en gel y procedimientos similares; véase, Scopes, "Protein Purification", Springer Verlag, N. Y. 1982). El anticuerpo o su cadena (o cadenas) de inmunoglobulina correspondiente de la invención, puede aislarse después del medio de crecimiento, de lisados celulares o de fracciones de membrana celular. El aislamiento y la purificación de, por ejemplo, los anticuerpos o las cadenas de inmunoglobulina de la invención, expresados de forma recombinante, puede realizarse por cualquier medio convencional tal como, por ejemplo, separaciones cromatográficas preparativas y separaciones inmunológicas, tales como aquellas que implican el uso de anticuerpos monoclonales o policlonales dirigidos, por ejemplo, contra la región constante del anticuerpo de la invención. Será evidente para los expertos en la materia, que los anticuerpos de la invención puedan acoplarse adicionalmente a otros residuos, por ejemplo, para aplicaciones de direccionamiento de fármacos y de obtención de imágenes. Dicho acoplamiento puede realizarse químicamente después de la expresión del anticuerpo o antígeno al sitio de unión o el producto de acoplamiento puede diseñarse en el anticuerpo o antígeno de la invención a nivel de ADN. Después, los ADN se expresan en un sistema hospedador adecuado y las proteínas expresadas se recogen y se renaturalizan, en caso de ser necesario.

Para usos farmacéuticos, se prefieren inmunoglobulinas sustancialmente puras, con una homogeneidad de al menos aproximadamente del 90 al 95 %, prefiriéndose aún más una homogeneidad del 98 al 99 %. Una vez purificados, parcialmente o hasta la homogeneidad, según se desee, los anticuerpos pueden después utilizarse terapéuticamente (incluso de manera extracorpórea) o en el desarrollo y en la realización de procedimientos de ensayo.

La presente invención también implica un método para producir células capaces de expresar un anticuerpo de la invención o su cadena (o cadenas) correspondiente de inmunoglobulina que comprende células genéticamente modificadas con el polinucleótido o con el vector de la invención. Las células que pueden obtenerse con el método de la invención pueden utilizarse, por ejemplo, para ensayar la interacción del anticuerpo de la invención con su antígeno.

#### Ensayos ELISA:

Los ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA, del inglés *enzyme-linked immunosorbent assays*) para varios antígenos, incluyen aquellos basados en colorimetría, quimioluminiscencia y fluorimetría. Los ensayos ELISA se han aplicado satisfactoriamente en la determinación de bajas cantidades de fármacos y otros componentes antigénicos en muestras de plasma y orina, no implican etapas de extracción, y son fáciles de realizar. Los ensayos ELISA para la detección de anticuerpos contra antígenos proteicos a menudo utilizan la unión directa de péptidos sintéticos cortos a la superficie plástica de una placa de microtitulación. Los péptidos son, en general, muy puros debido a su naturaleza sintética y a los métodos de purificación eficaces utilizando cromatografía líquida de alto rendimiento. Un inconveniente de los péptidos cortos es que normalmente representan epítopos lineales, aunque no conformacionales ni discontinuos. Para presentar epítopos conformacionales, se utilizan péptidos largos o la proteína nativa completa. La unión directa de los antígenos proteicos al soporte de poliestireno hidrófobo de la placa puede provocar la desnaturalización parcial o total de la proteína unida y la pérdida de epítopos conformacionales. El recubrimiento de la placa con un anticuerpo, que actúa como mediador en la inmovilización (ELISA de captura) de los antígenos, puede evitar este efecto.

Sin embargo, frecuentemente, las proteínas recombinantes sobreexpresadas son insolubles y requieren purificación en condiciones de desnaturalización y renaturalización, cuando se analizan los anticuerpos contra epítopos conformacionales. Véase, por ejemplo, la solicitud de patente estadounidense N.º 20030044870 para un ELISA genérico que utiliza proteínas de fusión recombinantes como proteínas de recubrimiento.

#### Moléculas de unión:

Una "molécula de unión", como se usa en el contexto de la presente invención, se refiere a anticuerpos y a fragmentos de los mismos.

#### Anticuerpos:

En el presente documento, los términos "biomarcador" e "inmunoglobulina" se utilizan indistintamente. Un anticuerpo o una inmunoglobulina es una molécula que se une a una molécula de interés de la presente invención, como se define anteriormente y más adelante en el presente documento, que comprende al menos el dominio variable de una cadena pesada, y normalmente comprende al menos los dominios variables de una cadena pesada y una cadena ligera. Las estructuras básicas de inmunoglobulina en sistemas de vertebrados se entienden relativamente bien; véase, por ejemplo, Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. 1988). Los términos "se une" y "reconoce", se utilizan indistintamente con relación a la afinidad de unión de las moléculas de unión de la presente invención, por ejemplo, anticuerpos.

Cualquier anticuerpo o fragmento de inmunoglobulina que contenga suficiente estructura para unirse

específicamente a las moléculas de interés, como se define anteriormente y más adelante en el presente documento, recibe indistintamente el nombre de "molécula de unión", "fragmento de unión" o "fragmento inmuno-específico".

5 Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno, fragmentos inmuno-específicos, variantes, o derivados de los mismos, de la invención, incluyen anticuerpos monoclonales humanos, y anticuerpos monocatenarios, fragmentos de unión a epitopo, por ejemplo, fragmentos Fab, Fab' y F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, Fv monocatenarios (scFv), anticuerpos monocatenarios, fragmentos Fv unidos por enlaces disulfuro (sdFv), fragmentos que comprenden el dominio V<sub>L</sub> y V<sub>H</sub> y fragmentos derivados de los mismos. Dichas moléculas scFv son muy conocidas en la materia y se describen, por ejemplo, en la patente estadounidense 5.892.019. Como se explicará más adelante con mayor detalle, el término "inmunoglobulina" comprende varias clases amplias de polipéptidos que pueden distinguirse bioquímicamente. Los expertos en la materia apreciarán que las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, (γ, μ, α, δ, ε) con algunas subclases entre ellas (por ejemplo, γ1-γ4). Es la naturaleza de esta cadena la que determina la "clase" del anticuerpo como IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY, respectivamente. Las subclases de inmunoglobulina (isotipos) por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, etc. están bien caracterizadas y se sabe que confieren especialización funcional. Las moléculas de inmunoglobulina o de anticuerpo de la invención pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2, etc.) o subclase de molécula de inmunoglobulina. Las versiones modificadas de cada una de estas clases e isotipos son fácilmente perceptibles para el experto en la materia en vista de la presente divulgación y, por consiguiente, están dentro del alcance de la presente invención. Todas las clases de inmunoglobulina están claramente dentro del alcance de la presente invención, el siguiente análisis generalmente se dirigirá a la clase de moléculas de inmunoglobulina IgG. Con respecto a la IgG, una molécula de inmunoglobulina estándar comprende dos polipéptidos idénticos de cadena ligera con un peso molecular de aproximadamente 23.000 Dalton y dos polipéptidos idénticos de cadena pesada con un peso molecular de 53.000 a 70.000 Dalton. Las cuatro cadenas están unidas típicamente por enlaces disulfuro en una configuración en "Y" en la que las cadenas ligeras dan soporte a las cadenas pesadas que comienzan en la boca de la "Y" y continúan a través de la región variable. Como se desprende de la clasificación de los anticuerpos anti-IL-17A e IL-17F ejemplares de la presente invención, enumerados en la Tabla 1 anterior, los subtipos dominantes de los anticuerpos de la presente invención parecen ser IgG1 e IgG4, posiblemente implicando respuestas de linfocitos T reguladores y/o epitelios en su inicio en estos estados con déficit de AIRE (Regulador Autoinmune). Estos hallazgos se confirman mediante la clasificación de los autoanticuerpos correspondientes encontrados en ratones con déficit de AIRE descritos por Kärner et al., en Clin. Exp. Immunol. (2012); doi: 10.1111/cei.12024. Por consiguiente, en una realización preferida de la presente invención, los anticuerpos humanos de la presente invención son del tipo IgG, en particular IgG1 o IgG4.

### 35 Estructura de IgG:

Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda (κ, λ). Cada clase de cadena pesada puede estar unida con una cadena ligera kappa o lambda. En general, las cadenas ligeras y pesadas están unidas entre sí de manera covalente, y las parte de "cola" de las dos cadenas pesadas, están unidas entre sí por enlaces disulfuro covalentes o no covalentes cuando las inmunoglobulinas se generan mediante hibridomas, linfocitos B o células hospedadoras modificadas por ingeniería genética. En la cadena pesada, las secuencias de aminoácidos se ejecutan desde un extremo N en los extremos bifurcados de la configuración Y hasta el extremo C en la parte inferior de cada cadena.

Las cadenas tanto ligeras como pesadas se dividen en regiones de homología estructural y funcional. Los términos "constante" y "variable" se utilizan de manera funcional. En este sentido, se apreciará que los dominios variables de las partes de cadena tanto ligera (V<sub>L</sub>) como pesada (V<sub>H</sub>) determinan el reconocimiento y la especificidad antigénica. Por el contrario, los dominios constantes de la cadena ligera (CL) y de la cadena pesada (CH1, CH2 o CH3) otorgan propiedades biológicas importantes, tales como secreción, movilidad transplacentaria, unión al receptor de Fc, unión al complemento y propiedades similares. Por convención, la numeración de los dominios de la región constante aumenta a medida que se encuentran más distantes del sitio de unión a antígeno o del extremo amino del anticuerpo. La parte N-terminal es una región variable y la parte C-terminal es una región constante; los dominios CH3 y CL comprenden, de hecho, el extremo carboxilo de la cadena pesada y ligera, respectivamente.

Como se indicó anteriormente, la región variable permite que el anticuerpo reconozca selectivamente y se una específicamente a los epítopos en antígenos. Es decir, el dominio V<sub>L</sub> y el dominio V<sub>H</sub>, o subconjunto de las regiones determinantes de la complementariedad (CDR), de un anticuerpo, se combinan para formar la región variable que define un sitio de unión a antígeno tridimensional. Esta estructura de anticuerpo cuaternario forma el sitio de unión a antígeno presente en el extremo de cada brazo de la Y. Más específicamente, el sitio de unión a antígeno está definido por tres CDR en cada una de las cadenas V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub>. En el presente documento, cualquier anticuerpo o fragmento de inmunoglobulina que contenga suficiente estructura para unirse específicamente a una molécula de interés de la presente invención se indica indistintamente como un "fragmento de unión" o un "fragmento inmuno-específico".

En los anticuerpos de origen natural, un anticuerpo comprende seis regiones hipervariables, a veces denominadas "regiones determinantes de la complementariedad" o "CDR", que están presentes en cada dominio de unión a antígeno, que son secuencias cortas, no contiguas, que se posicionan de manera específica para formar el dominio

de unión a antígeno a medida que el anticuerpo adopta su configuración tridimensional en un ambiente acuoso. Las "CDR" están flanqueadas por cuatro regiones "estructurales" o "FR" relativamente conservadas que muestran menor variabilidad intermolecular. Las regiones estructurales adoptan en gran medida una conformación de lámina  $\beta$  y las CDR forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte de, la estructura de lámina  $\beta$ . Por lo tanto, las regiones estructurales actúan formando un armazón que posibilita el posicionamiento de las CDR en la orientación correcta mediante interacciones no covalentes entre las cadenas. El dominio de unión a antígeno formado por las CDR posicionadas define una superficie complementaria al epítopo en el antígeno inmunorreactivo. Esta superficie complementaria promueve la unión no covalente del anticuerpo con su epítopo afín. Un experto habitual en la materia puede identificar fácilmente los aminoácidos que comprenden las CDR y las regiones marco, respectivamente, para cualquier región variable de cadena pesada o ligera dada, ya que se han definido con precisión; véase, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," Kabat, E., et al., U.S. Department of Health and Human Services, (1983); y Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196 (1987), 901-917.

En el caso de que haya dos o más definiciones de un término que se utilice y/o acepte en la materia, la definición del término, como se usa en el presente documento, pretende incluir todos esos significados a menos que se indique explícitamente lo contrario. Un ejemplo específico es el uso de la expresión "región determinante de la complementariedad" ("CDR") que describe los sitios de combinación de antígenos no contiguos hallados en la región variable de los polipéptidos de cadena tanto pesada como ligera. Esta región particular ha sido descrita por Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983) y por Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196 (1987), 901-917, donde las definiciones incluyen restos de aminoácidos o subconjuntos de aminoácidos solapantes cuando se comparan entre sí. No obstante, se pretende que la aplicación de cualquier definición que se refiera a una CDR de un anticuerpo o variantes del mismo, se encuentre dentro del alcance del término como se define y usa en el presente documento. Los restos de aminoácidos apropiados que abarcan las CDR como se define en cada una de las referencias citadas anteriormente, se exponen más adelante en la Tabla 2 a modo de comparación. El número exacto de restos que abarca una CDR particular variará dependiendo de la secuencia y del tamaño de la CDR. Los expertos en la materia pueden determinar de manera rutinaria qué restos comprenden una región hipervariable o CDR particular del subtipo de IgG humana de anticuerpo dada la secuencia de aminoácidos de la región variable del anticuerpo.

**Tabla 2: Definiciones de CDR<sup>1</sup>**

	<b>Kabat</b>	<b>Chothia</b>
VH CDR1	31-35	26-32
VH CDR2	50-65	52-58
VH CDR3	95-102	95-102
VL CDR1	24-34	26-32
VL CDR2	50-56	50-52
VL CDR3	89-97	91-96

<sup>1</sup> La numeración de todas las definiciones de CDR en la Tabla 2 es conforme a las convenciones de numeración expuestas por Kabat *et al.* (véase más adelante).

Kabat *et al.* también definieron un sistema de numeración para las secuencias de dominio variable que es aplicable a cualquier anticuerpo. Un experto habitual en la materia puede asignar sin ambigüedad este sistema de "numeración de Kabat" a cualquier secuencia de dominio variable, sin depender de ningún dato experimental que no sea la propia secuencia. Como se usa en el presente documento, la "numeración de Kabat" se refiere al sistema de numeración expuesto por Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983). A menos que se especifique de otro modo, las referencias a la numeración de las posiciones específicas de restos de aminoácidos en un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, variante, o derivado del mismo, de la presente invención, son conforme al sistema de numeración de Kabat, lo que, sin embargo, es teórico y puede que no se aplique por igual a cada anticuerpo de la presente invención. Por ejemplo, dependiendo de la posición de la primera CDR, las siguientes CDR podrían cambiarse en cualquier dirección.

En una realización, el anticuerpo de la presente invención no es IgM, o un derivado de la misma, con una estructura pentavalente. En particular, en aplicaciones específicas de la presente invención, especialmente de uso terapéutico, las IgM son menos útiles que la IgG y que otros anticuerpos bivalentes o moléculas de unión correspondientes, ya que a menudo, debido a su estructura pentavalente y a su falta de maduración de afinidad, las IgM muestran reactividades cruzadas inespecíficas y una afinidad muy baja.

En una realización particularmente preferida, el anticuerpo de la presente invención no es un anticuerpo policlonal, es decir, consiste sustancialmente en una especie de anticuerpo particular, en lugar de ser una mezcla obtenida de una muestra de inmunoglobulina plasmática.

#### Fragmentos de anticuerpos:

Los fragmentos de anticuerpos, incluyendo los anticuerpos monocatenarios, pueden comprender la región o regiones variables en solitario o en combinación con todo o con una parte de lo siguiente: región bisagra, dominios

CH1, CH2, y CH3. En la invención también se incluyen fragmentos que se unen a una molécula de interés de la presente invención, comprendiendo dichos fragmentos cualquier combinación de región o regiones variables con una región bisagra, y dominios CH1, CH2 y CH3. En una realización particularmente preferida de la presente invención, los anticuerpos son anticuerpos monoclonales humanos de origen natural o fragmentos de unión, derivados y variantes de los mismos clonados de sujetos humanos, que se unen específicamente a IL-17, como se define en las reivindicaciones y se muestra en los Ejemplos. Opcionalmente, la región estructural del anticuerpo humano está alineada y adoptada de acuerdo con las secuencias pertinentes de la región variable de la línea germinal humana en las bases de datos; véase, por ejemplo, Vbase (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) que ofrece el MRC Centre for Protein Engineering (Cambridge, Reino Unido). Por ejemplo, los aminoácidos que se considera que están posiblemente apartados de la verdadera secuencia de la línea germinal, podrían deberse a las secuencias de cebadores de PCR que se incorporan durante el proceso de clonación. Por lo tanto, de acuerdo con la presente invención, las expresiones "anticuerpo monoclonal humano", "autoanticuerpo monoclonal humano", "anticuerpo humano" y expresiones similares, se utilizan para referirse a una molécula de unión que se une a una molécula de interés de la presente invención, que es de origen humano, es decir, que se ha aislado de una célula humana, tal como un linfocito B o un hibridoma del mismo, o cuyo ADNc se ha clonado directamente a partir de ARNm de una célula humana, por ejemplo, un linfocito B de memoria, humano. Un anticuerpo humano se seguirá considerando "humano" incluso en caso de que se efectúen sustituciones de aminoácidos en el anticuerpo, por ejemplo, para mejorar las características de unión.

Los anticuerpos derivados de bibliotecas de inmunoglobulina humana o de animales transgénicos para una o más inmunoglobulinas humanas y que no expresan inmunoglobulinas endógenas, como se describe más adelante y, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 5.939.598 de Kucherlapati et al., se denominan anticuerpos de tipo humano para distinguirlos de los anticuerpos verdaderamente humanos de la presente invención.

Por ejemplo, el emparejamiento de cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos de tipo humano, tales como anticuerpos sintéticos y semisintéticos, típicamente aislados de presentaciones en fago, no refleja necesariamente el emparejamiento original como ocurrió en el linfocito B humano original. Por consiguiente, los fragmentos Fab y scFv obtenidos de bibliotecas de expresión recombinante, como se utilizan comúnmente en la técnica anterior, pueden considerarse que son artificiales con todos los posibles efectos asociados sobre la inmunogenicidad y la estabilidad.

Por el contrario, la presente invención proporciona anticuerpos madurados por afinidad aislados de sujetos humanos seleccionados, que se caracterizan por su utilidad terapéutica y su tolerancia en el hombre.

#### Fragmentos de anticuerpos:

Como se usa en el presente documento, la expresión "parte de cadena pesada" incluye secuencias de aminoácidos derivadas de una cadena pesada de inmunoglobulina. Un polipéptido que comprende una parte de cadena pesada comprende al menos uno de: un dominio CH1, un dominio bisagra (por ejemplo, una región bisagra superior, central y/o inferior), un dominio CH2, un dominio CH3, o una variante o un fragmento de los mismos. Por ejemplo, un polipéptido de unión para su uso en la invención, puede comprender una cadena polipeptídica que comprenda un dominio CH1; una cadena polipeptídica que comprenda un dominio CH1, al menos una parte de un dominio bisagra y un dominio CH2; una cadena polipeptídica que comprenda un dominio CH1 y un dominio CH3; una cadena polipeptídica que comprenda un dominio CH1, al menos una parte de un dominio bisagra y un dominio CH3, o una cadena polipeptídica que comprenda un dominio CH1, al menos una parte de un dominio bisagra, un dominio CH2 y un dominio CH3. En otra realización, un polipéptido de la invención comprende una cadena polipeptídica que comprende un dominio CH3. Adicionalmente, un polipéptido de unión para uso en la invención puede carecer de al menos una parte de un dominio CH2 (por ejemplo, todo o parte de un dominio CH2). Como se ha expuesto anteriormente, un experto habitual en la materia también entenderá que estos dominios (por ejemplo, las partes de cadena pesada) pueden modificarse, de tal manera que su secuencia de aminoácidos varía con respecto a la molécula de inmunoglobulina de origen natural.

En determinados anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno, variantes, o derivados de los mismos, desvelados en el presente documento, las partes de cadena pesada de una cadena polipeptídica de un multímero son idénticas a las de una segunda cadena polipeptídica del multímero. Como alternativa, los monómeros que contienen una parte de cadena pesada de la invención no son idénticos. Por ejemplo, cada monómero puede comprender un sitio de unión a diana diferente, formando, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico o diacuerpo.

En otra realización, los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno, variantes, o derivados de los mismos, desvelados en el presente documento, están compuestos por una sola cadena polipeptídica, tal los como scFv y se expresarán intracelularmente (intracuerpos) para posibles aplicaciones terapéuticas y diagnósticas *in vivo*.

Las partes de cadena pesada de un polipéptido de unión para su uso en los métodos de diagnóstico y tratamiento desvelados en el presente documento, pueden derivar de diferentes moléculas de inmunoglobulina. Por ejemplo, una parte de cadena pesada de un polipéptido puede comprender un dominio CH1 derivado de una molécula de IgG1 y una región bisagra derivada de una molécula de IgG3. En otro ejemplo, una parte de cadena pesada puede comprender una región bisagra derivada, en parte, de una molécula de IgG1 y, en parte, de una molécula de IgG3.

En otro ejemplo, una parte de cadena pesada puede comprender una bisagra quimérica derivada, en parte, de una molécula de IgG1 y, en parte, de una molécula de IgG4.

5 Por lo tanto, como también se ilustra en los ejemplos, en una realización, la región constante del anticuerpo de la presente invención o parte del mismo, en particular, el dominio CH2 y/o CH3, aunque opcionalmente también el dominio CH1, es heterólogo a la región variable del anticuerpo monoclonal humano nativo aislado de acuerdo con el método de la presente invención. En este contexto, la región o regiones constantes heterólogas son, preferentemente, de origen humano, en el caso de aplicaciones terapéuticas del anticuerpo de la presente invención, pero también podrían ser, por ejemplo, de origen roedor, en el caso de estudios en animales; véanse también los ejemplos.

10 Como se usa en el presente documento, la expresión "parte de cadena ligera" incluye secuencias de aminoácidos derivadas de una cadena ligera de inmunoglobulina. Preferentemente, la parte de cadena ligera comprende al menos uno de un dominio V<sub>L</sub> o C<sub>L</sub>.

15 Como se ha indicado anteriormente, las estructuras subunitarias y la configuración tridimensional de las regiones constantes de las diversas clases de inmunoglobulinas son bien conocidas. Como se usa en el presente documento, la expresión "dominio V<sub>H</sub>" incluye el dominio variable amino terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina y la expresión "dominio CH1" incluye el primer (el más amino terminal) dominio de región constante de una cadena pesada de inmunoglobulina. El dominio CH1 es adyacente al dominio V<sub>H</sub> y es amino terminal a la región bisagra de una molécula de cadena pesada de inmunoglobulina.

20 Como se usa en el presente documento, la expresión "dominio CH2" incluye la parte de una molécula de cadena pesada que se extiende, por ejemplo, desde aproximadamente el resto 244 al resto 360 de un anticuerpo utilizando esquemas de numeración convencionales (restos 244 a 360, sistema de numeración de Kabat; y restos 231-340, sistema de numeración de la UE; véase Kabat EA *et al.*, en la referencia citada). El dominio CH2 es único ya que no está emparejado estrechamente con otro dominio. Más bien, entre los dos dominios CH2 de una molécula de IgG nativa e intacta, se interponen dos cadenas de hidratos de carbono ramificadas unidas a N. También está bien documentado que el dominio CH3 se extiende desde el dominio CH2 hasta el C-terminal de la molécula de IgG y comprende aproximadamente 108 restos.

25 Como se usa en el presente documento, la expresión "región bisagra" incluye la parte de una molécula de cadena pesada que une el dominio CH1 con el dominio CH2. Esta región de bisagra comprende aproximadamente 25 restos y es flexible, permitiendo así que las dos regiones de unión a antígeno N-terminales se muevan independientemente. Las regiones bisagra pueden subdividirse en tres dominios distintos: dominios bisagra superior, central e inferior; véase Roux *et al.*, J. Immunol. 161 (1998), 4083.

30 Como se usa en el presente documento, la expresión "enlace disulfuro" incluye el enlace covalente formado entre dos átomos de azufre. El aminoácido cisteína comprende un grupo tiol que puede formar un enlace disulfuro o un puente con un segundo grupo tiol. En la mayoría de las moléculas de IgG de origen natural, las regiones CH1 y CL están unidas por un enlace disulfuro y las dos cadenas pesadas están unidas por dos enlaces disulfuro en las posiciones correspondientes a 239 y 242 utilizando el sistema de numeración de Kabat (posición 226 o 229, sistema de numeración de la UE).

35 Como se usa en el presente documento, los términos "unido(a)", "fusionado(a)" o "fusión", se utilizan indistintamente. Estos términos se refieren a la unión entre dos o más elementos o componentes, por cualquier medio, incluyendo la conjugación química o medios recombinantes. Una "fusión en fase" se refiere a la unión de dos o más polinucleótidos en fase abierta de lectura (ORF, *open reading frame*) para formar una ORF continua más larga, de una manera que conserve la fase de lectura traslacional correcta de las ORF originales. Por lo tanto, una proteína de fusión recombinante es una proteína única que contiene dos o más segmentos que corresponden a polipéptidos codificados por las ORF originales (cuyos segmentos no están normalmente unidos así en la naturaleza). Aunque la fase de lectura se hace así continua a lo largo de los segmentos fusionados, los segmentos pueden estar separados física o espacialmente, por ejemplo, mediante secuencias enlazadoras en fase. Por ejemplo, los polinucleótidos que codifican las CDR de una región variable de inmunoglobulina pueden fusionarse, en fase, pero pueden estar separados por un polinucleótido que codifique al menos una región estructural de inmunoglobulina o regiones CDR adicionales, siempre que las CDR "fusionadas" se traduzcan conjuntamente como parte de un polipéptido continuo.

#### Características de unión:

40 Los términos "unión" o "reconocimiento", utilizados indistintamente en el presente documento, generalmente significan que una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo, se une a un epítipo predeterminado a través de su dominio de unión a antígeno, y que la unión conlleva cierta complementariedad entre el dominio de unión a antígeno y el epítipo. De acuerdo con esta definición, se dice que un anticuerpo se "une específicamente" a un epítipo cuando se une a ese epítipo, a través de su dominio de unión a antígeno, más fácilmente de lo que se uniría a un epítipo aleatorio, no relacionado. En el presente documento, el término "especificidad" se utiliza para calificar la afinidad relativa por la cual un determinado anticuerpo se une a un determinado epítipo. Por ejemplo, se

puede considerar que el anticuerpo "A" tiene una mayor especificidad por un epítipo determinado que el anticuerpo "B" o se puede decir que el anticuerpo "A" se une al epítipo "C" con una mayor especificidad que la del epítipo "D" relacionado. Los epítopos no relacionados suelen formar parte de un antígeno no específico (por ejemplo, BSA (seroalbúmina bovina), caseína, o cualquier otro polipéptido especificado), que puede utilizarse para calcular la especificidad de unión de una molécula de unión determinada. A este respecto, la expresión "unión específica" se refiere a la unión de un anticuerpo con un antígeno predeterminado con una  $K_D$  que es al menos dos veces menor que su  $K_D$  para unirse a un antígeno no específico. La expresión unión "sumamente específica", como se usa en el presente documento, significa que la  $K_D$  relativa del anticuerpo para el epítipo diana específico es al menos 10 veces menor que la  $K_D$  para unir ese anticuerpo a otros ligandos.

Cuando está presente, la expresión "características de unión inmunológica" u otras características de unión de un anticuerpo con un antígeno, en todas sus formas gramaticales, se refiere a la especificidad, afinidad, reactividad cruzada, y a otras características de unión de un anticuerpo.

Por "se une preferencialmente", se entiende que la molécula de unión, por ejemplo, el anticuerpo, se une específicamente a un epítipo más fácilmente de lo que se uniría a un epítipo similar, homólogo o análogo, relacionado. Por lo tanto, un anticuerpo que "se une preferencialmente" a un epítipo determinado se uniría más probablemente a ese epítipo que a un epítipo relacionado, incluso aunque dicho anticuerpo pueda reaccionar de forma cruzada con el epítipo relacionado.

Como ejemplo no limitativo, se puede considerar que una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo, se une preferencialmente a un primer epítipo si se une a dicho primer epítipo con una constante de disociación ( $K_D$ ) que es menor que la  $K_D$  del anticuerpo para el segundo epítipo. En otro ejemplo no limitativo, se puede considerar que un anticuerpo se une preferencialmente a un primer antígeno si se une al primer epítipo con una afinidad que es al menos un orden de magnitud menor que la  $K_D$  del anticuerpo para el segundo epítipo. En otro ejemplo no limitativo, se puede considerar que un anticuerpo se une preferencialmente a un primer epítipo si se une al primer epítipo con una afinidad que es al menos dos órdenes de magnitud menor que la  $K_D$  del anticuerpo para el segundo epítipo.

En otro ejemplo no limitativo, se puede considerar que una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo, se une preferencialmente a un primer epítipo si se une al primer epítipo con una velocidad de desactivación ( $k(\text{off})$ ) que es menor que la  $k(\text{off})$  para el anticuerpo para el segundo epítipo. En otro ejemplo no limitativo, se puede considerar que un anticuerpo se une preferencialmente a un primer epítipo si se une al primer epítipo con una afinidad que es al menos un orden de magnitud menor que la  $k(\text{off})$  para el segundo epítipo. En otro ejemplo no limitativo, se puede considerar que un anticuerpo se une preferencialmente a un primer epítipo si se une al primer epítipo con una afinidad que es al menos dos órdenes de magnitud menor que la  $k(\text{off})$  para el segundo epítipo.

Se puede decir que una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado desvelado en el presente documento, se une a una molécula de interés de la presente invención, a un fragmento o variante del mismo, con una velocidad de desactivación ( $k(\text{off})$ ) menor que o igual a  $5 \times 10^{-2} \text{ seg}^{-1}$ ,  $10^{-2} \text{ seg}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-3} \text{ seg}^{-1}$  o  $10^{-3} \text{ seg}^{-1}$ . Más preferentemente, se puede decir que un anticuerpo de la invención se une a una molécula de interés de la presente invención, o a un fragmento o variante del mismo, con una velocidad de desactivación ( $k(\text{off})$ ) menor que o igual a  $5 \times 10^{-4} \text{ seg}^{-1}$ ,  $10^{-4} \text{ seg}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{ seg}^{-1}$  o  $10^{-5} \text{ seg}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-6} \text{ seg}^{-1}$ ,  $10^{-6} \text{ seg}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-7} \text{ seg}^{-1}$  o  $10^{-7} \text{ seg}^{-1}$ .

Se puede decir que una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, variante o derivado desvelado en el presente documento, se une a una molécula de interés de la presente invención o un fragmento o variante del mismo, con una velocidad ( $k(\text{on})$ ) mayor que o igual a  $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ ,  $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ ,  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$  o  $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ . Más preferentemente, se puede decir que un anticuerpo de la invención se une a una molécula de interés de la presente invención o a un fragmento o variante del mismo con una velocidad ( $k(\text{on})$ ) mayor que o igual a  $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ ,  $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ ,  $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$  o  $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$  o  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ seg}^{-1}$ .

Se dice que una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo, inhibe competitivamente la unión de un anticuerpo de referencia con un epítipo determinado, si se une preferencialmente a ese epítipo en la medida en que bloquea, hasta cierto grado, la unión del anticuerpo de referencia con el epítipo. La inhibición competitiva puede determinarse mediante cualquier método conocido en la materia, por ejemplo, ensayos de competición de tipo ELISA. Se puede decir que un anticuerpo inhibe competitivamente la unión del anticuerpo de referencia con un epítipo determinado en al menos un 90 %, al menos un 80 %, al menos un 70 %, al menos un 60 % o al menos un 50 %.

Como se usa en el presente documento, el término "afinidad" se refiere a una medida de la intensidad de la unión de un epítipo individual con la CDR de una molécula de unión, por ejemplo, una molécula de inmunoglobulina; véase, por ejemplo, Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2ª ed. (1988) en las páginas 27-28. Como se usa en el presente documento, el término "avidez" se refiere a la estabilidad global del complejo entre una población de inmunoglobulinas y un antígeno, es decir, la intensidad de combinación funcional de una mezcla de inmunoglobulina con el antígeno; véase, por ejemplo, Harlow en las páginas 29-34. La avidez está relacionada con la afinidad de las moléculas de inmunoglobulina individuales en la población con epítopos específicos y también con las valencias de las inmunoglobulinas y del antígeno. Por ejemplo, la interacción entre un

anticuerpo monoclonal bivalente y un antígeno con una estructura epitópica sumamente repetitiva, tal como un polímero, sería uno de alta avidéz. La afinidad o avidéz de un anticuerpo por un antígeno puede determinarse experimentalmente utilizando cualquier método adecuado; véase, por ejemplo, Berzofsky et al., "Antibody-Antigen Interactions" en *Fundamental Immunology*, Paul, W. E., Ed., Raven Press Nueva York, N Y (1984), Kubly, Janis Immunology, W. H. Freeman y Company Nueva York, NY (1992), y los métodos descritos en el mismo. Las técnicas generales para medir la afinidad de un anticuerpo por un antígeno incluyen ELISA, RIA y resonancia de plasmón superficial. La afinidad medida de una interacción particular entre un anticuerpo y un antígeno puede variar si se mide en condiciones diferentes, por ejemplo, concentración salina, pH. Por lo tanto, las mediciones de afinidad y de otros parámetros de unión a antígeno, por ejemplo,  $K_D$ ,  $Cl_{50}$ , se realizan preferentemente con soluciones normalizadas de anticuerpo y antígeno y con un tampón normalizado.

Las moléculas de unión, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno, variantes o derivados de los mismos de la invención, también se pueden describir o especificar en cuanto a su reactividad cruzada. Como se usa en el presente documento, la expresión "reactividad cruzada" se refiere a la capacidad de un anticuerpo, específico para un antígeno, de reaccionar con un segundo antígeno; una medida de la relación entre dos sustancias antigénicas diferentes. Por lo tanto, un anticuerpo reacciona de manera cruzada si se une a un epítipo diferente al que indujo su formación. El epítipo que reacciona de manera cruzada generalmente contiene muchas de las mismas características estructurales complementarias que el epítipo inductor, y en algunos casos, puede realmente ajustarse mejor que el original.

Por ejemplo, determinados anticuerpos tienen cierto grado de reactividad cruzada, ya que se unen a epítopos relacionados pero no idénticos, por ejemplo, epítopos con al menos un 95 %, al menos un 90 %, al menos un 85 %, al menos un 80 %, al menos un 75 %, al menos un 70 %, al menos un 65 %, al menos un 60 %, al menos un 55 % y al menos un 50 % de identidad (calculada utilizando métodos conocidos en la materia y descritos en este documento) con un epítipo de referencia. Se puede decir que un anticuerpo tiene poca o ninguna reactividad cruzada si no se une a epítopos con menos de un 95 %, menos de un 90 %, menos de un 85 %, menos de un 80 %, menos de un 75 %, menos de un 70 %, menos de un 65 %, menos de un 60 %, menos de un 55 % y menos de un 50 % de identidad (calculada utilizando métodos conocidos en la materia y descritos en este documento) con un epítipo de referencia. Un anticuerpo puede considerarse "sumamente específico" para un epítipo determinado, si no se une a ningún otro análogo, ortólogo u homólogo de ese epítipo.

Las moléculas de unión, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno, variantes o derivados de los mismos de la invención, también se pueden describir o especificar en cuanto a su afinidad de unión con una molécula de interés de la presente invención. Las afinidades de unión preferidas incluyen aquellas con una constante de disociación o  $K_D$  menor que  $5 \times 10^{-2}$  M,  $10^{-2}$  M,  $5 \times 10^{-3}$  M,  $10^{-3}$  M,  $5 \times 10^{-4}$  M,  $10^{-4}$  M,  $5 \times 10^{-5}$  M,  $10^{-5}$  M,  $5 \times 10^{-6}$  M,  $10^{-6}$  M,  $5 \times 10^{-7}$  M,  $10^{-7}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M,  $10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-9}$  M,  $10^{-9}$  M,  $5 \times 10^{-10}$  M,  $10^{-10}$  M,  $5 \times 10^{-11}$  M,  $10^{-11}$  M,  $5 \times 10^{-12}$  M,  $10^{-12}$  M,  $5 \times 10^{-13}$  M,  $10^{-13}$  M,  $5 \times 10^{-14}$  M,  $10^{-14}$  M,  $5 \times 10^{-15}$  M o  $10^{-15}$  M. Típicamente, el anticuerpo se une con una constante de disociación ( $K_D$ ) de  $10^{-7}$  M o menor con su antígeno predeterminado. Preferentemente, el anticuerpo se une a su antígeno afín con una constante de disociación ( $K_D$ ) de  $10^{-9}$  M o menor, y aún más preferentemente con una constante de disociación ( $K_D$ )  $10^{-11}$  M o menor.

#### Modificaciones de anticuerpos:

La inmunoglobulina o sus ADNc codificantes pueden modificarse aún más. Por lo tanto, en una realización adicional, el método de la presente invención comprende una cualquiera de las etapas de producción de un anticuerpo quimérico, anticuerpo monocatenario, fragmento Fab', anticuerpo biespecífico, anticuerpo de fusión, anticuerpo marcado o un análogo de uno cualquiera de esos. Los expertos en la materia conocen y describen métodos correspondientes, por ejemplo, en Harlow y Lane, "Antibodies, A Laboratory Manual", CSH Press, Cold Spring Harbor, 1988. Como se ha explicado anteriormente, el anticuerpo de la invención puede existir en una variedad de formas además de como anticuerpos completos; incluyendo, por ejemplo, Fv, Fab y  $F(ab)_2$ , así como en formas monocatenarias; véase, por ejemplo, la solicitud internacional WO88/09344.

Los anticuerpos de la presente invención o su cadena o cadenas de inmunoglobulina correspondientes, pueden modificarse adicionalmente utilizando técnicas convencionales conocidas en la materia, por ejemplo, utilizando una o más deleciones, inserciones, sustituciones, adiciones y/o recombinaciones de aminoácidos y/o cualquier otra modificación o modificaciones conocidas en la materia ya sea en solitario o en combinación. El experto en la materia conoce bien métodos para introducir dichas modificaciones en la secuencia de ADN subyacente a la secuencia de aminoácidos de una cadena de inmunoglobulina; véase, por ejemplo, Sambrook, *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) N.Y. y en Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biology*, Green Publishing Associates y Wiley-Interscience, N. Y. 1994). Las modificaciones del anticuerpo de la invención incluyen derivatizaciones químicas y/o enzimáticas en uno o más aminoácidos constituyentes, incluidas las modificaciones de la cadena lateral, modificaciones de la cadena principal y modificaciones en N y C terminal, incluida la acetilación, hidroxilación, metilación, la amidación, y la unión de residuos de hidratos de carbono o lípidos, cofactores, y similares. De la misma manera, la presente invención incluye la producción de proteínas quiméricas que comprenden el anticuerpo descrito o algún fragmento del mismo en el extremo amino fusionado a una molécula heteróloga, tal como un marcador o un fármaco. Las moléculas de unión a antígeno generadas de esta manera

5 pueden utilizarse para la localización del fármaco en células que expresan las estructuras superficiales apropiadas de la célula y el tejido enfermos, respectivamente. Este direccionamiento y unión a las células podría ser útil para el suministro de agentes que son activos desde el punto de vista terapéutico o diagnóstico y para la terapia génica/suministro génico. Las moléculas/partículas con un anticuerpo de la invención se unirían específicamente a las células/tejidos que expresan el antígeno de interés particular y, por lo tanto, podrían tener un uso diagnóstico y terapéutico.

Enfermedades y trastornos:

10 A menos que se indique otra cosa, en el presente documento, los términos "trastorno" y "enfermedad" se utilizan indistintamente. La expresión "trastorno autoinmunitario", como se usa en el presente documento, es una enfermedad o un trastorno que se origina en, y se dirige contra, los tejidos u órganos del propio individuo o un co-segregado o manifestación del mismo o afección resultante del mismo. Las enfermedades autoinmunitarias se producen principalmente por una mala regulación de las respuestas inmunoadaptativas y se forman autoanticuerpos o linfocitos T autorreactivos contra autoestructuras. Casi todas las enfermedades autoinmunitarias también tienen un componente inflamatorio. Las enfermedades autoinflamatorias son principalmente inflamatorias, y algunas enfermedades autoinflamatorias clásicas se producen por defectos genéticos en rutas inflamatorias innatas. En las enfermedades autoinflamatorias, no se encuentran linfocitos T autorreactivos ni autoanticuerpos. En muchos de estos trastornos autoinmunitarios y autoinflamatorios, pueden existir diversos marcadores clínicos y de laboratorio, incluyendo, pero sin limitación, hipergammaglobulinemia, altos niveles de autoanticuerpos, depósitos complejos de antígeno-anticuerpo en los tejidos. beneficios de tratamientos con corticosteroides o inmunosupresores, y agregados de células linfoides en los tejidos afectados. Sin limitarse a ninguna teoría con respecto a trastornos autoinmunitarios mediados por linfocitos B, se cree que los linfocitos B demuestran un efecto patógeno en enfermedades autoinmunitarias humanas a través de una multitud de rutas mecanicistas, incluyendo la producción de autoanticuerpos, la formación de inmunocomplejos, la activación de células dendríticas y linfocitos T, la síntesis de citocinas, la liberación directa de quimioquinas, y que proporcionan un nido para la neoinfogénesis ectópica. Cada una de estas rutas puede participar, a diferentes grados, en la patología de enfermedades autoinmunitarias.

30 Como se usa en el presente documento, un "trastorno autoinmunitario" puede ser una enfermedad específica de órgano (es decir, la respuesta inmunitaria se dirige específicamente contra un sistema de órganos tal como el sistema endocrino, el sistema hematopoyético, la piel, el sistema cardiopulmonar, los sistemas gastrointestinal y hepático, el sistema renal, la tiroides, los oídos, el sistema neuromuscular, el sistema nervioso central, etc.) o una enfermedad sistémica que puede afectar a múltiples sistemas de órganos (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide, polimiositis, síndrome de poliendocrinopatía autoinmune de tipo 1 (APS1)/poliendocrinopatía autoinmune con candidiasis y distrofia ectodérmica (APECED, del inglés *autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy*) etc. Las enfermedades preferidas de este tipo incluyen trastornos reumatológicos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, esclerodermia, lupus, tal como LES y nefritis lúpica, polimiositis/dermatomiositis, crioglobulinemia, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos y artropatía psoriásica), trastornos gastrointestinales y hepáticos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, enfermedades inflamatorias intestinales (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), gastritis autoinmunitaria y anemia perniciosa, hepatitis autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria y celiaquía), vasculitis (tal como, por ejemplo, vasculitis negativa a ANCA (anticuerpos antineutrófilos citoplasmáticos) y vasculitis asociada a ANCA, incluyendo vasculitis de Churg-Strauss, granulomatosis de Wegener y poliangeítis microscópica), trastornos neurológicos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, esclerosis múltiple (EM), síndrome de opsoclonía-mioclónia, miastenia grave, neuromielitis óptica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, y polineuropatías autoinmunitarias), trastornos renales (tales como, por ejemplo, glomerulonefritis, síndrome de Goodpasture y la enfermedad de Berger), trastornos dermatológicos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, psoriasis, dermatitis atópica, urticaria, enfermedades del grupo del pénfigo, enfermedades penfigoides ampollas y lupus eritematoso cutáneo), trastornos hematológicos (tales como, por ejemplo, púrpura trombocitopénica, púrpura trombocitopénica trombótica, púrpura postransfusional y anemia hemolítica autoinmunitaria), aterosclerosis, uveítis, enfermedades autoinmunitarias auditivas (tales como, por ejemplo, enfermedad del oído interno y pérdida de audición), enfermedad de Behcet, síndrome de Raynaud, trasplante de órganos y trastornos endocrinos autoinmunitarios (tales como, por ejemplo, trastornos autoinmunitarios relacionados con la diabetes tales como diabetes mellitus insulino dependiente (DMID), enfermedad de Addison, enfermedad tiroidea autoinmunitaria (por ejemplo, enfermedad de Graves y tiroiditis)) y enfermedades que afectan a la generación de autoinmunidad, tal como el síndrome de poliendocrinopatía autoinmune de tipo 1 (APS1)/poliendocrinopatía autoinmune con candidiasis y distrofia ectodérmica (APECED) Miastenia Grave (MG/Timoma). Las enfermedades preferidas incluyen, por ejemplo, AR, EII, incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, vasculitis asociada a ANCA, lupus, EM, síndrome de Sjogren, enfermedad de Graves, DMID, anemia perniciosa, tiroiditis, glomerulonefritis y APS1. Son aún más preferidas la AR, la EII, el lupus y la EM, y son más preferidas la AR y la EII y son las más preferidas la AR.

65 Como ejemplos específicos de otros trastornos autoinmunitarios, como se define en el presente documento, que en algunos casos incluyen los enumerados anteriormente, se incluyen, pero sin limitación, artritis (aguda y crónica, artritis reumatoide incluyendo artritis reumatoide de inicio juvenil y estadios tales como la sinovitis reumatoide, gota o artritis gotosa, artritis inmunológica aguda, artritis inflamatoria crónica, artritis degenerativa, artritis inducida por

colágeno de tipo II, artritis infecciosa, artritis de Lyme, artritis proliferativa, artritis psoriásica, enfermedad de Still, artritis vertebral, artrosis, artritis crónica progrediente, artritis deformante, poliartritis crónica primaria, artritis reactiva, artritis menopáusica, artritis por agotamiento de estrógenos y espondilitis anquilosante/espondilitis reumatoidea), enfermedad linfoproliferativa autoinmunitaria, enfermedades cutáneas inflamatorias hiperproliferativas, psoriasis tal como psoriasis en placas, psoriasis en gota, psoriasis pustular y psoriasis de las uñas, atopia, incluidas las enfermedades atópicas, tales como la fiebre del heno y el síndrome de Job, dermatitis atópica, dermatitis por contacto alérgica y tóxica (aguda y crónica), dermatitis exfoliativa, dermatitis alérgica, urticaria, dermatitis herpetiforme, dermatitis numular, dermatitis seborreica, dermatitis no específica, síndrome de hiper IgM ligado al cromosoma X, enfermedades inflamatorias intraoculares alérgicas, urticarias, tal como urticaria alérgica crónica y urticaria idiopática crónica, urticaria por frío, incluida la urticaria crónica autoinmunitaria, miositis, polimiositis/dermatomiositis, dermatomiositis juvenil, necrolisis epidérmica tóxica, esclerodermia (incluidas las formas locales y sistémicas de esclerodermia), esclerosis múltiple (EM) tal como la EM espinoótica, EM primaria progresiva (EMPP) y EM remitente recidivante (EMRR), esclerosis sistémica progresiva, aterosclerosis, arteriosclerosis, esclerosis diseminada, esclerosis atáxica, neuromielitis óptica (NMO), enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (por ejemplo, enfermedad de Crohn, enfermedades gastrointestinales mediadas de forma autoinmunitaria, inflamación gastrointestinal, colitis tal como colitis ulcerativa, colitis ulcerosa, colitis microscópica, colitis colágena, colitis poliposa, enterocolitis necrotizante y colitis transmural colitis, y enfermedad inflamatoria intestinal autoinmunitaria), inflamación intestinal, pioderma gangrenoso, eritema nudoso, colangitis esclerosante primaria, síndrome de dificultad respiratoria, incluido el síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS) o del adulto, meningitis, inflamación de toda o parte de la úvea, iritis, coroiditis, trastornos hematológicos autoinmunitarios, enfermedad de injerto contra huésped, angioedema, tal como angioedema hereditario, lesión de los nervios craneales, como en la meningitis, herpes gestacional, enfermedades del grupo penfigoide, enfermedad del grupo pénfigo, herpes gestacional, prurito escrotal, insuficiencia ovárica prematura autoinmunitaria, pérdida súbita de la audición debida a una afección autoinmunitaria, enfermedades mediadas por IgE, tales como anafilaxia y rinitis atópica, varias formas de asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), encefalitis tal como encefalitis de Rasmussen y encefalitis límbica o del tronco encefálico, uveítis, tal como uveítis anterior, uveítis anterior aguda, uveítis granulomatosa, uveítis no granulomatosa, uveítis faecoantigénica, uveítis posterior o uveítis autoinmunitaria, glomerulonefritis (GN) con y sin síndrome nefrótico tal como glomerulonefritis crónica o aguda, tal como GN primaria, GN inmunomediada, GN membranosa (nefropatía membranosa), GN membranosa idiopática o nefropatía membranosa idiopática, GN proliferativa membranoproliferativa o proliferativa membranosa (GNPM), incluidos el Tipo I y el Tipo II, y la GN rápidamente progresiva (GNRP), nefritis proliferativa, insuficiencia endocrina poliglandular autoinmunitaria, balanitis incluida la balanitis circunscrita plasmacelular, balanopostitis, eritema anular centrifugo, eritema discrómico persistente, eritema multiforme, granuloma anular, líquen nítido, líquen escleroso y atrófico, líquen simple crónico, líquen espinoso, líquen plano, hiperqueratosis epidermolítica, queratosis premaligna (por ejemplo, queratosis actínica), pioderma gangrenoso, afecciones y respuestas alérgicas, alergias alimentarias, alergias a fármacos, alergias a los insectos, trastornos alérgicos raros, tales como diversas formas de mastocitosis, reacción alérgica, eccema incluido el eccema alérgico o atópico, eccema esteatótico, eccema dishidrótico, pustulosis palmoplantar, eccema palmoplantar vesicular, asma, tal como asma bronquial, asma bronquial y asma autoinmunitario, afecciones que implican la infiltración de linfocitos T y respuestas inflamatorias crónicas, reacciones inmunitarias contra antígenos extraños tales como los grupos sanguíneos fetales A-B-O durante el embarazo, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica, miocarditis autoinmunitaria, deficiencia de adhesión de leucocitos, lupus eritematoso (LE), formas cutáneas tanto crónicas como agudas (como LE crónico cutáneo (LECC), lupus eritematoso discoide (LED), LE cutáneo subagudo (LECS)) y formas sistémicas (como LES), incluida la nefritis lúpica, lupus cerebral, lupus infantil, lupus no renal, lupus extra-renal, síndrome de lupus neonatal (LNN), diabetes mellitus de inicio juvenil (Tipo I), incluyendo la DMID infantil, diabetes mellitus de inicio en el adulto (diabetes de Tipo II), diabetes autoinmunitaria, diabetes insípida idiopática, retinopatía diabética, nefropatía diabética, colitis diabética, trastorno diabético de las arterias grandes, respuestas inmunitarias asociadas a hipersensibilidad aguda y retrasada mediada por citocinas y linfocitos T, tuberculosis, sarcoidosis, granulomatosis incluida la granulomatosis linfomatoide, agranulocitosis, vasculitis (incluida la vasculitis de vasos grandes tal como polimialgia reumática y la arteritis de células gigantes (de Takayasu)), vasculitis de vasos intermedios, tal como la enfermedad de Kawasaki y la poliarteritis nodosa/periarteritis nodosa), inmunovasculitis, vasculitis del SNC, vasculitis cutánea, vasculitis por hipersensibilidad, vasculitis necrotizante, tal como vasculitis necrotizante fibrinoide y vasculitis necrotizante sistémica, vasculitis negativa a ANCA y vasculitis asociada a ANCA, tal como síndrome de Churg-Strauss (SCS), granulomatosis de Wegener y poliangeítis microscópica), vasculitis leucocitoclástica, arteritis de la temporal, anemia aplásica, anemia aplásica autoinmunitaria, anemia positiva a Coombs, anemia de Diamond Blackfan, anemia hemolítica o anemia hemolítica inmunitaria, incluyendo anemia hemolítica autoinmunitaria (AHA), anemia perniciosa, enfermedad de Addison, anemia o aplasia pura de glóbulos rojos (APGR), deficiencia de Factor VIII, hemofilia A, neutropenia(s) autoinmunitaria(s), citopenias, tal como pancitopenia, leucopenia, enfermedades que implican la diapedesis leucocitaria, trastornos inflamatorios del SNC, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, síndrome de lesión multiorgánica tal como la secundaria a septicemia, traumatismo o hemorragia, enfermedades mediadas por el complejo antígeno-anticuerpo, enfermedad de la membrana basal antiglomerular, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, motoneuritis, neuritis alérgica, enfermedad/síndrome de Beliefs, síndrome de Castleman, síndrome de Goodpasture, síndrome de Raynaud, síndrome de Sjogren, síndrome de Stevens-Johnson, penfigoide o pénfigo, tal como penfigoide ampolloso, penfigoide cicatricial (membrana mucosa), penfigoide cutáneo, pénfigo vulgar, pénfigo paraneoplásico, pénfigo foliar, penfigoide de la membrana mucosa y pénfigo eritematoso, epidermolísis ampollosa adquirida, inflamación ocular, preferentemente inflamación ocular alérgica tal como conjuntivitis alérgica, enfermedad ampollosa por IgA lineal,

inflamación de la conjuntiva autoinmunitaria inducida, poliendocrinopatías autoinmunitarias, enfermedad o síndrome de Reiter, lesión térmica debida a una afección autoinmunitaria, preeclampsia, un trastorno del complejo inmunitario tal como nefritis del complejo inmunitario, nefritis mediada por anticuerpos, trastornos neuroinflamatorios, polineuropatías, neuropatía crónica tales como neuropatías de IgM o neuropatía mediada por IgM, trombocitopenia (tal como la desarrollada por pacientes con infarto de miocardio, por ejemplo), incluida la púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), púrpura posterior a la transfusión (PPT), trombocitopenia inducida por heparina y trombocitopenia autoinmunitaria o inmunomediada, incluyendo, por ejemplo, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), incluyendo PTI crónica o aguda, escleritis tal como ceratoescleritis idiopática, episcleritis, enfermedad autoinmunitaria del testículo y ovario incluidas la orquitis autoinmunitaria y la ooforitis, hipotiroidismo primario, hipoparatiroidismo, enfermedades endocrinas autoinmunitarias incluida la tiroiditis tal como la tiroiditis autoinmunitaria, enfermedad de Hashimoto, tiroiditis crónica (tiroiditis de Hashimoto) o tiroiditis subaguda, enfermedad tiroidea autoinmunitaria, hipotiroidismo idiopático, enfermedad de Grave, enfermedad ocular de Grave (oftalmopatía u oftalmopatía asociada a la tiroides), síndromes poliglandulares tales como síndromes poliglandulares autoinmunitarios, por ejemplo, de tipo I (o síndromes de endocrinopatía poliglandular), síndromes paraneoplásicos, incluidos los síndromes paraneoplásicos neurológicos tales como el síndrome miasténico de Lambert-Eaton o el síndrome de Eaton-Lambert, síndrome del hombre rígido o de la persona rígida, encefalomiелitis tal como encefalomiелitis alérgica o encefalomiелitis alérgica y encefalomiелitis alérgica experimental (EAE), miastenia grave, tal como miastenia grave asociada a timoma, degeneración cerebelar, neuromiotonía, opsoclonos o síndrome opsoclonos mioclonos (SOM) y neuropatía sensorial, neuropatía motora multifocal, síndrome de Sheehan, hepatitis autoinmunitaria, hepatitis crónica, hepatitis lupoide, hepatitis de células gigantes, hepatitis activa crónica o hepatitis activa crónica autoinmunitaria, neumonitis, tal como neumonitis intersticial linfoide (NIL), bronquiolitis obliterante (sin trasplante) frente a NSIP, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Berger (nefropatía por IgA), nefropatía por IgA idiopática, dermatosis por IgA lineal, dermatosis neutrofilica febril aguda, dermatosis pustular subcorneal, dermatitis acantolítica transitoria, cirrosis tal como cirrosis biliar primaria y pneumocirrosis, síndrome de enteropatía autoinmunitaria, enfermedad celiaca o celiaquía, esprúe celiaco (enteropatía por gluten), esprúe resistente al tratamiento, esprúe idiopático, crioglobulinemia, tal como crioglobulinemia mixta, esclerosis lateral amiotrófica (ELA; enfermedad de Lou Gehrig), arteriopatía coronaria, enfermedad auditiva autoinmunitaria, tal como la enfermedad autoinmunitaria del oído interno (EAIO), pérdida de la audición autoinmunitaria, policondritis, tal como policondritis resistente al tratamiento o con recaída o recidiva, proteinosis pulmonar alveolar, queratitis, tal como síndrome de Cogan/queratitis intersticial no sifilítica, parálisis de Bell, enfermedad/síndrome de Sweet, rosácea autoinmunitaria, dolor asociado con zóster, amiloidosis, una linfocitosis no cancerosa, linfocitosis primaria, que incluye linfocitosis de linfocitos B monoclonales (por ejemplo, gammapatía monoclonal benigna y gammapatía monoclonal de significado indeterminado, MGUS), neuropatía periférica, síndrome paraneoplásico, canalopatías tales como epilepsia, migraña, arritmias, trastornos musculares, sordera, ceguera, parálisis periódica y canalopatías del SNC, autismo, miopatía inflamatoria, glomeruloesclerosis focal o segmental o glomeruloesclerosis focal segmental (GSFS), oftalmopatía endocrina, uveoretinitis, corioretinitis, trastorno hepatológico autoinmunitario, fibromialgia, insuficiencia endocrina múltiple, síndrome de Schmidt, adrenalitis, atrofia gástrica, demencia presenil, enfermedades desmielinantes tales como las enfermedades desmielinantes autoinmunitarias y la 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, debida a anticuerpos contra espermatozoides, enfermedad mixta del tejido conectivo, enfermedad de Chagas, fiebre reumática, aborto recurrente, enfermedad del pulmón de granjero, eritema multiforme, síndrome posterior a cardiectomía, síndrome de Cushing, neumopatía de los avicultores, angitis granulomatosa alérgica, angitis linfocítica benigna, síndrome de Alport, alveolitis, tal como alveolitis alérgica y alveolitis fibrosante, enfermedad pulmonar intersticial, reacción a la transfusión, lepra, paludismo, enfermedades parasitarias tales como leishmaniosis, quipanosomiasis, esquistosomiasis, ascariasis, aspergilosis, síndrome de Sampter, síndrome de Caplan, dengue, endocarditis, fibrosis endomiocárdica, fibrosis pulmonar intersticial difusa, fibrosis pulmonar intersticial, mediastinitis fibrosante, fibrosis pulmonar, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis quística, endoftalmitis, eritema elevatum diutinum, eritroblastosis fetal, fascitis eosinofílica, síndrome de Shulman, síndrome de Felty, flarías, 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 (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS)), endotoxemia, pancreatitis, tirotoxicosis, infección por parvovirus, infección por el virus de la rubéola, síndromes posteriores a la vacunación, infección por rubéola congénita, infección por virus de Epstein-Barr, paperas, síndrome de Evan, insuficiencia gonadal autoinmunitaria, corea de Sydenham, nefritis posterior a estreptococos, tromboangitis obliterante, tirotoxicosis, tabes dorsal, corioiditis, polimialgia de células gigantes, neumonitis por hipersensibilidad crónica, conjuntivitis, tal como catarro vernal, queratoconjuntivitis seca y queratoconjuntivitis epidémica, síndrome nefrítico idiopático, nefropatía de cambio mínimo, familiar benigna y lesión por isquemia y reperfusión, reperfusión de órgano trasplantado, autoinmunidad retinal, inflamación articular, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica de las vías respiratorias, silicosis, aftas, estomatitis aftosa, trastornos arterioscleróticos (insuficiencia vascular cerebral), tal como encefalopatía arteriosclerótica y retinopatía arteriosclerótica, aspermiogénesis, hemolisis autoinmunitaria, enfermedad de Boeck, crioglobulinemia, contractura de Dupuytren, endoftalmia facoanafiláctica, enteritis alérgica, eritema nudoso, parálisis facial idiopática, síndrome de fatiga crónica, fiebre reumática, enfermedad de Hamman-Rich, pérdida de la audición sensorial, hemoglobinuria paroxística, hipogonadismo, ileítis regional, leucopenia, mononucleosis infecciosa, mielitis transversal, mixedema idiopático primario, nefrosis, oftalmia simpática (oftalmitis simpática), oftalmitis neonatal, neuritis óptica, orquitis granulomatosa,

pancreatitis, polirradiculitis aguda, pioderma gangrenoso, tiroiditis de Quervain, atrofia esplénica adquirida, timoma no maligno, tiritis linfocelular, vitiligo, síndrome de choque tóxico, envenenamiento por alimentos, afecciones que implican la infiltración de linfocitos T, deficiencia de adhesión leucocitaria, respuestas inmunitarias asociadas a hipersensibilidad aguda y retrasada mediada por citocinas y linfocitos T, enfermedades que implican diapédesis leucocitaria, síndrome de lesión multiorgánica, enfermedades mediadas por el complejo antígeno-anticuerpo, enfermedad de la membrana basal antiglomerular, poliendocrinopatías autoinmunitarias, ooforitis, mixedema primario, gastritis atrófica autoinmunitaria, enfermedades reumáticas, enfermedad mixta del tejido conectivo, síndrome nefrótico, insulinitis, insuficiencia poliendocrina, síndromes de enteropatía autoinmunitaria, incluyendo síndrome poliglandular de tipo I, hipoparatiroidismo idiopático de inicio en el adulto (AOIH), cardiomiopatía, tal como cardiomiopatía dilatada, epidermolisis ampollosa adquirida (EAA), hemocromatosis, miocarditis, síndrome nefrótico, colangitis esclerosante primaria, sinusitis purulenta o no purulenta, sinusitis aguda o crónica, sinusitis etmoidal, frontal, maxilar o esfenoidal, sinusitis alérgica, un trastorno relacionado con eosinófilos, tal como eosinofilia, eosinofilia por infiltración pulmonar, síndrome de eosinofilia-mialgia, síndrome de Löffler, neumonía eosinófila crónica, eosinofilia pulmonar tropical, aspergilosis bronconeumónica, aspergiloma, o granulomas que contienen eosinófilos, anafilaxia, espondiloartropatías, espondiloartropatías seronegativas, enfermedad autoinmunitaria poliendocrina, colangitis esclerosante, esclerótica, epiesclerótica, candidiasis mucocutánea crónica, síndrome de Bruton, hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de ataxia telangiectasia, angiectasia, trastornos autoinmunitarios asociados a enfermedades del colágeno, reumatismo, como artroreumatismo crónico, linfadenitis, reducción en la respuesta de la presión sanguínea, disfunción vascular, lesión tisular, isquemia cardiovascular, hiperalgesia, isquemia renal, isquemia cerebral, y enfermedades que acompañan a la vascularización, trastornos de hipersensibilidad alérgica, glomerulonefritis, lesión por reperfusión, trastorno isquémico por reperfusión, lesión por reperfusión de miocardio o de otros tejidos, traqueobronquitis linfomatosa, dermatosis inflamatoria, dermatosis con componentes inflamatorios agudos, insuficiencia multiorgánica, enfermedades ampollas, necrosis de la corteza renal, meningitis purulenta aguda u otros trastornos inflamatorios del sistema nervioso central, trastornos inflamatorios oculares y orbitales, síndromes asociados a transfusión de granulocitos, toxicidad inducida por citocinas, narcolepsia, inflamación grave aguda, inflamación crónica intratable, pielitis, hiperplasia endoarterial, úlcera péptica, valvulitis y endometriosis.

#### Etiquetas y diagnósticos:

Los agentes marcadores pueden acoplarse directa o indirectamente a los anticuerpos o antígenos de la invención. Un ejemplo de acoplamiento indirecto es mediante el uso de un residuo espaciador. Asimismo, los anticuerpos de la presente invención pueden comprender un dominio adicional, uniéndose dicho dominio por enlaces covalentes o no covalentes. El enlace puede basarse en fusión genética de acuerdo con los métodos conocidos en la materia y descritos anteriormente o puede realizarse mediante, por ejemplo, reticulación química como se describe, por ejemplo, en la solicitud internacional WO94/04686. El dominio adicional presente en la proteína de fusión que comprende el anticuerpo de la invención puede estar unido preferiblemente por un enlazador flexible, favorablemente un enlazador polipeptídico, en el que dicho enlazador polipeptídico comprende diversos aminoácidos hidrófilos, unidos a péptidos de una longitud suficiente para cubrir la distancia entre el extremo C-terminal de dicho dominio adicional y el extremo N-terminal del anticuerpo de la invención o viceversa. El agente terapéutico o de diagnóstico activo se puede acoplar al anticuerpo de la invención o un fragmento de unión a antígeno del mismo por diversos medios. Esto incluye, por ejemplo, proteínas de fusión monocatenarias que comprenden las regiones variables del anticuerpo de la invención acopladas por métodos covalentes, tales como uniones peptídicas, al agente activo desde el punto de vista terapéutico y diagnóstico. Otros ejemplos incluyen moléculas que comprenden al menos un fragmento de unión a antígeno acoplado de manera covalente o no covalente a moléculas adicionales, que incluyen las de la siguiente lista ilustrativa no limitativa. Trauneker, Int. J. Cancer Surp. SuDP 7 (1992), 51-52, describe el reactivo biespecífico janusin en el que la región Fv dirigida a CD3 está acoplada a CD4 soluble o a otros ligandos tales como OVCA e IL-7. De manera similar, las regiones variables del anticuerpo de la invención pueden construirse en moléculas Fv y acoplarse a ligandos alternativos tales como los ilustrados en el artículo citado. Higgins, J. Infect. Disease 166 (1992), 198-202, describe un anticuerpo heteroconjugado compuesto por OKT3 entrecruzado con un anticuerpo dirigido a una secuencia específica en la región V3 de GP120. Dichos anticuerpos heteroconjugados también pueden construirse utilizando al menos las regiones variables contenidas en el anticuerpo de los métodos de la invención. Como ejemplos adicionales de anticuerpos específicos se incluyen los descritos por Fanger, Cancer Treat. Res. 68 (1993), 181-194 y por Fanger, Crit. Rev. Immunol. 12 (1992), 101-124. En la materia se han descrito ampliamente conjugados que son inmunotoxinas que incluyen anticuerpos convencionales. Las toxinas pueden acoplarse a los anticuerpos mediante técnicas de acoplamiento convencionales o pueden producirse inmunotoxinas que contengan partes de toxina proteica como proteínas de fusión. Los anticuerpos de la presente invención pueden utilizarse de una manera correspondiente para obtener dichas inmunotoxinas. Se describen ejemplos ilustrativos de dichas inmunotoxinas en Byers, Seminars Cell. Biol. 2 (1991), 59-70 y en Fanger, Immunol. Today 12 (1991), 51-54.

La proteína de fusión descrita anteriormente puede comprender además un enlazador escindible o sitio escindible para proteinasas. Estos residuos espaciadores, a su vez, pueden ser insolubles o solubles (Diener et al., Science 231 (1986), 148) y pueden seleccionarse para permitir la liberación del fármaco del antígeno en el sitio diana. Son ejemplos de agentes terapéuticos que pueden acoplarse a los anticuerpos y antígenos de la presente invención para inmunoterapia quimioquinas, moléculas orientadoras, fármacos, radioisótopos, lectinas y toxinas. Los fármacos con

los que pueden conjugarse los anticuerpos y antígenos de la presente invención dependen del contexto de la enfermedad en el que se pretenda utilizar las moléculas conjugadas. Por ejemplo, los anticuerpos específicos para dianas útiles en el tratamiento de enfermedades tumorales pueden conjugarse con compuestos que se denominan clásicamente fármacos antineoplásicos, tal como mitomicina C, daunorrubicina y vinblastina. En el uso de anticuerpos o antígenos conjugados radioisotópicamente de la invención para, por ejemplo, inmunoterapia tumoral, ciertos isótopos pueden ser más preferibles que otros dependiendo de factores tales como la distribución, así como la estabilidad y la emisión, de leucocitos. Dependiendo de la respuesta autoinmunitaria, algunos emisores pueden ser preferibles a otros. En general, en inmunoterapia, se prefieren los radioisótopos emisores de partículas  $\alpha$  y  $\beta$ . Siendo los preferidos los emisores  $\alpha$  de alta energía y corto alcance, tal como  $^{212}\text{Bi}$ . Son ejemplos de radioisótopos que pueden unirse a los anticuerpos o antígenos de la invención con fines terapéuticos  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{212}\text{At}$ ,  $^{211}\text{Pb}$ ,  $^{47}\text{Sc}$ ,  $^{109}\text{Re}$  y  $^{188}\text{Re}$ . Los expertos habituales en la materia conocen o pueden determinar fácilmente, otros agentes terapéuticos que pueden acoplarse al anticuerpo o antígeno de la invención, así como protocolos terapéuticos *ex vivo* e *in vivo*. Son ejemplos no limitantes de radionúclidos, adecuados para el marcaje,  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{212}\text{Bi}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{57}\text{Co}$ ,  $^{67}\text{Cu}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{197}\text{Hg}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{113\text{m}}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{127}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{15}\text{O}$ ,  $^{13}\text{N}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{203}\text{Pb}$ ,  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{188}\text{Re}$ ,  $^{105}\text{Rh}$ ,  $^{97}\text{Ru}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{153}\text{Sm}$  y  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ . Otras moléculas adecuadas para el marcaje son un colorante fluorescente o luminiscente, una partícula magnética, un metal y una molécula que pueda detectarse a través de una etapa enzimática o de unión secundaria, tal como una etiqueta enzimática o peptídica.

Sondas fluorescentes comerciales, adecuadas para su uso como marcadores en la presente invención, se enumeran en el *Handbook of Fluorescent Probes and Research Products* (Manual de sondas fluorescentes y productos de investigación), 8ª edición. Partículas magnéticas adecuadas para su uso en ensayos basados en partículas magnéticas (EPM) pueden seleccionarse de materiales paramagnéticos, diamagnéticos, ferromagnéticos y superparamagnéticos.

Métodos generales en bioquímica molecular y celular, útiles para fines de diagnóstico, pueden encontrarse en libros de texto estándar tales como *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª Ed. (Sambrook et al., Cold Spring Harbor Laboratory Press 2001); *Short Protocols in Molecular Biology*, 4ª Ed. (Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons 1999); *Protein Methods* (Bollag et al., John Wiley & Sons 1996). Los reactivos, los medios de detección y los kits para fines de diagnóstico están disponibles en proveedores comerciales tales como Pharmacia Diagnostics, Amersham, BioRad, Stratagene, Invitrogen y Sigma-Aldrich, así como de las fuentes proporcionadas en cualquiera de las referencias citadas en el presente documento, en particular en bibliografía de patentes.

#### Tratamiento y fármacos:

Como se usa en el presente documento, los términos "tratar" o "tratamiento" se refieren tanto a tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas, cuyo objeto es prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado, tal como el desarrollo de una enfermedad autoinmunitaria y/o autoinflamatoria. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitación, alivio de los síntomas, disminución del grado de la enfermedad, cuadro clínico estabilizado (es decir, no hay empeoramiento), retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad, mejoría o paliación de la patología y 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. Entre las personas que necesitan tratamiento se incluyen las que ya tienen la afección o el trastorno, así como las que son propensas a tener la afección o trastorno o aquellas en las que se debe prevenir la manifestación de la afección o trastorno.

Si no se indica lo contrario, los términos "fármaco" "medicina," o "medicamento", se utilizan indistintamente en el presente documento e incluirán, entre otros, todos los artículos (A), medicinas y preparaciones de uso interno o externo, y cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas para su uso en el diagnóstico, curación, mitigación, tratamiento, o prevención de la enfermedad en el ser humano u otros animales; y los artículos (B), medicinas y preparaciones (que no sean alimentos) destinados a influir en la estructura o en cualquier función del cuerpo humano o de otros animales; y artículos (C) destinados a utilizarse como componentes de cualquier artículo especificado en las cláusulas (A) y (B). Los términos "fármaco", "medicina," o "medicamento", incluirán la fórmula completa de la preparación destinada para su uso en seres humanos o en otros animales que contengan uno o más "agentes", "compuestos", "sustancias" o "composiciones (químicas)" como y en algún otro contexto también otros excipientes farmacéuticamente inactivos como rellenos, disgregantes, lubricantes, deslizantes, aglutinantes o que garantizan la facilidad de transporte, disgregación, desagregación, disolución y disponibilidad biológica del "fármaco", "medicina", o "medicamento" en una ubicación diana prevista en el cuerpo de un ser humano o de otros animales, por ejemplo, en la piel, en el estómago o en el intestino. Los términos "agente", "compuesto" o "sustancia" se utilizan indistintamente en el presente documento e incluirán, en un contexto particular, aunque no de forma limitativa, agentes farmacológicamente activos, es decir, agentes que inducen un efecto biológico o farmacológico deseado o que se investigan o prueban para determinar la capacidad de inducir dicho posible efecto farmacológico mediante los métodos de la presente invención.

Como ejemplos de "fármacos antirreumáticos" y fármacos inmunosupresores se incluyen cloroquina, hidroxiclороquina, miocrisina, auranofin, sulfasalazina, metotrexato, leflunomida, etanorcept, infliximab (más metotrexato oral y subcutáneo), adalimumab etc., azatioprina, D-penicilamina, sales de oro (oral), sales de oro

(intramuscular), minociclina, ciclosporina incluyendo ciclosporina A y ciclosporina tópica, tacrolimus, micofenolato de mofetilo, ciclofosfamida, proteína estafilocócica A (Goodyear y Silverman, J. Exp. Med., 197 (2003), 125-39), incluidas sus sales y derivados, etc.

- 5 Como ejemplos de "fármacos antiinflamatorios no esteroideos" o "AINE" se incluyen aspirina, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno e ibuprofeno retardante, fenoprofeno, piroxicam, flurbiprofeno, naproxeno, ketoprofeno, naproxeno, tenoxicam, benorilato, diclofenaco, naproxeno, nabumetona, indometacina, ketoprofeno, ácido mefenámico, diclofenaco, fenbufeno, azapropazona, acemetacina, ácido tiaprofénico, indometacina, sulindaco, tolmetina, fenilbutazona, diclofenaco y diclofenaco retardante, inhibidores de ciclooxigenasa (COX)-2, tales como GR 253035, MK966, celecoxib (CELEBREX®; 4-(5-(4-metilfenil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il), benzenosulfonamida y valdecoxib (BEXTRA®), y meloxicam (MOBIC®), incluyendo sus sales y derivados, etc. Preferentemente, son aspirinas, naproxeno, ibuprofeno, indometacina o tolmetina. Dichos AINE se utilizan opcionalmente con un analgésico tal como codenina, tramadol y/o dihidrocodinina o narcóticos tales como morfina.
- 10
- 15 Por "sujeto" o "individuo" o "animal" o "paciente" o "mamífero" se entiende cualquier sujeto, particularmente un sujeto mamífero, por ejemplo, un paciente humano, para el que se desea el diagnóstico, pronóstico, prevención o terapia.

Vehículos farmacéuticos:

- 20 Los vehículos y las vías de administración farmacéuticamente aceptables pueden tomarse de la bibliografía correspondiente conocida por el experto en la materia. Las composiciones de la presente invención pueden formularse de acuerdo con métodos bien conocidos en la materia; véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (2000) by the University of Sciences in Philadelphia, ISBN 0-683-306472, Vaccine Protocols. 2ª Edición de Robinson et al., Humana Press, Totowa, Nueva Jersey, Estados Unidos, 2003; Banga, Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems. 2ª edición de Taylor y Francis. (2006), ISBN: 0-8493-1630-8. Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables son muy conocidos en la materia e incluyen soluciones salinas tamponadas con fosfato, agua, emulsiones, tales como emulsiones de aceite/agua, diferentes tipos de agentes humectantes, soluciones estériles etc. Las composiciones que comprenden dichos vehículos pueden formularse mediante métodos convencionales bien conocidos. Estas composiciones farmacéuticas pueden administrarse al sujeto a una dosis adecuada. La administración de las composiciones adecuadas puede efectuarse de diferentes maneras. Los ejemplos incluyen administrar una composición que contenga un vehículo farmacéuticamente aceptable por vía oral, intranasal, rectal, tópica, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea, subdérmica, transdérmica, intratecal e intracraneal. Las formulaciones en aerosol tales como las formulaciones pulverizadoras nasales, incluyen soluciones acuosas purificadas u otras soluciones del agente activo con agentes conservantes y agentes isotónicos. Dichas formulaciones se ajustan preferiblemente a un pH y estado isotónico compatibles con las membranas mucosas nasales. También se contemplan composiciones farmacéuticas para administración oral, tales como moléculas de anticuerpos de un solo dominio (por ejemplo, "nanobodies™"), etc. Dichas formulaciones orales pueden estar en forma de comprimidos, cápsulas, polvos, formas líquidas o semisólidas. Un comprimido puede comprender un vehículo sólido, tal como gelatina o un adyuvante. Para la administración por vía rectal o vaginal, las formulaciones pueden presentarse como un supositorio con un vehículo adecuado; véase también O'Hagan et al., Nature Reviews, Drug Discovery 2(9) (2003), 727-735. Puede encontrarse más información sobre las formulaciones que son adecuadas para varios tipos de administración en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadelfia, PA, 17ª ed. (1985) y actualizaciones correspondientes. Para una breve revisión de los métodos de suministro de fármacos véase Langer, Science 249 (1990), 1527-1533.
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45

Régimen de dosificación:

- 50 El régimen de dosificación lo determinará el médico tratante y los factores clínicos. Como se sabe bien en la técnica médica, las dosificaciones para un paciente cualquiera depende de diversos factores, incluyendo el tamaño del paciente, el área superficial corporal, la edad, el compuesto particular que se vaya a administrar, el sexo, el tiempo y la vía de administración, el estado general de salud y otros fármacos que se estén administrando al mismo tiempo. Una dosis típica puede estar, por ejemplo, en el intervalo de 0,001 a 1000 µg (de ácido nucleico para la expresión o para la inhibición de la expresión en este intervalo); sin embargo, se contemplan dosis por encima o por debajo de este intervalo ilustrativo, especialmente considerando los factores anteriormente mencionados. Generalmente, como una administración regular de la composición farmacéutica, el régimen debe estar en el intervalo de 1 µg a 10 mg unidades por día. Si el régimen es una infusión continua, también puede encontrarse en el intervalo de 1 µg a 10 mg por kilogramo de peso corporal por minuto, respectivamente. El progreso puede comprobarse mediante evaluaciones periódicas. Las preparaciones para la administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones estériles, acuosas o no acuosas. Son ejemplos de disolventes no acuosos el propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Los transportadores acuosos incluyen agua, soluciones, emulsiones o suspensiones alcohólicas/acuosas, incluyendo solución salina y medios tamponados. Los vehículos parenterales incluyen solución de cloruro sódico, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro sódico, lactato de Ringer o aceites no volátiles. Los vehículos intravenosos incluyen reabastecedores de fluidos y nutrientes, reabastecedores de electrolitos (tales como los basados en dextrosa de Ringer), y similares. También puede haber conservantes y otros aditivos, tales como, por ejemplo,
- 55
- 60
- 65

agentes antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes, y gases inertes y similares. Asimismo, la composición farmacéutica de la invención puede comprender agentes adicionales tales como agentes antitumorales y fármacos citotóxicos, dependiendo del uso previsto de la composición farmacéutica.

5 Además, puede ser deseable la coadministración o la administración secuencial de otros agentes. Una dosis o cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a esa cantidad de ingrediente activo que es suficiente para mejorar los síntomas o la afección. La toxicidad y la eficacia terapéutica de dichos compuestos puede terminarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o en animales experimentales, por ejemplo, calculando la DE50 (dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población) y la DL50 (dosis letal en el 50 % de la población). La relación de la dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la proporción DL50/DE50.

10 Preferentemente, en la composición, el agente terapéutico está presente en una cantidad que es suficiente para prevenir la inflamación o la supresión de la respuesta inmunitaria.

15 Estas y otras realizaciones se desvelan e incluyen en la descripción y en los ejemplos de la presente invención. Se puede obtener más bibliografía sobre cualquiera de los materiales, métodos, usos y compuestos a emplear de acuerdo con la presente invención, en bibliotecas públicas y bases de datos, utilizando, por ejemplo, dispositivos electrónicos. Por ejemplo, puede utilizarse la base de datos pública "Medline", que ofrece el National Center for Biotechnology Information y/o la National Library of Medicine at the National Institutes of Health. Los expertos en la materia conocen otras bases de datos y direcciones web, como las del Instituto Europeo de Bioinformática (EBI, *European Bioinformatics Institute*), que forma parte del Laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL, *European Molecular Biology Laboratory*) y también pueden obtenerse utilizando motores de búsqueda en Internet. Una descripción general de información de patentes en biotecnología y una encuesta de fuentes relevantes de información de patentes útil para la búsqueda retrospectiva y para el conocimiento actual se ofrece en Berks, TIBTECH 12 (1994), 352-364.

20 La descripción anterior describe en general la presente invención. A menos que se indique otra cosa, un término, como se usa en el presente documento, tiene la definición que se proporciona en el Diccionario Oxford de Bioquímica y Biología Molecular, Oxford University Press, 1997, revisado en el año 2000 y reimpresso en el 2003, ISBN 0 19 850673 2. A lo largo del texto de esta memoria descriptiva se citan diversos documentos. Al final de la memoria descriptiva pueden encontrarse citas bibliográficas completas justo antes de las reivindicaciones.

### 35 Ejemplos

Los Ejemplos 1 a 9 que se indican a continuación y las Figuras 1 a 8 correspondientes, ilustran adicionalmente la invención mediante los anticuerpos 17E3 y 24D3 anti-IL-17 ejemplares de la presente invención y el anticuerpo anti-IL-17 9A2 como anticuerpo de referencia. Descripciones detalladas de métodos convencionales, tales como los empleados en este documento pueden encontrarse en la bibliografía citada; véase también "The Merck Manual of Diagnosis and Therapy" séptima edición de Beers y Berkow (Merck & Co., Inc., 2003).

40 La práctica de la presente invención empleará, salvo que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están dentro de las habilidades de la técnica.

45 Los métodos en genética molecular e ingeniería genética se describen en general en las ediciones actuales de Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Sambrook et al., (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press); DNA Cloning, Volúmenes I y II (Glover ed., 1985); Oligonucleotide Synthesis (Gait ed., 1984); Nucleic Acid Hybridization (Hames y Higgins eds. 1984); Transcription And Translation (Hames y Higgins eds. 1984); Culture Of Animal Cells (Freshney y Alan, Liss, Inc., 1987); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (Miller y Calos, eds.); Current Protocols in Molecular Biology and Short Protocols in Molecular Biology, 3ª Edición (Ausubel et al., eds.); and Recombinant DNA Methodology (Wu, ed., Academic Press). Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (Miller y Calos, eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Methods In Enzymology, Vols. 154 y 155 (Wu et al., eds.); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); *the treatise*, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer y Walker, eds., Academic Press, Londres, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, Volúmenes I-IV (Weir y Blackwell, eds., 1986). Los reactivos, vectores de clonación y kits para la manipulación genética a los que se hace referencia en esta divulgación están disponibles en proveedores comerciales como BioRad, Stratagene, Invitrogen y Clontech. Se describen técnicas generales en cultivos celulares y recogida de medios en Large Scale Mammalian Cell Culture (Hu et al., Curr. Opin. Biotechnol. 8, (1997), 148); Serum-free Media (Kitano, Biotechnology 17 (1991), 73); Large Scale Mammalian Cell Culture (Curr. Opin. Biotechnol. 2, 1991, 375); and Suspension Culture of Mammalian Cells (Birch et al., Bioprocess Technol. 19 (1990), 251).

65

## Materiales y métodos

### Ensayo ELISA con IL-17

Microplacas de 96 pocillos (Costar, Estados Unidos), se recubrieron con IL-17A o IL-17F humana (ambas de BioLegend). Las placas se lavaron con PBS-T y se bloquearon durante 1 hora a temperatura ambiente con PBS que contenía BSA al 2 % (Sigma, Buchs, Suiza). Los sueros de los pacientes, el medio acondicionado con linfocitos B o las preparaciones de anticuerpos recombinantes, se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente. La unión de la IgG humana con el antígeno de interés se determinó utilizando un anticuerpo de cabra específico contra Fc-gamma humano conjugado con peroxidasa de rábano picante (Jackson ImmunoResearch, Europe Ltd., Cambridgeshire, Reino Unido) seguido de la medición de la actividad de la HRP utilizando una solución de sustrato TMB (TMB, Sigma, Buchs, Suiza).

### **Ejemplo 1: Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de pacientes con APECED/APS1**

Como material de partida para la clonación de anticuerpos completamente humanos, se utilizaron linfocitos humanos obtenidos de sangre periférica de 23 pacientes voluntarios finlandeses con poliendocrinopatía autoinmune con candidiasis y distrofia ectodérmica (APECED, OMIM 240300), denominado también síndrome de poliendocrinopatía autoinmune de tipo 1 (APS1). Estos voluntarios fueron seleccionados para la donación de sangre a través de la asociación de pacientes finlandeses de APECED y Addison. Todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito y el estudio fue aprobado por la Medicine Ethical Review Board of the Joint Authority de Helsinki y el distrito hospitalario de Uusimaa. El APECED es un trastorno autosómico recesivo causado por mutaciones en el gen *AIRE* (regulador autoinmune), localizado en el cromosoma 21 (21q22.3) y la APECED es frecuente en Finlandia (1/25.000) debido a un efecto de los portadores iniciales (fundador). Los pacientes con APECED presentan diversas disfunciones autoinmunes endocrinas que incluyen principalmente insuficiencia suprarrenal e hipoparatiroidismo, aunque también hipogonadismo de modos diversos, diabetes mellitus, tiroiditis e hipofisitis. Otros síntomas principales son la candidiasis mucocutánea crónica, la alopecia y el vitiligo (véase también anteriormente). Dado que se ha comunicado una fuerte correlación entre los niveles de IgG específicos de antígeno en el suero y la frecuencia de linfocitos B específicos de antígeno en el conjunto de memoria de células mononucleares de sangre periférica (Bernasconi *et al.* 2002, Lanzavecchia *et al.* 2006), los sueros de los pacientes se examinaron primero para detectar la presencia de autoanticuerpos contra las proteínas de interés (como IFN, IL-17) y después se seleccionaron aquellos casos de APECED con alto título (> 1: 5000) para el aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (PBMC, *peripheral blood mononuclear cell*) de la siguiente manera. Se obtuvo sangre periférica heparinizada y se diluyó con dos volúmenes de 1x PBS a TA, y las células se superpusieron en Lympholyte H, y se centrifugaron a 2000 rpm (805 rcf) a TA durante 20 minutos. Las células se recogieron en la interfase, se mezclaron en relleno de tampón de lavado, se centrifugaron a 1.500 rpm (453 rcf) durante 15 min a 4 ° C y se resuspendieron en golpecitos suaves, con 10 ml de WB. A continuación, las células se centrifugaron a 1.000 rpm (201 rcf), durante 10 min a 4 ° C y se lavaron una vez más con WB. Después, las células se resuspendieron suavemente en un volumen apropiado de FBS en hielo. Se añadió FBS para ajustar el volumen para tener 20 mio/ml, después de lo cual se añadió lentamente 1 volumen de medio de congelación (FBS 80 % (Hyclone, Thermo Scientific y DMSO 20 %, n.º 154938, Sigma) mientras se agitaba, se resuspendió y se dividió en alícuotas en crioviales sobre hielo. Los crioviales se colocaron en la caja de Mr. Frosty y se transfirieron a un congelador a -80 ° C durante un máximo de 5 días antes del procesamiento adicional como se describe en el Ejemplo 2. Como alternativa, los crioviales se conservaron en nitrógeno líquido.

### **Ejemplo 2: Clonación molecular de anticuerpos humanos específicos contra IL-17**

Preferentemente, los anticuerpos específicos contra IL-17 se aislaron mediante clonación molecular de genes de inmunoglobulina obtenidos de células clasificadas de una sola célula derivadas de cultivos oligoclonales a corto plazo de linfocitos B de memoria activados que producen los anticuerpos de interés.

Se aislaron linfocitos B de memoria de PBMC derivadas de la sangre periférica de pacientes finlandeses voluntarios con APECED con un protocolo de una sola etapa utilizando anticuerpo monoclonal (mAb) anti-IgD humana conjugado con ficoeritrina, los MAb CD3, CD56, CD8 anti IgM humana conjugados con APC y el mAb anti CD22 humano conjugado con FITC (Becton Dickinson, Basel, Suiza). La clasificación celular se llevó a cabo utilizando un clasificador celular MoFlo XDP (Beckman Coulter). Los linfocitos B positivos a CD22 y negativos a IgM y a IgD se estimularon con sobrenadante que contenía virus de Epstein-Barr (VEB) obtenido de células B95-8 (en medio de linfocitos B que contenía RPMI 1640 complementado con suero de ternera fetal al 10 %). Las células se sembraron en medio IMDM complementado con CpG 2006 a 10 células por pocillo en 30.000 PBMC alimentadoras irradiadas, preparadas de donantes voluntarios. Después de 10-14 días de estimulación, los sobrenadantes de cultivo se examinaron para detectar la presencia de anticuerpos específicos para la diana de interés (por ejemplo, IL17). El proceso de exploración comprendió la exploración con respecto a la unión en fragmentos, péptidos o derivados de la molécula particular de interés, por ejemplo, mediante ELISA. Posteriormente, se aísla el anticuerpo para el que se detecta la unión o la célula que produce dicho anticuerpo.

Las células individuales obtenidas de cultivos de linfocitos B de memoria reactivos contra IL-17 se depositan en una placa de PCR de 96 pocillos, que contiene tampón de primera cadena (Invitrogen, LuBioScience, Suiza). El ADNc se

preparó utilizando un cebador hexamérico aleatorio (Invitrogen, *LuBioScience*, Suiza). La amplificación por PCR de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina se realizó de acuerdo con protocolos estándar (Wardemann et al., *Science* 301,2003, 1374-1377). Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina se amplificaron utilizando una estrategia de PCR anidada. La primera ronda de PCR se realizó con cebadores específicos para la región constante de IgG y mezclas de cebadores específicas para todos los péptidos señal de las familias de la región variable de Ig de las cadenas pesada y ligera (Wardemann et al., *Science* 301, 2003, 1374-1377). Posteriormente, la PCR anidada se realizó utilizando mezclas de cebadores específicos para las regiones J de inmunoglobulina y la región 5' de estructura 1 de las familias de la región variable de Ig de las cadenas pesada y ligera. El análisis de secuencia se llevó a cabo para identificar clones de anticuerpos individuales presentes en el cultivo de linfocitos B seleccionado. Posteriormente, las regiones variables de Ig de las cadenas pesada y ligera de cada clon de anticuerpo se clonaron en vectores de expresión que proporcionaban las regiones constantes de IgG1 humana, Ig-Kappa humana o Ig-Lambda humana. Después de la cotransfección de los vectores de expresión de la Ig de cadena pesada y ligera en células HEK 293, se producen los clones de anticuerpos. La identificación del clon de anticuerpos, supuestamente responsables de la reactividad de IL-17, del cultivo de linfocitos B precusores, se realiza al explorar de nuevo los clones de anticuerpos recombinantes en IL-17 y en un ELISA de control.

Para identificar y corregir los errores de emparejamiento de la secuencia codificada del cebador en la región variable de Ig, se realizó una amplificación adicional por PCR utilizando un protocolo semianidado con 2 pares de cebadores específicos para una región conservada de las regiones constantes de cadena pesada y ligera de Ig como mezclas de cebadores en 3' y cebadores específicos para los péptidos señal de Ig como cebadores 5'. Los productos de PCR se clonaron en el vector TOPO™ (Invitrogen, *LuBioScience*, Lucerna, Suiza). La determinación de la secuencia de la región variable de Ig completa se llevó a cabo y la información se utilizó para diseñar cebadores específicos para la clonación de la secuencia del anticuerpo humano auténtico en vectores de expresión de anticuerpos. Este enfoque permite la identificación de la secuencia completa de anticuerpos de la región variable de Ig como ocurrió en el paciente. Esta secuencia se utilizó para la producción recombinante de estos anticuerpos que después se utilizaron en las etapas de caracterización posteriores.

### 30 Ejemplo 3: Producción y purificación de anticuerpos

La expresión génica transitoria de anticuerpos humanos se realiza después de la transfección de vectores de expresión de anticuerpos en células de riñón embrionario humano 293-T o en células de ovario de hámster chino (CHO) utilizando el método de transfección con polietilenimina (PEI, Polyscience Warrington, Estados Unidos). Después de la transfección, las células se cultivan en medio sin suero (OPTI-MEM I complementado con GlutaMAX-I Gibco). Los sobrenadantes se recogen después de 3-6 días de cultivo y la IgG se purifica utilizando columnas de proteína A (GE HealthCare, Suecia) en un dispositivo de cromatografía líquida rápida de proteínas (FPLC, del inglés *fast protein liquid chromatography*) (GE HealthCare, Suecia).

### 40 Ejemplo 4: Ensayos neutralizantes *in vitro* basados en células

Los ensayos de neutralización se realizaron en líneas celulares que respondían a la citocina estudiada, es decir, llevaban el receptor necesario. La unión del ligando con el receptor activa una ruta de señalización correspondiente, la translocación de factores de transcripción al núcleo y regula positivamente la transcripción del gen respondedor, la traducción y, si fuese aplicable, la secreción de producto. La concentración de citocina utilizada se selecciona desde el principio de la parte lineal de la curva de respuesta a la dosis para maximizar la sensibilidad del ensayo. Para analizar la capacidad neutralizante de los anticuerpos, la concentración óptima de la citocina diana se preincubó con diluciones en serie de suero, sobrenadante o muestras de anticuerpos purificados. Los resultados se expresan como título o concentración de anticuerpo que muestra el valor intermedio entre los controles positivos y negativos.

#### 50 Ensayo neutralizante de IL-17A

Se sembraron células 1BR.3.G de fibroblastos de piel humana a  $1 \times 10^4$  células/pocillo en el que la IL-17-A (2 ng/ml) se expuso previamente al suero diluido en serie, sobrenadante o muestras de anticuerpos durante 2 horas en DMEM con FBS al 10 % inactivado. Después de la incubación a 37 °C durante 16-20 horas, los sobrenadantes se recogieron y analizaron mediante ensayos ELISA para determinar la producción de un oncogén relacionado con el crecimiento (GRO, *growth-related oncogene*). A partir de gráficos de absorbancias de ensayos de tipo ELISA, los resultados se estiman como la concentración de anticuerpos en suero o título en el sobrenadante o la concentración de anticuerpos, lo que produce un valor intermedio entre los controles positivos y negativos. Los valores de DE50 se definen como la concentración o título necesario para reducir a la mitad la actividad de las citocinas de la muestra de ensayo.

#### 60 Ensayo neutralizante de IL-17F

Queratinocitos NCTC 2544 se trataron previamente durante 3 horas con TNF- $\alpha$  (0,1 ng/ml) en DMEM con FBS al 10 % inactivado. Diluciones en serie de muestras de suero, sobrenadantes de cultivo o anticuerpos purificados, se incubaron conjuntamente con 10 ng/ml de IL-17F en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos a 37 °C. Después de

2 horas de incubación conjunta, los queratinocitos se añadieron a  $1 \times 10^4$  células/pocillo. Después de la incubación a 37 °C durante 16-20 horas, los sobrenadantes se recogieron y analizaron mediante ensayos ELISA para determinar la producción de un oncogén relacionado con el crecimiento (GRO, *growth-related oncogene*). A partir de gráficos de absorbancias de ensayos ELISA, los resultados se estimaron como la concentración de anticuerpos en suero o título en el sobrenadante o la concentración de anticuerpos, lo que produce un valor intermedio entre los controles positivos y negativos. Los valores de DE50 se definieron como la concentración o título necesario para reducir a la mitad la actividad de las citocinas de la muestra de ensayo.

#### Ensayo neutralizante del heterodímero IL-17A/IL-17F

Queratinocitos NCTC 2544 se trataron previamente durante 3 horas con TNF- $\alpha$  (0,1 ng/ml) en DMEM con FBS al 10 % inactivado. Diluciones en serie de muestras de suero, sobrenadantes de cultivo o anticuerpos purificados, se incubaron conjuntamente con 5 ng/ml de heterodímero IL-17A/IL-17F en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos a 37 °C. Después de 2 horas de incubación conjunta, los queratinocitos se añadieron a  $1 \times 10^4$  células/pocillo. Después de la incubación a 37 °C durante 16-20 horas, los sobrenadantes se recogieron y analizaron mediante ensayos ELISA para determinar la producción de un oncogén relacionado con el crecimiento (GRO, *growth-related oncogene*). A partir de gráficos de absorbancias de ensayos de tipo ELISA, los resultados se estiman como la concentración de anticuerpos en suero o título en el sobrenadante o la concentración de anticuerpos, lo que produce un valor intermedio entre los controles positivos y negativos. Los valores de DE50 se definieron como la concentración o título necesario para reducir a la mitad la actividad de las citocinas de la muestra de ensayo.

#### **Ejemplo 5: Validación de anticuerpos objeto**

##### 1. Protocolo de inflamación de la piel de tipo psoriasis inducida por imiquimod en modelos animales seleccionados

Para evaluar el efecto de los autoanticuerpos anti-IL-17 derivados de APECED y de otros autoanticuerpos derivados de APECED sobre la inflamación de la piel de tipo psoriasis inducida por imiquimod, se utilizaron modelos de ratón. El dorso de ratones C57B1/6 anestesiados se rasuró 48-72 horas antes del tratamiento. Veinticuatro horas antes o después de la aplicación de imiquimod, los ratones recibieron inyección intraperitoneal de anticuerpos anti-IL-17 y otros autoanticuerpos derivados de APECED, con dosis adicionales a intervalos de 2 días. Los ratones de control recibieron inyección de Ig humana como control. Los ratones tratados recibieron una dosis tópica diaria de 62,5 mg de IMQ en crema disponible en el comercio (5%) (Aldara; 3M Pharmaceuticals) durante 5 días consecutivos. Los ratones de control se trataron con vaselina. Los ratones se puntuaron diariamente utilizando un sistema de puntuación objetivo basado en el índice de gravedad y área de psoriasis clínica (PASI, del inglés *Psoriasis Area and Severity Index*). El eritema, la descamación y el engrosamiento, se puntuaron independientemente sobre una escala de 0 a 4: 0, ninguno; 1, leve; 2, moderado; 3, marcado; 4, muy marcado. Los bazos se pesaron y los linfocitos T derivados de ganglios linfáticos se estimularon durante la noche para su análisis por citometría de flujo.

##### 2. Inducción de EAE en ratones deficientes en Aire, tratados conjuntamente con anticuerpos anti IL-17

El modelo de ratón Aire<sup>-/-</sup>, en el que se interrumpe el potencial de codificación de la proteína Aire, que se predice que precipitaría la autoinmunidad, se utilizó para investigar los efectos posiblemente protectores de los autoanticuerpos anti-IL-17 y de otros autoanticuerpos derivados de pacientes con APECED después de inducción de EAE (encefalomielitis alérgica experimental) mediante una emulsión de MOG<sub>35-55</sub> (fragmento peptídico inmunogénico de glicoproteína mielínica de los oligodendrocitos (del inglés *myelin oligodendrocyte glycoprotein*), que induce una destrucción autoinmunitaria de las células nerviosas que expresan MOG)); y CFA (adyuvante completo de Freund, del inglés *complete Freund's adjuvant*). Por ejemplo, a este respecto, se utilizaron jeringas previamente cargadas con emulsión de adyuvante completo de Freund (CFA) que contenía 1 mg de MOG<sub>35-55</sub>/ml de emulsión y 2 mg de la cepa H37Ra de *Mycobacterium tuberculosis* destruida/ml de emulsión. Ratones hembra Aire<sup>-/-</sup> y de tipo silvestre, se trataron previamente 24 horas antes del inicio de la inducción de EAE con inyección intraperitoneal de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos anti-IL-7 y anti-IFN), con dosis adicionales a intervalos de 2 días. Los ratones de control recibieron inyección de inmunoglobulina de control. Veinticuatro horas después de la administración inicial de los anticuerpos, ratones hembra Aire<sup>-/-</sup> y de tipo silvestre mínimamente estresados (al menos 7 días de aclimatación, jaulas estáticas, ambiente tranquilo) recibieron inyección subcutánea (parte dorsal superior e inferior) de emulsión de MOG<sub>35-55</sub> CFA para estimular la EAE. A las 2 horas, los ratones tratados recibieron inyección intraperitoneal de toxina tosferínica para exacerbar la inducción de EAE, con una dosis adicional de toxina tosferínica subcutánea administrada a las 22-26 horas. La inducción de EAE se puntuó 7 días después del inicio y más adelante utilizando la escala de observación clínica estándar de Hooke Lab, puntuando la gravedad del fenotipo EAE en una escala de 0-5. Un fenotipo con una puntuación de 0 representa que no hay cambios evidentes, mientras que un fenotipo con una puntuación de 5 indica parálisis completa de las patas delanteras y traseras.

##### 3. Protocolo para inducir EAE en modelos de ratón

Para investigar el efecto de los autoanticuerpos anti-IL-17 y de otros autoanticuerpos derivados de APECED, después de la inducción de EAE mediante una emulsión de MOG<sub>35-55</sub> (péptido inmunogénico de MOG que precipita una destrucción autoinmunitaria de células nerviosas que expresan MOG) y CFA, se utilizó un modelo de ratón.

Ratones hembra Aire<sup>-/-</sup> y de tipo silvestre, se trataron previamente 24 horas antes del inicio de la inducción de EAE con inyección intraperitoneal de anticuerpos anti-IL-17, con dosis adicionales a intervalos de 2 días. Como control, los ratones de control recibieron inyección de Ig. Veinticuatro horas después de la administración inicial de los anticuerpos, ratones hembra Aire<sup>-/-</sup> y de tipo silvestre mínimamente estresados (al menos 7 días de aclimatación, jaulas estáticas, ambiente tranquilo) recibieron inyección subcutánea (parte dorsal superior e inferior) de emulsión MOG<sub>35-55</sub> y CFA para provocar la EAE. A las 2 horas, los ratones tratados recibieron inyección intraperitoneal de toxina tosferínica para exacerbar la inducción de EAE, con una dosis adicional subcutánea de toxina tosferínica administrada a las 22-26 horas. La inducción de EAE se puntuó 7 días después del inicio y posteriormente utilizando la escala de observación clínica estándar de Hooke Lab, puntuando la gravedad del fenotipo EAE en una escala de 0-5. Un fenotipo con una puntuación de 0 representa que no hay cambios evidentes, mientras que un fenotipo con una puntuación de 5 indica parálisis completa de las patas delanteras y traseras.

#### 4. Protocolo para inducir artritis inducida por colágeno en modelos de ratón.

Para investigar el efecto de los autoanticuerpos anti-IL-17 y otros autoanticuerpos derivados de APECED sobre la inducción de artritis inducida por colágeno (AIC), se utilizó un modelo de ratón. Veinticuatro horas antes de la inducción de la AIC, ratones C57B1/6 se trataron previamente con autoanticuerpos derivados de APECED inyectados por vía intraperitoneal, con dosis adicionales a intervalos de 2 días (como control se utilizó Ig). La artritis inducida por colágeno se provocó con inyección intradérmica (2 x inyecciones en la base de la cola) de colágeno de tipo II procedente de pollo (preparado con CFA a una relación de 1: 1) extraído de cartílago de esternón de pollo. Catorce días después de la inducción, se inyectó, por vía intradérmica, un refuerzo adicional de colágeno de tipo II de pollo e IFA a una relación de 1:1. Los ratones se controlaron y se puntuaron con respecto a la artritis todos los días a partir de 2 semanas después de la inmunización primaria, produciéndose un inicio típico de artritis entre las 3 y 6 semanas posteriores a la inmunización, y se puntuó mediante un control clínico (puntuando la hinchazón de las patas traseras con calibradores), midiendo los anticuerpos anti-colágeno (ELISA utilizando placas recubiertas con colágeno), las respuestas de linfocitos T (proliferación de linfocitos T en respuesta al colágeno de pollo según lo determinado utilizando incorporación de [3H] timidina) o un ensayo ELISA con citocinas.

#### 5. Protocolo para inducir colitis por DSS en modelos de ratón.

Para evaluar el efecto de autoanticuerpos anti-IL-17 y de otros autoanticuerpos derivados de APECED, sobre la inducción de colitis por DSS, se utilizaron modelos de ratón. Veinticuatro horas antes de la inducción de la colitis por DSS, ratones C57B1/6 se trataron previamente con autoanticuerpos derivados de APECED inyectados por vía intraperitoneal, con dosis adicionales a intervalos de 2 días. La colitis crónica por DSS se indujo mediante ciclos de agua potable que contenía DSS al 2 % durante 5 días, seguido de 14 días con agua potable esterilizada en autoclave sin DSS; repetido durante 3 ciclos. Los ratones de control recibieron solo agua potable esterilizada en autoclave. La inducción y la gravedad de la colitis inducida por DSS se midió mediante evaluación histológica (tinción con hematoxilina y eosina en secciones de parafina), cultivo de órganos de espesor completo (con una colección de sobrenadantes a las 24 horas para el análisis de citocinas) o muestreo directo de tejidos para qPCR (PCR cuantitativa) o inmunotransferencia. Los ratones sometidos a colitis inducida por DSS también se pesaron diariamente para determinar el grado de pérdida de peso, ya que la colitis está sumamente asociada a enfermedad consuntiva.

La eficacia de los anticuerpos derivados de seres humanos contra citocinas u otras moléculas relevantes, también se evaluará para determinar los efectos de dichos anticuerpos, por ejemplo, anti-IL-17F sobre la inflamación en tejido humano injertado en cepas de ratones inmunodeficientes, tal como se describe en Wang *et al.*, *Sci Transl Med* 3 (2011):83ra42.

#### **Ejemplo 6: Resultados de inflamación de la piel de tipo psoriasis inducida por imiquimod**

En ratones tratados con Imiquimod por vía tópica para inducir inflamación de la piel de tipo psoriasis (véase en la Fig. 3 la cronología y el esquema de tratamiento experimental), los anticuerpos anti-IL-22 [HD-MAB] derivados de APECED reducen significativamente las puntuaciones del índice de gravedad y área de psoriasis (PASI) en relación con los anticuerpos IgG de control.

Análogamente, los experimentos realizados con el anticuerpo 24D3, anti-IL-17, ejemplar, específico humano, no tuvieron ningún efecto sobre las lesiones psoriasiformes inducidas por imiquimod, validando la especificidad del anticuerpo 24D3 contra el antígeno humano.

#### **Ejemplo 7: Resultados del fenotipo inducido de inflamación de oreja**

El fenotipo de inflamación de oreja se indujo en ratones C57BL/ 6J (TS) de 8 semanas de vida mediante inyección intradérmica de citocinas humanas IL-17A o IL-17F o PBS en cada oreja, suministrada a días alternos el Día 1, el Día 3, el Día 5 y el Día 7 [20 ul/oreja, 500 ng/oreja, 1 µg/ ratón/día]. El tratamiento con el anticuerpo 24D3, anti-IL-17 ejemplar de la presente invención, se analizó en estos animales con respecto a su potencial neutralizante para reducir el fenotipo inducido de inflamación de oreja. Cada dos días, durante 8 días comenzando con la primera IP el

día 0, se administraron cuatro inyecciones IP de 24D3 o de IgG humana de control [200 µg/IP] a los animales, antes de la inducción de la inflamación de la oreja. Para analizar un posible efecto terapéutico de los anticuerpos de la presente invención, se controló el peso corporal y el grosor de la oreja de los animales durante la administración del anticuerpo. Asimismo, se realizaron tinciones histológicas con H&E (hematoxilina y eosina; [52, 53]) de las orejas.

5 La combinación de dos experimentos independientes mostró que la inducción de la hinchazón de la oreja con la inyección intradérmica de IL-17F humana se reducía en presencia del anticuerpo neutralizante 24D3, siendo esto significativo el día 8; véanse las Figs. 4A, D y F. La inducción de la inflamación de la oreja con la inyección intradérmica de IL-17A humana no se ve afectada por el tratamiento de 24D3, lo que valida aún más la especificidad de este anticuerpo para la IL-17F humana; véanse las Figs. 4A y C y la Fig. 4E. El nivel de inflamación de la oreja después de la inyección intradérmica continua del tratamiento de control con PBS, no se ve afectado por la presencia de IgG ni de 24D3; véanse las Figs. 4A, B y F. La normalización de los datos obtenidos frente a los valores obtenidos en los controles tratados con PBS alcanza un mayor significado con respecto a los valores lo que indica el efecto terapéutico del anticuerpo anti-IL-17F ejemplar; véanse, en particular, las Figs. 4J y L. El efecto terapéutico del anticuerpo anti-IL-17F ejemplar de la presente invención se confirma además mediante los datos preliminares obtenidos al controlar el peso de los animales tratados con 24D3, que muestran una pérdida de peso casi nula o al menos enormemente reducida después de la inducción de la inflamación mediante inyecciones de IL-17F; véase la Fig. 5.

### 20 **Ejemplo 8: Mapeo epitópico de anticuerpos a-IL17 ejemplares**

Como una primera etapa de mapeo, para determinar el número de diferentes sitios de unión, se examinó la unión diferencial de los MAB a-IL17 a distintos sitios de unión a antígeno.

25 Para este fin, se han utilizado dos enfoques. En el primer enfoque, los MAB se expresaron con Fc humano (hMAB) o de ratón (hmMAB) y los experimentos de competición cruzada se llevaron a cabo mediante recubrimiento de antígeno en placas y detectando la unión de los hmMAB en presencia de un gran exceso de MAB humanos. La detección de los hmMAB unidos al ligando se realizó mediante un anticuerpo secundario conjugado con HRP dirigido contra la parte Fc del anticuerpo primario. Como puede observarse en la Fig. 6, los anticuerpos a-IL-17 ejemplares, 30 17E3 y 24D3 de la presente invención, compiten entre sí pero no con el anticuerpo 9A2, lo que indica que el anticuerpo 9A2 se une a otro sitio distinto al de 17E3 y 24D3.

Posteriormente, se intentó mapear las regiones de unión de los MAB con sus antígenos respectivos utilizando el análisis PepStar™. En el presente documento, se diseñaron péptidos de 20 unidades (solapamiento de 15 aminoácidos) para cubrir la IL-17A y la IL-17F, incluidas todas las variantes conocidas. los péptidos y el antígeno de longitud completa (como control positivo) se aplicaron en la micromatriz y la micromatriz peptídica se incubó con el anticuerpo primario seguido de un anticuerpo secundario marcado de manera fluorescente dirigido contra la parte Fc del anticuerpo primario. Para evitar negativos falsos causados por el impedimento estérico, entre la superficie de vidrio y la secuencia peptídica derivada de antígeno se insertó un residuo enlazador hidrófilo optimizado.

40 En la Fig. 7 se muestran los resultados del mapeo de los MAB a-IL-17 ejemplares. Los antígenos de longitud completa aplicados conjuntamente fueron generalmente bien reconocidos en la micromatriz peptídica. No todos los MAB a-IL-17 muestran una unión clara, sin embargo, a diferencia de los péptidos, debido a la orientación y al uso de lisinas de superficie para inmovilizar antígeno, la baja intensidad de señal o la ausencia de señal no se correlaciona necesariamente con una ausencia de unión. La intensidad de unión esperada que se observará cuando se une a un péptido específico está en el intervalo de 60.000. Todos los anticuerpos muestran patrones de unión muy débiles con péptidos unidos a micromatrices, lo que indica que no se reconocen péptidos lineales derivados de su antígeno específico. Estos datos sugieren que los MAB contra IL17 se unen a epítomos conformacionales; para un resumen de las características de los anticuerpos véase la Tabla 3 del Ejemplo 9.

### 50 **Ejemplo 9: Mediciones de la afinidad de los anticuerpos utilizando tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR, *surface plasmon resonance*)**

Para determinar la afinidad de los anticuerpos de la presente invención, se realizaron mediciones de SPR utilizando un instrumento ProteOn™ XPR36, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (BIO-RAD; Hercules, USA). En primer lugar, el anticuerpo anti-IgG humana se acopló simultáneamente en 5 superficies de la matriz de interacción 6 x 6 de una microplaca detectora GLC mediante química EDC/NHS, en la sexta superficie no se inmovilizó ningún sexto anticuerpo, aunque la superficie se trató con el mismo protocolo de activación y desactivación que el de las otras cinco superficies. Posteriormente, los MAB (ligandos) que se analizaron se inyectaron en 6 canales de la microplaca (en dirección vertical) y se capturaron simultáneamente a una eficacia de captura y porcentaje de actividad muy similares. Posteriormente, la microplaca se giró 90 grados y se inyectó el analito a analizar en dirección horizontal a diferentes concentraciones que variaban de 100 nM a 1,23 nM, representando cada curva de asociación/disociación una concentración diferente (A1-Rojo, 100 nM, A2-Cian (33,33 nM), A3-Azul (11,11 nM), A4-Verde (3,70 nM), A5-Rosa (1,23 nM), A6-Naranja, solo tampón corriente) en la Fig 8. Los datos se referenciaron utilizando las regiones entre aplicaciones entre los canales de flujo. Los experimentos de unión se repitieron dos veces y los datos se representaron como una media de dos experimentos independientes.

Las inyecciones de IL-17F mostraron respuestas dependientes de la concentración en las superficies con anticuerpos 9A2, 17E3 y 24D3 inmovilizados, lo que confirma su especificidad de unión hacia IL-17. En la fase de disociación pudo observarse un "aumento" en la respuesta que parece reflejar una asociación y disociación simultáneas durante esta fase. Las posibles causas de esto son la agregación de antígenos en la superficie del anticuerpo o la acumulación de antígenos de los tubos del instrumento. Debido a datos complejos en la fase de disociación, es imposible determinar con precisión la  $k_d$  y, por lo tanto, la cinética, sin embargo, la afinidad parece ser muy alta cuando se excluye la inmensa mayoría de los datos de "disociación", y puede calcularse la  $k_a$  que varía de aproximadamente  $3 \times 10^5$  (17E3), sobre aproximadamente de  $6 \times 10^5$  1/Ms (24D3) a aproximadamente  $8 \times 10^5$  1/M (9A2). No hay pruebas de comportamiento no 1: 1, es decir, no hay pruebas de un ligando heterogéneo.

**Tabla 3: Sumario de las características de los anticuerpos a-IL-17 ejemplares 9A2, 17E3 y 24D3 de la presente invención. F-IL-17F A-IL17A h-humana**

MAB	a-IL17-9A2	a-IL17-17E3	a-IL17-24D3
ID del paciente	APS1-18	APS1-16	APS1-16
unión ELISA	IL-17F (h)	IL-17 A e IL-17F (h)	IL-17F (h)
Isotipo	IgG1, K	IgG1, K	IgG1, $\lambda$
CE <sub>50</sub> (ng/ml)	3(F)	2 (F); 824 (A)	2 (F)
sitio de competición cruzada	I	II	II
Mapeo epitópico	Conformacional	Conformacional	Conformacional
Afinidad (SPR)	(alta afinidad)	(alta afinidad)	(alta afinidad)
Neutralización CI <sub>50</sub> (ng/ml)	IL-17F: 45	IL-17F: 15	IL-17F: 12-22
	IL-17A/F: no neutr	IL-17A/F: 12	IL-17A/F: 6-14

## 15 Referencias

- Peterson P, Org T, Rebane A. Transcriptional regulation by AIRE: molecular mechanisms of central tolerance. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 948-57.
- Mathis D, Benoist C. Aire. *Annu Rev Immunol* 2009; 27:287-312.
- Nagamine K, Peterson P, Scott HS et al. Positional cloning of the APECED gene. *Nat Genet* 1997; 17:393-8.
- Finnish-GermanAPECEDConsortium. An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nat Genet* 1997; 17:399-403.
- Husebye ES, Perheentupa J, Rautemaa R et al. Clinical manifestations and management of patients with autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Intern Med* 2009; 265:514-29.
- Kisand K, Lilic D, Casanova JL et al. Mucocutaneous candidiasis and autoimmunity against cytokines in APECED and thymoma patients: clinical and pathogenetic implications. *Eur J Immunol* 2011; 41:1517-27.
- Ramsey C, Winqvist O, Puhakka L et al. Aire deficient mice develop multiple features of APECED phenotype and show altered immune response. *Hum Mol Genet* 2002; 11:397-409.
- Kuroda N, Mitani T, Takeda N et al. Development of autoimmunity against transcriptionally unexpressed target antigen in the thymus of Aire-deficient mice. *J Immunol* 2005; 174:1862-70.
- Jiang W, Anderson MS, Bronson R et al. Modifier loci condition autoimmunity provoked by Aire deficiency. *J Exp Med* 2005; 202:805-15.
- Pontynen N, Miettinen A, Arstila TP et al. Aire deficient mice do not develop the same profile of tissue-specific autoantibodies as APECED patients. *J Autoimmun* 2006; 27:96-104.
- Kekalainen E, Miettinen A, Arstila TP. Does the deficiency of Aire in mice really resemble human APECED? *Nat Rev Immunol* 2007; 7:1.
- Hubert FX, Kinkel SA, Crewther PE et al. Aire-deficient C57BL/6 mice mimicking the common human 13-base pair deletion mutation present with only a mild autoimmune phenotype. *J Immunol* 2009; 182:3902-18.
- Meager A, Visvalingam K, Peterson P et al. Anti-interferon autoantibodies in autoimmune polyendocrinopathy syndrome type 1. *PLoS Med* 2006; 3:e289.
- Toth B, Wolff AS, Halasz Z et al. Novel sequence variation of AIRE and detection of interferon-omega antibodies in early infancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010; 72:641-7.
- Meloni A, Furcas M, Cetani F et al. Autoantibodies against type I interferons as an additional diagnostic criterion for autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:4389-97.
- Kisand K, Link M, Wolff AS et al. Interferon autoantibodies associated with AIRE deficiency decrease the expression of IFN-stimulated genes. *Blood* 2008; 112:2657-66.
- Kisand K, Peterson P. Autoimmune polyendocrinopathy candidiasis ectodermal dystrophy: known and novel aspects of the syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1246:77-91.
- Meager A, Vincent A, Newsom-Davis J et al. Spontaneous neutralising antibodies to interferon--alpha and interleukin-12 in thymoma-associated autoimmune disease. *Lancet* 1997; 350:1596-7.
- Kisand K, Boe Wolff AS, Podkrajsek KT et al. Chronic mucocutaneous candidiasis in APECED or thymoma patients correlates with autoimmunity to Th17-associated cytokines. *J Exp Med* 2010; 207:299-308.
- Burbelo PD, Browne SK, Sampaio EP et al. Anti-cytokine autoantibodies are associated with opportunistic infection in patients with thymic neoplasia. *Blood* 2010; 116:4848-58.

21. Holbro A, Jauch A, Lardinois D et al. High prevalence of infections and autoimmunity in patients with thymoma. *Hum Immunol*; 73:287-90.
22. Puel A, Doffinger R, Natividad A et al. Autoantibodies against IL-17A, IL-17F, and IL-22 in patients with chronic mucocutaneous candidiasis and autoimmune polyendocrine syndrome type I. *J Exp Med* 2010; 207: 291-7.
23. Oftedal BE, Kampe O, Meager A et al. Measuring autoantibodies against IL-17F and IL-22 in autoimmune polyendocrine syndrome type I by radioligand binding assay using fusion proteins. *Scand J Immunol* 2011; 74:327-33.
24. Wolk K, Witte E, Witte K et al. Biology of interleukin-22. *Semin Immunopathol* 2010; 32: 17-31.
25. Puel A, Picard C, Cypowyj S et al. Inborn errors of mucocutaneous immunity to *Candida albicans* in humans: a role for IL-17 cytokines? *Curr Opin Immunol* 2010; 22: 467-74.
26. Pestka S, Krause CD, Walter MR. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev* 2004; 202:8-32.
27. Cho JS, Pietras EM, Garcia NC et al. IL-17 is essential for host defense against cutaneous *Staphylococcus aureus* infection in mice. *J Clin Invest* 2010; 120:1762-73.
28. Conti HR, Gaffen SL. Host responses to *Candida albicans*: Th17 cells and mucosal candidiasis. *Microbes Infect* 2010; 12:518-27.
29. Wolff AS, Erichsen MM, Meager A et al. Autoimmune polyendocrine syndrome type 1 in Norway: phenotypic variation, autoantibodies, and novel mutations in the autoimmune regulator gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:595-603.
30. Burbelo PD, Ching KH, Klimavicz CM et al. Antibody profiling by Luciferase Immunoprecipitation Systems (LIPS). *J Vis Exp* (2009); 32:1549.
31. Hassler S, Ramsey C, Karlsson MC et al. Aire-deficient mice develop hematopoietic irregularities and marginal zone B-cell lymphoma. *Blood* 2006; 108:1941-8.
32. Teesalu K, Agardh D, Panarina M et al. A modified ELISA for improved detection of IgA, IgG, and IgM anti-tissue transglutaminase antibodies in celiac disease. *Clin Chim Acta* 2009; 403:37-41.
33. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3:797-801.
34. Kisand KE, Kisand KV, Karvonen AL et al. Antibodies to pyruvate dehydrogenase in primary biliary cirrhosis: correlation with histology. *Apms* 1998; 106:884-92.
35. Brozzetti A, Marzotti s, La Torre D et al. Autoantibody responses in autoimmune ovarian insufficiency and in Addison's disease are IgG1 dominated and suggest a predominant, but not exclusive, Th1 type of response. *Eur J Endocrinol* 2010; 163:309-17.
36. Boe AS, Bredholt G, Knappskog PM et al. Autoantibodies against 21-hydroxylase and side-chain cleavage enzyme in autoimmune Addison's disease are mainly immunoglobulin G1. *Eur J Endocrinol* 2004; 150:49-56.
37. Aalberse R. The role of IgG antibodies in allergy and immunotherapy. *Allergy* 2011; 66 Suppl 95:28-30.
38. van der Neut Kolfschoten M, Schuurman J, Losen M et al. Anti-inflammatory activity of human IgG4 antibodies by dynamic Fab arm exchange. *Science* 2007; 317:1554-7.
39. Mobs C, Slotosch C, Loffler H et al. Cellular and humoral mechanisms of immune tolerance in immediate-type allergy induced by specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 147:171-8.
40. Muller UR. Bee venom allergy in beekeepers and their family members. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5:343-7.
41. Aoki V, Sousa JX, Jr., Diaz LA. Pathogenesis of endemic pemphigus foliaceus. *Dermatol Clin* 2011; 29:413-8, viii.
42. Zen Y, Nakanuma Y. Pathogenesis of IgG4-related disease. *Curr Opin Rheumatol* 2011; 23:114-8.
43. Wang X, Laan M, Bichele R et al. Post-Aire maturation of thymic medullary epithelial cells involves selective expression of keratinocyte-specific autoantigens. *Front Immun* 2011; 3:doi: 10.3389/fimmu.2012.00019.
44. Vincent AC, McConville J, Newsom-Davis J. Is "seronegative" MG explained by autoantibodies to MuSK? *Neurology* 2005; 64:399; respuesta del autor
45. Grant GA. Synthetic peptides for production of antibodies that recognize intact proteins. *Curr Protoc Protein Sci* 2002; capítulo 18, unidad 18 3.
46. Quadt-Akabayov SR, Chill JH, Levy R et al. Determination of the human type I interferon receptor binding site on human interferon-alpha2 by cross saturation and an NMR-based model of the complex. *Protein Sci* 2006; 15:2656-68.
47. Bleicher L, de Moura PR, Watanabe L et al. Crystal structure of the IL-22/IL-22R1 complex and its implications for the IL-22 signaling mechanism. *FEBS Lett* 2008; 582:2985-92.
48. Ahlgren KM, Moretti S, Lundgren BA et al. Increased IL-17A secretion in response to *Candida albicans* in autoimmune polyendocrine syndrome type 1 and its animal model. *Eur J Immunol* 2011; 41:235-45.
49. Backes, C., Keller, A., Kuentzer, J., Kneissl, B., Comtesse, N., Elnakady, Y.A., Muller, R., Meese, E., y Lenhof, H.P. GeneTrail - advanced gene set enrichment analysis. *Nucleic Acid Research, Web Server Issue* 2007.
50. Keller, A., Backes, C., Al-Awadhi, M., Gerasch, A., Kuentzer, J., Kohlbacher, O., Kaufmann, M., y Lenhof, H.P. GeneTrailExpress: a web-based pipeline for the statistical evaluation of microarray experiments. *BMC Bioinformatics* 2008, 9:552
51. Keller, A., Backes, C., y Lenhof, H.P. Computation of significance scores of unweighted Gene Set Enrichment Analyses. *BMC Bioinformatics*, 2007

52. Harris H.F.: On the rapid conversion of hematoxylin into haematein in staining reactions. *Journal of Applied Microscopic Laboratory Methods* 1900; 3:777.

53. Mallory F.B.: *Pathological technique*. Filadelfia, Saunders, 1938.

54. Aranda, B. et al. 2010. The IntAct molecular interaction database in 2010. *Nucleic acids research* 38: D525-D531.

55. Ashburner, M. et al. 2000. Gene Ontology: tool for the unification of biology. *Nature genetics* 25: 25.

56. Cerami, E.G., Gross, B.E., Demir, E., Rodchenkov, I., Babur, O., Anwar, N., Schultz, N., Bader, GD, y Sander, C. 2011. Pathway Commons, a web resource for biological pathway data. *Nucleic acids research* 39: D685-D690.

57. Flicek, P. et al. 2009. Ensembl's 10th year. *Nucleic Acids Research*.

58. Kelder, T., van Iersel, M.P., Hanspers, K., Kutmon, M., Conklin, B.R., Evelo, C.T., y Pico, A.R. 2012. WikiPathways: building research communities on biological pathways. *Nucleic Acids Research* 40: D1301-D1307.

59. Laakso, M., y Hautaniemi, S. 2010. Integrative platform to translate gene sets to networks. *Bioinformatics* 26: 1802-1803.

60. Zanzoni, A., Montecchi-Palazzi, L., Quondam, M., Ausiello, G., Helmer-Citterich, M., y Cesareni, G. 2002. MINT: a Molecular INteraction database. *FEBS letters* 513: 135-140.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> ImmunoQure AG

<120> Método para proporcionar anticuerpos monoclonales con especificidad deseada

<130> IM11A01/P-WO

<150> EP 11 195 952.4

<151> 28-12-2011

<150> US 61/580,837

<151> 28-12-2011

<160> 81

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 20

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótido (cebador) 6F

<400> 1

tgacaggctgt gggaactcca 20

<210> 2

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótido (cebador) 6R

<400> 2

agaaaaagag ctgtaccctg tg 22

<210> 3

<211> 22

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Oligonucleótido (cebador) 3R

<400> 3

ES 2 726 539 T3

tgcaaggaag agggggtca gc 22  
 <210> 4  
 <211> 21  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 10 <223> Oligonucleótido (cebador) 49300F  
 <400> 4  
 tccaccacaa gccgaggaga t 21  
 <210> 5  
 15 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 20 <223> Oligonucleótido (cebador) 49622R  
 <400> 5  
 acgggctcct caaacaccac t 21  
 25 <210> 6  
 <211> 378  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*  
 30 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(378)  
 <223> secuencia de cadena pesada variable (VH) 9A2-VH; 9A2: IgG1, kappa  
 35 <220>  
 <221> V\_región  
 <222> (91)..(105)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR1  
 40 <220>  
 <221> V\_región  
 <222> (148)..(198)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR2  
 45 <220>  
 <221> V\_región  
 <222> (295)..(345)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR3  
 50 <400> 6

ES 2 726 539 T3

gag	gtg	caa	ttg	gag	gag	tct	ggc	gga	ggc	ttg	gtt	cag	cct	gga	ggg	48
Glu	Val	Gln	Leu	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
1			5						10					15		
tcc	ctg	aga	ctc	tcc	tgt	gca	gcc	tct	gga	ttc	ccc	ttc	agc	aac	tat	96
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Pro	Phe	Ser	Asn	Tyr	
			20						25					30		
gaa	atg	aat	tgg	gtc	cgc	cag	gct	ccc	ggg	aag	gga	ctg	gag	tgg	att	144
Glu	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile	
		35					40					45				
tca	tac	att	agt	gtg	agc	ggg	ggg	ccc	gct	cac	tac	gca	gac	tct	gtg	192
Ser	Tyr	Ile	Ser	Val	Ser	Gly	Gly	Pro	Ala	His	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	
	50					55					60					
aag	ggc	cga	ttc	acc	att	tcc	aga	gac	gac	gcc	aca	aag	tca	ctg	ttt	240
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ala	Thr	Lys	Ser	Leu	Phe	
65					70					75					80	
ctg	caa	atg	aac	cgc	ctg	aga	gcc	gac	gac	acg	gca	gtt	tat	tac	tgt	288
Leu	Gln	Met	Asn	Arg	Leu	Arg	Ala	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
			85						90					95		
gtg	cgc	cgc	gaa	tat	gtc	act	ggc	cgc	aat	tac	aac	tac	tac	ccc	tac	336
Val	Arg	Arg	Glu	Tyr	Val	Thr	Gly	Arg	Asn	Tyr	Asn	Tyr	Tyr	Pro	Tyr	
			100					105					110			
atg	gac	gtc	tgg	ggc	act	ggg	acc	acg	gtc	acc	gtc	tcc	cca			378
Met	Asp	Val	Trp	Gly	Thr	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Pro			
		115					120					125				

<210> 7  
 <211> 126  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 7

ES 2 726 539 T3

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

- <210> 8
- <211> 321
- 5 <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
  
- <220>
- <221> CDS
- 10 <222> (1)..(321)
- <223> secuencia de cadena ligera variable (VL) 9A2-VL, de tipo kappa
  
- <220>
- <221> V\_región
- 15 <222> (70)..(102)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR1
  
- <220>
- <221> V\_región
- 20 <222> (148)..(168)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR2
  
- <220>
- <221> V\_región
- 25 <222> (265)..(291)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR3
  
- <400> 8

ES 2 726 539 T3

gac atc cag atg acc cag tct ccg tcc tcc ctg tct gct tct gtt ggg 48  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

gac aga gtc acc atc act tgc cgg gca agt cag acc ata agt gat tat 96  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asp Tyr  
 20 25 30

tta aat tgg tac cag cac aaa cca ggg gaa gcc cct aaa ctc cta atc 144  
 Leu Asn Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Glu Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

tat tct gca tcc acc ttg caa cgt ggg gtg cct tca cgg ttc agt ggc 192  
 Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

agt gga tct ggg aca gat ttc gtt ttc acc att agt agt ctg cag tct 240  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Val Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser  
 65 70 75 80

gat gat ttt gcg act tac tac tgt caa cag act tcc agt acc gcc ctc 288  
 Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ser Ser Thr Ala Leu  
 85 90 95

act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag gtc aaa 321  
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Val Lys  
 100 105

<210> 9  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 9

5

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 Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Asp Tyr  
 20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Thr Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Ser Ser Thr Ala Leu  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Val Lys  
 100 105

15

<210> 10  
 <211> 993

ES 2 726 539 T3

<212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(990)  
 <223> secuencia de cadena pesada constante (CH) 9A2-CH

<400> 10

5

10

gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys 1 5 10 15	48
agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr 20 25 30	96
ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser 35 40 45	144
ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser 50 55 60	192
ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr 65 70 75 80	240
tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys 85 90 95	288
aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys 100 105 110	336
cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro 115 120 125	384
aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys	432

ES 2 726 539 T3

130		135		140												
gtg	gtg	gtg	gac	gtg	agc	cac	gaa	gac	cct	gag	gtc	aag	ttc	aac	tgg	480
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	
145					150					155					160	
tac	gtg	gac	ggc	gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	aag	ccg	cgg	gag	528
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	
			165						170					175		
gag	cag	tac	aac	agc	acg	tac	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtc	ctg	576
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	
			180					185					190			
cac	cag	gac	tgg	ctg	aat	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	624
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	
		195					200					205				
aaa	gcc	ctc	cca	gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	672
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	
	210					215					220					
cag	ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gat	gag	720
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	
225					230					235					240	
ctg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tat	768
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
			245						250					255		
ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	816
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	
			260					265					270			
aac	tac	aag	acc	acg	cct	ccc	gtg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	864
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	
		275					280					285				
ctc	tac	agc	aag	ctc	acc	gtg	gac	aag	agc	agg	tgg	cag	cag	ggg	aac	912
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	
		290				295					300					
gtc	ttc	tca	tgc	tcc	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	960
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	
305					310					315					320	
cag	aag	agc	ctc	tcc	ctg	tct	ccg	ggt	aaa	tga						993
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
			325						330							

<210> 11  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 11

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

5

10

ES 2 726 539 T3

			20					25						30			
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser		
		35					40					45					
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser		
	50					55					60						
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr		
65					70					75					80		
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys		
			85						90					95			
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys		
			100					105					110				
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro		
		115					120					125					
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys		
	130					135					140						
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp		
145					150					155					160		
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu		
				165					170					175			
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu		
			180					185					190				
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn		
		195					200					205					
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly		
	210					215					220						
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu		
225					230					235					240		
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr		
			245						250					255			
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn		
			260					265					270				

ES 2 726 539 T3

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

- <210> 12
- <211> 324
- 5 <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
  
- <220>
- <221> CDS
- 10 <222> (1)..(321)
- <223> Secuencia de cadena kappa (CL) constante 9A2-CL
  
- <220>
- <221> misc\_feature
- 15 <222> (260)..(260)
- <223> no secuenciado pero obtenido de la base de datos
  
- <220>
- <221> misc\_feature
- 20 <222> (298)..(324)
- <223> no secuenciado pero obtenido de la base de datos
  
- <400> 12

ES 2 726 539 T3

```

cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag      48
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1          5          10          15

cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc      96
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
          20          25          30

tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa      144
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
          35          40          45

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc      192
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
          50          55          60

acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag      240
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65          70          75          80

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg      288
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
          85          90          95

ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag      324

```

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
100 105

<210> 13  
<211> 107  
5 <212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 13

```

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1          5          10          15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
          20          25          30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
          35          40          45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
          50          55          60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65          70          75          80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
          85          90          95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
          100          105

```

10

ES 2 726 539 T3

<210> 14  
 <211> 387  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(387)  
 <223> secuencia de cadena pesada variable (VH) 17E3-VH; 17E3: IgG1, kappa

10

<220>  
 <221> V\_región  
 <222> (91)..(105)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR1

15

<220>  
 <221> V\_región  
 <222> (148)..(198)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR2

20

<220>  
 <221> V\_región  
 <222> (295)..(354)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR3

25

<400> 14

cag	gtg	caa	ctg	gtc	cag	tct	ggg	gct	gaa	gtg	gcg	aag	cct	ggg	gcc	48
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Ala	Lys	Pro	Gly	Ala	
1				5					10					15		
tca	gtg	aga	ctt	tcc	tgc	aag	gcg	tct	gga	ttc	agt	ttt	atc	aag	tat	96
Ser	Val	Arg	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Ser	Phe	Ile	Lys	Tyr	
			20					25					30			
tat	atg	cac	tgg	gtg	cga	cag	gcc	cct	gga	caa	ggg	ctt	gag	tgg	atg	144
Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
		35					40					45				
ggg	gtc	atc	gag	ccc	acc	ggt	ggt	ggc	aca	agc	tcc	gca	cag	aag	ttc	192
Gly	Val	Ile	Glu	Pro	Thr	Gly	Gly	Gly	Thr	Ser	Ser	Ala	Gln	Lys	Phe	
	50					55					60					
cga	gac	aga	gtc	acc	ctg	agc	agg	gac	acg	tcc	acg	gcc	act	gtc	cat	240
Arg	Asp	Arg	Val	Thr	Leu	Ser	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ala	Thr	Val	His	
65					70					75					80	
ttg	gaa	gtg	agt	agg	ctg	act	ctt	gag	gac	acg	ggc	att	tat	ttc	tgt	288
Leu	Glu	Val	Ser	Arg	Leu	Thr	Leu	Glu	Asp	Thr	Gly	Ile	Tyr	Phe	Cys	
				85				90						95		
gtg	aga	gac	tcc	ata	tat	tgt	aaa	cat	ggg	acc	tgt	cat	cgg	act	gtg	336
Val	Arg	Asp	Ser	Ile	Tyr	Cys	Lys	His	Gly	Thr	Cys	His	Arg	Thr	Val	
			100					105					110			
atc	gat	gct	ttt	gac	att	tgg	ggc	caa	ggg	acg	gcg	gtc	acc	gtc	tct	384
Ile	Asp	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Ala	Val	Thr	Val	Ser	
		115					120					125				
tca																387
Ser																

30

<210> 15  
 <211> 129  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 726 539 T3

<400> 15

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

Ser Val Arg Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ile Lys Tyr  
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Val Ile Glu Pro Thr Gly Gly Gly Thr Ser Ser Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

5

Arg Asp Arg Val Thr Leu Ser Arg Asp Thr Ser Thr Ala Thr Val His  
65 70 75 80

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

Val Arg Asp Ser Ile Tyr Cys Lys His Gly Thr Cys His Arg Thr Val  
100 105 110

Ile Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Ala Val Thr Val Ser  
115 120 125

Ser

10

<210> 16  
<211> 324  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

15

<220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(324)  
<223> secuencia de cadena ligera variable (VL) 17E3-VL, de tipo kappa

20

<220>  
<221> V\_región  
<222> (70)..(102)  
<223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR1

25

<220>  
<221> V\_región  
<222> (148)..(168)  
<223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR2

30

<220>  
<221> V\_region  
<222> (265)..(294)  
<223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR3

<400> 16

ES 2 726 539 T3

gac atc cag atg acc cag tct cca tcc tcc ctg tct gca tca gta gga 48  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

gac cga gtc acc atc act tgc cgg tca agt cag gac ata aaa aat gat 96  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Asp Ile Lys Asn Asp  
 20 25 30

tta gcc tgg tat cag cag aag cca gga aaa gcc cct gag cgc ctg atc 144  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Arg Leu Ile  
 35 40 45

tat gct gca tcc aat ttg cag agt ggg gtc cca tca agg ttc agc ggc 192  
 Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

agt ggc tct ggg aca gaa ttc agt ctt aca atc agt ggc ctg cag cct 240  
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

gaa gat ttt gca act tat tac tgt cta cag cat aat agt tac cct ctg 288  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu  
 85 90 95

ctc act ttc ggc gga ggg acc aag gtg gag atc aaa 324  
 Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

<210> 17  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 17

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 Ser Ser Gln Asp Ile Lys Asn Asp  
 20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu  
 85 90 95

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

10

<210> 18

ES 2 726 539 T3

<211> 993  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

5 <220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(990)  
<223> secuencia de cadena pesada constante (CH) 17E3-CH

10 <400> 18

```
gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag      48  
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
1                5                10                15
```

ES 2 726 539 T3

agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac	96
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr	
20 25 30	
ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc	144
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser	
35 40 45	
ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc	192
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser	
50 55 60	
ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc	240
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr	
65 70 75 80	
tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag	288
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys	
85 90 95	
aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc	336
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys	
100 105 110	
cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca	384
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro	
115 120 125	
aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc	432
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys	
130 135 140	
gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg	480
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp	
145 150 155 160	
tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag	528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu	
165 170 175	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg	576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu	
180 185 190	
cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac	624
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn	
195 200 205	
aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg	672
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly	
210 215 220	
cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag	720
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu	
225 230 235 240	
ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat	768
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr	
245 250 255	
ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac	816
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn	

ES 2 726 539 T3

260	265	270	
aac tac aag acc acg cct ccc gtg	ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc		864
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val	Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285	
ctc tac agc aag ctc acc gtg gac	aag agc agg tgg cag cag ggg aac		912
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp	Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300	
gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat	gag gct ctg cac aac cac tac acg		960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His	Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315	320
cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg	ggt aaa tga		993
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro	Gly Lys		
325	330		

<210> 19  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 19

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

10

ES 2 726 539 T3

```

145              150              155              160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
              165              170              175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
              180              185              190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
              195              200              205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
              210              215              220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225              230              235              240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
              245              250              255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
              260              265              270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
              275              280              285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290              295              300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305              310              315              320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
              325              330

```

- 5 <210> 20
- <211> 324
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
  
- 10 <220>
- <221> CDS
- <222> (1)..(321)
- <223> Secuencia de cadena kappa (CL) constante 17E3-CL
  
- 15 <220>
- <221> misc\_feature
- <222> (298)..(324)
- <223> no secuenciado pero obtenido de la base de datos
  
- <400> 20

ES 2 726 539 T3

```

cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag      48
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1                               5                               10                               15

cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc      96
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
                               20                               25                               30

tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa      144
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
                               35                               40                               45

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc      192
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
                               50                               55                               60

acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag      240
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65                               70                               75                               80

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg      288
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
                               85                               90                               95

ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag      324
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
                               100                              105

```

<210> 21  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 21

```

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1                               5                               10                               15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20                               25                               30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35                               40                               45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50                               55                               60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65                               70                               75                               80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85                               90                               95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100                              105

```

10

<210> 22

ES 2 726 539 T3

<211> 372  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(372)  
 <223> secuencia de cadena pesada variable (VH) 24D3-VH; 24D3: IgG1, lambda,

10 <220>  
 <221> V\_región  
 <222> (91)..(105)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR1

15 <220>  
 <221> V\_región  
 <222> (148)..(204)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR2

20 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (301)..(339)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR3

25 <400> 22

gag gtg aag ttg gag gag tct ggg gga gac ctg gta aag cct ggg ggg Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly 1 5 10 15	48
tct ctt aga ctc tcc tgt gta gcc tct gga ttc act ttc ggc acc gcc Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Thr Ala 20 25 30	96
tgg atg agc tgg gtc cgc cag gct cca ggg aag ggg ctg gag tgg gtt Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val 35 40 45	144
ggc cgt att agc aac aaa gac act ggt ggg aga ata gac tac gcc gca Gly Arg Ile Ser Asn Lys Asp Thr Gly Gly Arg Ile Asp Tyr Ala Ala 50 55 60	192
ccc gtg aga ggc aga ttc gcc atc tca aga gat gat tcg aaa gcc acc Pro Val Arg Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ala Thr 65 70 75 80	240
ctg ttt ctg caa atg aac agc ctg aaa acc gag gac aca gcc gtg tat Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr 85 90 95	288
ttt tgt act aca aat ttt tac gat gtt ttg act ggt gat cat gtt gac Phe Cys Thr Thr Asn Phe Tyr Asp Val Leu Thr Gly Asp His Val Asp 100 105 110	336
tat tgg ggc cag gga acc gtg gtc gtc gtc tcc tca Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Val Val Ser Ser 115 120	372

30 <210> 23  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 23

ES 2 726 539 T3

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

- 5 <210> 24
- <211> 318
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
  
- 10 <220>
- <221> CDS
- <222> (1)..(318)
- <223> secuencia de cadena ligera variable (VL) 24D3-VL, de tipo lambda
  
- 15 <220>
- <221> V\_region
- <222> (67)..(99)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR1
  
- 20 <220>
- <221> V\_region
- <222> (145)..(165)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR2
  
- 25 <220>
- <221> V\_region
- <222> (262)..(288)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR2
  
- <400> 24

ES 2 726 539 T3

```

tcc tat gag ctg aca cag cca ccc tcg gtg tca gtg tcc cca gga gag      48
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Glu
1          5          10          15

acg gcc agg atc ccc tgc tct gga gaa aca ttg cca aag aaa ctt gtt      96
Thr Ala Arg Ile Pro Cys Ser Gly Glu Thr Leu Pro Lys Lys Leu Val
          20          25          30

tat tgg tat cag cag aag cca ggc cag gcc cct gta ttg atg att tat      144
Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Met Ile Tyr
          35          40          45

aaa gac agt gag agg ccc tca cga ata tct gag cga ttc tct ggc tcc      192
Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Arg Ile Ser Glu Arg Phe Ser Gly Ser
          50          55          60

aac tca ggg aca atg gcc tcc ttg acc atc agt gga gtc cag gca gaa      240
Asn Ser Gly Thr Met Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu
65          70          75          80

gac gag gct gac tat tac tgt caa aca tca gac agc agt ggt gtg gtt      288
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Ser Asp Ser Ser Gly Val Val
          85          90          95

ttc ggc gga ggg acc aag ttg acc gtc tta      318
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
          100          105

```

<210> 25  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 25

```

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

Thr Ala Arg Ile Pro Cys Ser Gly Glu Thr Leu Pro Lys Lys Leu Val
          20          25          30

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

Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Arg Ile Ser Glu Arg Phe Ser Gly Ser
          50          55          60

Asn Ser Gly Thr Met Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Val Gln Ala Glu
65          70          75          80

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

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

```

10

100

105

ES 2 726 539 T3

<210> 26  
 <211> 993  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(990)  
 <223> secuencia de cadena pesada constante (CH) 24D3-CH

10

<400> 26

gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag	48
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys	
1 5 10 15	
agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac	96
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr	
20 25 30	
ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc	144
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser	
35 40 45	
ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc	192
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser	
50 55 60	
ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc	240
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr	
65 70 75 80	
tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag	288
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys	
85 90 95	
aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc	336
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys	
100 105 110	
cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca	384
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro	
115 120 125	
aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc	432
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys	
130 135 140	
gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg	480
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp	
145 150 155 160	
tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag	528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu	
165 170 175	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg	576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu	
180 185 190	

ES 2 726 539 T3

cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac 624  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg 672  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag 720  
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240

ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat 768  
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac 816  
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 864  
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac 912  
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg 960  
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga 993  
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

<210> 27  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 27

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

10

ES 2 726 539 T3

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
 225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

ES 2 726 539 T3

<210> 28  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(318)  
 <223> secuencia de cadena lambda constante (CL) 24D3-CL

10

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (250)..(321)  
 <223> no secuenciado pero obtenido de la base de datos

15

<400> 28

ggt cag ccc aag gct gcc ccc tcg gtc act ctg ttc ccg ccc tcc tct	48
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser	
1 5 10 15	
gag gag ctt caa gcc aac aag gcc aca ctg gtg tgt ctc ata agt gac	96
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp	
20 25 30	
ttc tac ccg gga gcc gtg aca gtg gcc tgg aag gca gat agc agc ccc	144
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro	
35 40 45	
gtc aag gcg gga gtg gag acc acc aca ccc tcc aaa caa agc aac aac	192
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn	
50 55 60	
aag tac gcg gcc agc agc tat ctg agc ctg acg cct gag cag tgg aag	240
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys	
65 70 75 80	
tcc cac aga agc tac agc tgc cag gtc acg cat gaa ggg agc acc gtg	288
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val	
85 90 95	
gag aag aca gtg gcc cct aca gaa tgt tca tag	321
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser	
100 105	

20

<210> 29  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25

<400> 29

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

ES 2 726 539 T3

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro  
 35 40 45

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

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
 65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
 85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 100 105

- 5 <210> 30
- <211> 372
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
  
- 10 <220>
- <221> CDS
- <222> (1)..(372)
- <223> secuencia de cadena pesada variable (VH) 30G1-VH; 30G1: IgG1, kappa
  
- 15 <220>
- <221> V\_region
- <222> (91)..(105)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR1
  
- 20 <220>
- <221> V\_region
- <222> (148)..(198)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR2
  
- 25 <220>
- <221> V\_region
- <222> (295)..(339)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR3
  
- <400> 30

ES 2 726 539 T3

gag	gtg	cag	ctg	ttg	gaa	tcg	ggg	gga	ggc	ttg	gtt	cag	ccg	ggg	ggg	48
Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
1			5					10					15			
tcc	ctg	aga	ctc	tcc	tgt	gca	gcc	tct	gga	ttc	acc	ttt	agt	acc	tat	96
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	
			20					25					30			
gcc	atg	agt	tgg	gtc	cgc	cag	gct	cca	ggg	aag	ggg	ctg	gag	tgg	gtc	144
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35					40					45				
tca	act	ata	act	agc	agt	ggt	ggt	gcc	act	tac	cac	gca	gac	tcc	gtg	192
Ser	Thr	Ile	Thr	Ser	Ser	Gly	Gly	Ala	Thr	Tyr	His	Ala	Asp	Ser	Val	
	50					55					60					
aag	ggc	cgg	ctc	acc	atc	tcc	aga	gac	aat	tcc	aag	aac	acg	ctg	tat	240
Lys	Gly	Arg	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	
65					70					75				80		
ttg	gag	atg	aac	agc	ctg	aga	gtc	gag	gac	acg	gcc	gtc	tat	tac	tgt	288
Leu	Glu	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Val	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
			85					90					95			
gcg	aaa	gat	tgg	gga	aga	acg	gtt	tat	gcg	gtg	atc	aag	gac	ctt	gac	336
Ala	Lys	Asp	Trp	Gly	Arg	Thr	Val	Tyr	Ala	Val	Ile	Lys	Asp	Leu	Asp	
			100					105					110			
atc	tgg	ggc	cag	gga	acc	ctg	gtc	acc	gtc	tcc	tca					372
Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser					
		115					120									

<210> 31  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 31

ES 2 726 539 T3

Glu Val Gln Leu Leu 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 Thr Tyr  
20 25 30

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

Ser Thr Ile Thr Ser Ser Gly Gly Ala Thr Tyr His Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Lys Asp Trp Gly Arg Thr Val Tyr Ala Val Ile Lys Asp Leu Asp  
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
115 120

- <210> 32
- <211> 324
- 5 <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
- <220>
- <221> CDS
- 10 <222> (1)..(324)
- <223> secuencia de cadena ligera variable (VL) 30G1-VL, de tipo kappa
- <220>
- <221> V\_region
- 15 <222> (70)..(102)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR1
- <220>
- <221> V\_region
- 20 <222> (148)..(168)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR2
- <220>
- <221> V\_region
- 25 <222> (265)..(294)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR3
- <400> 32

ES 2 726 539 T3

```

gaa att gtg atg aca cag tct cca gcc atc ctg tct gtg tct cca ggg      48
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1           5           10           15

gaa aga gcc acc ctc tcc tgc agg gcc agt cag agt gtt agc aac tac      96
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Tyr
           20           25           30

tta gcc tgg ttc caa caa aag cct ggc cag gct ccc agg ctc ctc atc      144
Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
           35           40           45

tat gac aca tct aag agg gcc act ggc acc ccc gcc agg ttc agt ggc      192
Tyr Asp Thr Ser Lys Arg Ala Thr Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly
           50           55           60

agt ggg tct ggg aca gac ttc act ctc acc atc agc agc cta gag cct      240
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65           70           75           80

gaa gat ttt gca gtt tat ttc tgt cag cag cgt agc gac tgg cct cag      288
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Arg Ser Asp Trp Pro Gln
           85           90           95

tac act ttt ggc cag ggg acc aaa ctg gag atc aaa      324
Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
           100          105

```

<210> 33  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 33

5

```

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

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

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

Tyr Asp Thr Ser Lys Arg Ala Thr Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly
           50           55           60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Arg Ser Asp Trp Pro Gln
           85           90           95

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

```

10

<210> 34  
 <211> 993

ES 2 726 539 T3

<212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(990)  
 <223> secuencia de cadena pesada constante (CH) 30G1-CH

10 <400> 34

gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag	48
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys	
1 5 10 15	
agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac	96
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr	
20 25 30	
ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc	144
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser	
35 40 45	
ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc	192
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser	
50 55 60	
ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc	240
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr	
65 70 75 80	
tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag	288
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys	
85 90 95	
aaa gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc	336
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys	
100 105 110	
cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca	384
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro	

ES 2 726 539 T3

115	120	125	
aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc			432
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
130	135	140	
gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg			480
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
145	150	155	160
tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag			528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
165	170	175	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg			576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
180	185	190	
cac cag gac tgg ctg aat ggc aag gag tac aag tgc aag gtc tcc aac			624
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
195	200	205	
aaa gcc ctc cca gcc ccc atc gag aaa acc atc tcc aaa gcc aaa ggg			672
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
210	215	220	
cag ccc cga gaa cca cag gtg tac acc ctg ccc cca tcc cgg gat gag			720
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu			
225	230	235	240
ctg acc aag aac cag gtc agc ctg acc tgc ctg gtc aaa ggc ttc tat			768
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
245	250	255	
ccc agc gac atc gcc gtg gag tgg gag agc aat ggg cag ccg gag aac			816
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
260	265	270	
aac tac aag acc acg cct ccc gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc			864
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
275	280	285	
ctc tac agc aag ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac			912
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
290	295	300	
gtc ttc tca tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg			960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr			
305	310	315	320
cag aag agc ctc tcc ctg tct ccg ggt aaa tga			993
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
325	330		

<210> 35  
 <211> 330  
 5 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 35

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

ES 2 726 539 T3

1				5						10					15
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55						60			
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr
65					70					75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85					90					95	
Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys
			100					105						110	
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
			115				120						125		
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
	130					135					140				
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145					150					155					160
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
				165					170						175
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
			180					185						190	
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
		195					200					205			
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
	210					215					220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225					230					235					240
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
				245					250						255

ES 2 726 539 T3

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325 330

- 5 <210> 36
- <211> 324
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
- 10 <220>
- <221> CDS
- <222> (1)..(321)
- <223> Secuencia de cadena kappa (CL) constante 30G1-CL
- 15 <220>
- <221> misc\_feature
- <222> (248)..(324)
- <223> no secuenciado pero obtenido de la base de datos
- <400> 36

```

cga act gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag      48
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1          5          10          15

cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc      96
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
          20          25          30

tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa      144
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
          35          40          45

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc      192
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
          50          55          60

acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag      240
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65          70          75          80

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg      288
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
          85          90          95

ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tag      324
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    
```

ES 2 726 539 T3

<210> 37  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 37

```

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1           5           10           15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
          20           25           30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
          35           40           45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
          50           55           60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65           70           75           80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
          85           90           95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
          100          105
    
```

10 <210> 38  
 <211> 378  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

15 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(378)  
 <223> secuencia de cadena pesada variable (VH) 35G11-VH; 35G11: IgG4, lambda,

20 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (91)..(105)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR1

25 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (148)..(198)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR2

30 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (295)..(345)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR3

35 <400> 38

ES 2 726 539 T3

cag gtg cag ctg gtt caa tct ggg tct gag ttg agg agg cct ggg gcc 48  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Arg Arg Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

tca gtg aac att tcc tgc aag gct tct ggt tac ggc ttc aat act tat 96  
 Ser Val Asn Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Gly Phe Asn Thr Tyr  
 20 25 30

gct atg aat tgg gtg cga cag gcc cct gga caa ggg cct gag tgg atg 144  
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met  
 35 40 45

gga tgg atc aac acc gac act ggg gac cca acg tac gcc cag ggg ttc 192  
 Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Asp Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe  
 50 55 60

acg gga cgg ttt gcc ttc ttc ttg gac acg tct gcc agc acg gca ttt 240  
 Thr Gly Arg Phe Ala Phe Phe Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Phe  
 65 70 75 80

ctg cag atc act cgc cta acg ggt gag gac act gcc gtg tat ttc tgt 288  
 Leu Gln Ile Thr Arg Leu Thr Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys  
 85 90 95

gcg aga act cgg aac aac tgg aac ggc gtt tac tat cac tac tcc ggt 336  
 Ala Arg Thr Arg Asn Asn Trp Asn Gly Val Tyr Tyr His Tyr Ser Gly  
 100 105 110

ttg gac gtc tgg ggc caa ggg acc acg gtc acc gtc tcc tca 378  
 Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 39  
 <211> 126  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 39

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

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

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asp Thr Gly Asp Pro Thr Tyr Ala Gln Gly Phe  
 50 55 60

Thr Gly Arg Phe Ala Phe Phe Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Phe  
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Thr Arg Leu Thr Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

10

ES 2 726 539 T3

85

90

95

Ala Arg Thr Arg Asn Asn Trp Asn Gly Val Tyr Tyr His Tyr Ser Gly  
 100 105 110

Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

- 5 <210> 40
- <211> 330
- <212> ADN
- <213> *Homo sapiens*
  
- 10 <220>
- <221> CDS
- <222> (1)..(330)
- <223> cadena ligera variable (VL) 35G11-VL, de tipo lambda
  
- 15 <220>
- <221> V\_region
- <222> (67)..(105)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR1
  
- 20 <220>
- <221> V\_region
- <222> (151)..(171)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR2
  
- 25 <220>
- <221> V\_region
- <222> (268)..(300)
- <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR3
  
- <400> 40

ES 2 726 539 T3

```

cag tct gtg ctg act cag cct ccc tct gcg tct ggg acc ccc ggg cag      48
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1          5          10          15

acg gtc acc atc tcc tgt tct gga agc agc ccc aac ctc gga gac aat      96
Thr Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Pro Asn Leu Gly Asp Asn
          20          25          30

tat gta tac tgg tac cac caa gtc cca gga acg gcc ccc aaa ctc ctc      144
Tyr Val Tyr Trp Tyr His Gln Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
          35          40          45

att ttt agg aat act cag cgg ccc tca ggg gtc act gac cga ttc tct      192
Ile Phe Arg Asn Thr Gln Arg Pro Ser Gly Val Thr Asp Arg Phe Ser
          50          55          60

ggc tcc aag tat ggc acc tca gcc tcc ctg gcc ata agt gat ctc cgg      240
Gly Ser Lys Tyr Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Asp Leu Arg
65          70          75          80

tcc gac gat gaa ggt gat ttt tac tgt gct tcg tgg gat gac cgc ctg      288
Ser Asp Asp Glu Gly Asp Phe Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Asp Arg Leu
          85          90          95

agt cgt ctg gtg ttc ggc gga ggg acc aag ctg acc gtc cta      330

```

```

Ser Arg Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
          100          105          110

```

<210> 41  
 <211> 110  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 41

```

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

Thr Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Pro Asn Leu Gly Asp Asn
          20          25          30

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

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

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

Ser Asp Asp Glu Gly Asp Phe Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Asp Arg Leu
          85          90          95

Ser Arg Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
          100          105          110

```

10

ES 2 726 539 T3

<210> 42  
 <211> 984  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(981)  
 <223> secuencia de cadena pesada constante (CH) 35G11-CH

10

<400> 42

gct tcc acc aag ggc cca tcc gtc ttc ccc ctg gcg ccc tgc tcc agg Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg 1 5 10 15	48
agc acc tcc gag agc aca gcc gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr 20 25 30	96
ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser 35 40 45	144

ES 2 726 539 T3

ggc	gtg	cac	acc	ttc	ccg	gct	gtc	cta	cag	tcc	tca	gga	ctc	tac	tcc	192
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	
	50						55				60					
ctc	agc	agc	gtg	gtg	acc	gtg	ccc	tcc	agc	agc	ttg	ggc	acg	aag	acc	240
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	
	65					70				75					80	
tac	acc	tgc	aac	gta	gat	cac	aag	ccc	agc	aac	acc	aag	gtg	gac	aag	288
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
				85						90					95	
aga	gtt	gag	tcc	aaa	tat	ggt	ccc	cca	tgc	cca	tca	tgc	cca	gca	cct	336
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro	
			100					105					110			
gag	ttc	ctg	ggg	gga	cca	tca	gtc	ttc	ctg	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	384
Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	
		115					120					125				
gac	act	ctc	atg	atc	tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	acg	tgc	gtg	gtg	gtg	432
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	
	130					135					140					
gac	gtg	agc	cag	gaa	gac	ccc	gag	gtc	cag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gat	480
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	
	145				150					155					160	
ggc	gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	aag	ccg	cgg	gag	gag	cag	ttc	528
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	
				165					170					175		
aac	agc	acg	tac	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtc	ctg	cac	cag	gac	576
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	
			180					185						190		
tgg	ctg	aac	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	ggc	ctc	624
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	
		195					200					205				
ccg	tcc	tcc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	672
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	
	210					215					220					
gag	cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cag	gag	gag	atg	acc	aag	720
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	
	225				230				235						240	
aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tac	ccc	agc	gac	768
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	
				245					250					255		
atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	816
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	
			260					265					270			
acc	acg	cct	ccc	gtg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	tac	agc	864
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	
		275					280					285				
agg	cta	acc	gtg	gac	aag	agc	agg	tgg	cag	gag	ggg	aat	gtc	ttc	tca	912
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	
	290					295					300					

ES 2 726 539 T3

tgc tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac aca cag aag agc 960  
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 305 310 315 320

ctc tcc ctg tct ctg ggt aaa tga 984  
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 325

<210> 43  
 <211> 327  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 43

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr  
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro  
 100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys  
 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val  
 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp  
 145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe  
 165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp  
 180 185 190

10

ES 2 726 539 T3

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu  
 195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg  
 210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys  
 225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys  
 260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser  
 290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser  
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 325

5 <210> 44  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(318)  
 <223> secuencia de cadena lambda constante (CL) 35G11-CL

15 <220>  
 <221> variación  
 <222> (211)..(213)  
 <223> tac puede ser también tat

20 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (250)..(321)  
 <223> no secuenciado pero obtenido de la base de datos

<400> 44

25 ggt cag ccc aag gct gcc ccc tcg gtc act ctg ttc ccg ccc tcc tct 48  
 Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser  
 1 5 10 15

ES 2 726 539 T3

gag gag ctt caa gcc aac aag gcc aca ctg gtg tgt ctc ata agt gac 96  
 Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp  
 20 25 30

ttc tac ccg gga gcc gtg aca gtg gcc tgg aag gca gat agc agc ccc 144  
 Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro  
 35 40 45

gtc aag gcg gga gtg gag acc acc aca ccc tcc aaa caa agc aac aac 192  
 Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn  
 50 55 60

aag tac gcg gcc agc agc tac ctg agc ctg acg cct gag cag tgg aag 240  
 Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
 65 70 75 80

tcc cac aga agc tac agc tgc cag gtc acg cat gaa ggg agc acc gtg 288  
 Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
 85 90 95

gag aag aca gtg gcc cct aca gaa tgt tca tag 321  
 Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 100 105

<210> 45  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 45

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro  
 35 40 45

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

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
 65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
 85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 100 105

10

<210> 46  
 <211> 354  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

15

<220>

ES 2 726 539 T3

<221> CDS  
 <222> (1)..(354)  
 <223> secuencia de cadena pesada variable (VH) 41D11-VH; 41D11: IgG1, lambda,

5 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (91)..(111)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR1

10 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (154)..(201)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR2

15 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (298)..(321)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR3

20 <400> 46

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

<210> 47  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 47

25  
 30



ES 2 726 539 T3

cag cct gtg ctg act caa tcg ccc tct gcc tct gcc tcc ctg gga gcc 48  
 Gln Pro Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ala Ser Ala Ser Leu Gly Ala

1 5 10 15  
 tcg atc aaa ctc acc tgc act ctg agc agt gga cac agc aac tac gac 96  
 Ser Ile Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gly His Ser Asn Tyr Asp  
 20 25 30

atc gct tgg cat caa cag cag tcg ggg aag ggc cct cga ttc ttg atg 144  
 Ile Ala Trp His Gln Gln Gln Ser Gly Lys Gly Pro Arg Phe Leu Met  
 35 40 45

aga gtt aac aat ggt gga agc cac aac aag ggg gac ggg atc cct gat 192  
 Arg Val Asn Asn Gly Gly Ser His Asn Lys Gly Asp Gly Ile Pro Asp  
 50 55 60

cgt ttc tca ggc tcc agc tct ggg gca gag cgc tac ctc aca atc tcc 240  
 Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Ala Glu Arg Tyr Leu Thr Ile Ser  
 65 70 75 80

agt ctc cag tct gag gat gag gct gac tat tat tgt cag aca tgg ggc 288  
 Ser Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Trp Gly  
 85 90 95

act ggc act cat gtc ttc ggc act ggg act aag gtc acc gtc ctg 333  
 Thr Gly Thr His Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu  
 100 105 110

<210> 49  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 49

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

Ser Ile Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gly His Ser Asn Tyr Asp  
 20 25 30

Ile Ala Trp His Gln Gln Gln Ser Gly Lys Gly Pro Arg Phe Leu Met  
 35 40 45

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

Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Ala Glu Arg Tyr Leu Thr Ile Ser  
 65 70 75 80

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

Thr Gly Thr His Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu  
 100 105 110

10

ES 2 726 539 T3

<210> 50  
 <211> 993  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(990)  
 <223> secuencia de cadena pesada constante (CH) 41D11-CH

10

<220>  
 <221> variación  
 <222> (877)..(879)  
 <223> ttc puede ser también ctc, por lo tanto, Phe también puede ser Leu en la posición 293 de la secuencia de aminoácidos

15

<400> 50

gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gca ccc tcc tcc aag	48
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys	
1 5 10 15	
agc acc tct ggg ggc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac	96
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr	
20 25 30	
ttc ccc gaa ccg gtg acg gtg tcg tgg aac tca ggc gcc ctg acc agc	144
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser	
35 40 45	
ggc gtg cac acc ttc ccg gct gtc cta cag tcc tca gga ctc tac tcc	192
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser	
50 55 60	
ctc agc agc gtg gtg acc gtg ccc tcc agc agc ttg ggc acc cag acc	240
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr	
65 70 75 80	
tac atc tgc aac gtg aat cac aag ccc agc aac acc aag gtg gac aag	288
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys	
85 90 95	
aga gtt gag ccc aaa tct tgt gac aaa act cac aca tgc cca ccg tgc	336
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys	
100 105 110	
cca gca cct gaa ctc ctg ggg gga ccg tca gtc ttc ctc ttc ccc cca	384
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro	
115 120 125	
aaa ccc aag gac acc ctc atg atc tcc cgg acc cct gag gtc aca tgc	432
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys	
130 135 140	
gtg gtg gtg gac gtg agc cac gaa gac cct gag gtc aag ttc aac tgg	480
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp	
145 150 155 160	
tac gtg gac ggc gtg gag gtg cat aat gcc aag aca aag ccg cgg gag	528
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu	
165 170 175	
gag cag tac aac agc acg tac cgt gtg gtc agc gtc ctc acc gtc ctg	576
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu	

20

ES 2 726 539 T3

	180		185		190												
	cac	cag	gac	tgg	ctg	aat	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	624
	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	
			195					200					205				
	aaa	gcc	ctc	cca	gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	gcc	aaa	ggg	672
	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	
		210					215					220					
	cag	ccc	cga	gaa	cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gag	gag	720
	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	
	225					230					235				240		
	atg	acc	aag	aac	cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tat	768
	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
				245						250					255		
	ccc	agc	gac	atc	gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	816
	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	
			260						265				270				
	aac	tac	aag	acc	acg	cct	ccc	gtg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	864
	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	
			275				280						285				
	ctc	tat	agc	aag	ttc	acc	gtg	gac	aag	agc	agg	tgg	cag	cag	ggg	aac	912
	Leu	Tyr	Ser	Lys	Phe	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	
		290				295						300					
	gtc	ttc	tca	tgc	tcc	gtg	atg	cat	gag	gct	ctg	cac	aac	cac	tac	acg	960
	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	
	305					310					315					320	
	cag	aag	agc	ctc	tcc	ctg	tcc	ccg	ggt	aaa	tga						993
	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
				325						330							

<210> 51  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 51

5

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

10

ES 2 726 539 T3

65					70						75					80
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
				85					90					95		
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	
			100					105					110			
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	
		115					120					125				
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	
	130					135					140					
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	
145					150					155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	
				165					170					175		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	
			180					185					190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	
		195					200					205				
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	
	210					215					220					
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	
225					230					235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
				245					250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	
			260					265					270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	
		275					280					285				
Leu	Tyr	Ser	Lys	Phe	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	
	290					295					300					
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	
305					310					315					320	

ES 2 726 539 T3

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
325 330

5 <210> 52  
<211> 321  
<212> ADN  
<213> *Homo sapiens*

10 <220>  
<221> CDS  
<222> (1)..(318)  
<223> secuencia de cadena lambda constante (CL) 41D11-CL

15 <220>  
<221> misc\_feature  
<222> (250)..(321)  
<223> no secuenciado pero obtenido de la base de datos

<400> 52

ggt cag ccc aag gcc aac ccc act gtc act ctg ttc ccg ccc tcc tct	48
Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser	
1 5 10 15	
gag gag ctc caa gcc aac aag gcc aca cta gtg tgt ctg atc agt gac	96
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp	
20 25 30	
ttc tac ccg gga gct gtg aca gtg gcc tgg aag gca gat ggc agc ccc	144
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro	
35 40 45	
gtc aag gcg gga gtg gag acc acc aaa ccc tcc aaa cag agc aac aac	192
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn	
50 55 60	
aag tac gcg gcc agc agc tac ctg agc ctg acg ccc gag cag tgg aag	240
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys	
65 70 75 80	
tcc cac aga agc tac agc tgc cag gtc acg cat gaa ggg agc acc gtg	288
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val	
85 90 95	
gag aag aca gtg gcc cct aca gaa tgt tca tag	321
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser	
100 105	

20 <210> 53  
<211> 106  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<400> 53

ES 2 726 539 T3

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

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro  
 35 40 45

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

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
 65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
 85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 100 105

5 <210> 54  
 <211> 357  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(357)  
 <223> secuencia de cadena pesada variable (VH) 51G4-VH; 51G4: IgG2, lambda,

15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(18)  
 <223> no secuenciado pero procedente de un cebador utilizado para la clonación molecular

20 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (91)..(105)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR1

25 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (148)..(198)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR2

30 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (295)..(324)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VH-CDR3

35 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (340)..(357)  
 <223> no secuenciado pero procedente de un cebador utilizado para la clonación molecular

<400> 54

ES 2 726 539 T3

gag	gtg	cag	ctg	gtg	cag	tct	ggg	gct	gag	gtg	aag	aag	cct	ggg	gcc	48
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	
1				5					10					15		
tca	gtg	aag	gtt	tca	tgt	aaa	act	tct	gga	tac	aaa	ttc	gct	ctc	tat	96
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Lys	Phe	Ala	Leu	Tyr	
			20					25					30			
gat	att	cat	tgg	gtg	cgc	cag	gcc	ccc	gga	caa	ggg	ctt	gag	tgg	atg	144
Asp	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
		35					40					45				
ggc	tgg	atc	aac	gct	gcc	aat	ggt	gac	aca	gaa	tat	tca	cag	aag	ttt	192
Gly	Trp	Ile	Asn	Ala	Ala	Asn	Gly	Asp	Thr	Glu	Tyr	Ser	Gln	Lys	Phe	
	50					55					60					
gag	ggc	aga	gtc	acc	att	acc	agg	gac	aca	tcg	gcg	act	aca	gtc	tac	240
Glu	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ala	Thr	Thr	Val	Tyr	
65					70					75					80	
atg	gag	ttg	aac	agt	ctg	aca	tat	ggc	gac	acg	gcc	gtg	tac	tac	tgt	288
Met	Glu	Leu	Asn	Ser	Leu	Thr	Tyr	Gly	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
gcg	aga	gag	gaa	ggt	ctc	tac	aac	tgg	ttc	gac	ccc	tgg	ggc	cag	gga	336
Ala	Arg	Glu	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Trp	Phe	Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	
			100					105					110			
acc	ctg	gtc	acc	gtc	tcc	tca										357
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser										
			115													

<210> 55  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 55

ES 2 726 539 T3

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

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

Asp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Ala Ala Asn Gly Asp Thr Glu Tyr Ser Gln Lys Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Glu Gly Leu Tyr Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 56  
 <211> 327  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(327)  
 223: secuencia de cadena ligera variable (VL) de 51G4, de tipo lambda

15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(18)  
 <223> no secuenciado pero procedente de un cebador utilizado para la clonación molecular

20 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (67)..(99)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR1

25 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (145)..(165)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR2

30 <220>  
 <221> V\_region  
 <222> (262)..(297)  
 <223> región determinante de la complementariedad (CDR) VL-CDR3

<400> 56

ES 2 726 539 T3

```

tcc tat gag ctg aca cag gac cct gct gtg tct gtg gcc ttg gga cag      48
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1                               5                               10                               15

aca gtc agg atc aca tgc caa gga gac agc ctc aga atc tat tat gca      96
Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ile Tyr Tyr Ala
                               20                               25                               30

aac tgg tac cag cag aag cca gga cag gcc cct gtt ctt gtc atc tat      144
Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
                               35                               40                               45

ggt aaa agc aac cgg ccc tca ggg atc cca gac cga ttc tct gcc tcc      192
Gly Lys Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Ala Ser
                               50                               55                               60

agc tca gga aac aca gct tcc ttg acc atc act ggg gct cag gcg gaa      240
Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65                               70                               75                               80

gat gag gct gac tat tac tgt aac tcc cgg gac agc agt gat aag cat      288
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Asp Lys His
                               85                               90                               95

ccc gtg cct ttc ggc ggg ggg acc aag ctg acc gtc cta      327
Pro Val Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

```

100

105

<210> 57  
 <211> 109  
 5 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 57

```

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

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

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

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

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65                               70                               75                               80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Asp Lys His
                               85                               90                               95

Pro Val Pro Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                               100                               105

```

10

ES 2 726 539 T3

```

<210> 58
<211> 981
<212> ADN
5 <213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(978)
10 <223> secuencia de cadena pesada constante (CH) 51G4-CH

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(47)
15 <223> no secuenciado pero obtenido de la base de datos

<400> 58

    gcc tcc acc aag ggc cca tcg gtc ttc ccc ctg gcg ccc tgc tcc agg      48
    Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
    1                5                10                15

    agc acc tcc gag agc aca gcg gcc ctg ggc tgc ctg gtc aag gac tac      96
    Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
                20                25                30
20

```

ES 2 726 539 T3

ttc	ccc	gaa	ccg	gtg	acg	gtg	tcg	tgg	aac	tca	ggt	gct	ctg	acc	agc	144
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	
		35					40					45				
ggc	gtg	cac	acc	ttc	cca	gct	gtc	cta	cag	tcc	tca	gga	ctc	tac	tcc	192
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	
	50					55					60					
ctc	agc	agc	gtg	gtg	acc	gtg	ccc	tcc	agc	aac	ttc	ggc	acc	cag	acc	240
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	
65					70					75					80	
tac	acc	tgc	aac	gta	gat	cac	aag	ccc	agc	aac	acc	aag	gtg	gac	aag	288
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
			85						90					95		
aca	gtt	gag	cgc	aaa	tgt	tgt	gtc	gag	tgc	cca	ccg	tgc	cca	gca	cca	336
Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	
			100				105						110			
cct	gtg	gca	gga	ccg	tca	gtc	ttc	ctc	ttc	ccc	cca	aaa	ccc	aag	gac	384
Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	
		115					120					125				
acc	ctc	atg	atc	tcc	cgg	acc	cct	gag	gtc	acg	tgc	gtg	gtg	gtg	gac	432
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	
	130					135					140					
gtg	agc	cac	gaa	gac	ccc	gag	gtc	cag	ttc	aac	tgg	tac	gtg	gac	ggc	480
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	
145					150					155					160	
gtg	gag	gtg	cat	aat	gcc	aag	aca	aag	cca	cgg	gag	gag	cag	ttc	aac	528
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	
				165					170					175		
agc	acg	ttc	cgt	gtg	gtc	agc	gtc	ctc	acc	gtt	gtg	cac	cag	gac	tgg	576
Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	
			180					185					190			
ctg	aac	ggc	aag	gag	tac	aag	tgc	aag	gtc	tcc	aac	aaa	ggc	ctc	cca	624
Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	
		195					200					205				
gcc	ccc	atc	gag	aaa	acc	atc	tcc	aaa	acc	aaa	ggg	cag	ccc	cga	gaa	672
Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	
		210				215					220					
cca	cag	gtg	tac	acc	ctg	ccc	cca	tcc	cgg	gag	gag	atg	acc	aag	aac	720
Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	
225					230					235					240	
cag	gtc	agc	ctg	acc	tgc	ctg	gtc	aaa	ggc	ttc	tac	ccc	agc	gac	atc	768
Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	
				245					250					255		
gcc	gtg	gag	tgg	gag	agc	aat	ggg	cag	ccg	gag	aac	aac	tac	aag	acc	816
Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	
			260					265					270			
aca	cct	ccc	atg	ctg	gac	tcc	gac	ggc	tcc	ttc	ttc	ctc	tac	agc	aag	864
Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	
			275				280						285			

ES 2 726 539 T3

```

ctc acc gtg gac aag agc agg tgg cag cag ggg aac gtc ttc tca tgc      912
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
    290                               295                               300

tcc gtg atg cat gag gct ctg cac aac cac tac acg cag aag agc ctc      960
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
    305                               310                               315                               320

tcc ctg tct ccg ggt aaa tga      981
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
                325

```

<210> 59  
 <211> 326  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 59

```

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1                               5                               10                               15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
    20                               25                               30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
    35                               40                               45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50                               55                               60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65                               70                               75                               80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
    85                               90                               95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
    100                               105                               110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    115                               120                               125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
    130                               135                               140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 145                               150                               155                               160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
    165                               170                               175

```

10

ES 2 726 539 T3

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
 180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
 195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
 225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
 245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
 260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
 290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 325

5 <210> 60  
 <211> 321  
 <212> ADN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)..(318)  
 <223> secuencia de cadena lambda constante (CL) 51G4-CL

15 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (27)..(321)  
 <223> no secuenciado pero obtenido de la cadena constante lambda de 24D3 del mismo paciente

<400> 60

20 agt cag ccc aag gct gcc ccc tcg gtc act ctg ttc ccg ccc tcc tct 48  
 Ser Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser  
 1 5 10 15

ES 2 726 539 T3

gag gag ctt caa gcc aac aag gcc aca ctg gtg tgt ctc ata agt gac 96  
 Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp  
 20 25 30

ttc tac ccg gga gcc gtg aca gtg gcc tgg aag gca gat agc agc ccc 144  
 Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro  
 35 40 45

gtc aag gcg gga gtg gag acc acc aca ccc tcc aaa caa agc aac aac 192  
 Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn  
 50 55 60

aag tac gcg gcc agc agc tat ctg agc ctg acg cct gag cag tgg aag 240  
 Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
 65 70 75 80

tcc cac aga agc tac agc tgc cag gtc acg cat gaa ggg agc acc gtg 288  
 Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
 85 90 95

gag aag aca gtg gcc cct aca gaa tgt tca tag 321  
 Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 100 105

<210> 61  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<400> 61

Ser Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser  
 1 5 10 15

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

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro  
 35 40 45

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

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys  
 65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val  
 85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
 100 105

10

<210> 62  
 <211> 34  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15

## ES 2 726 539 T3

<220>  
<223> Oligonucleótido/cebador directo F1 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 34-76 de IL-22

5 <400> 62  
ttgggatcc tcgcccac cagctccac tgca 34

<210> 63  
<211> 35  
10 <212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligonucleótido/cebador inverso R1 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 34-76 de IL-22

15 <400> 63  
ttgcccgc ctcaccaat gagacgaacg tctgt 35

20 <210> 64  
<211> 34  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Oligonucleótido/cebador directo F2 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 74-114 de IL-22

30 <400> 64  
ttgggatcc tcctcattgg ggagaaactg ttcc 34

35 <210> 65  
<211> 35  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligonucleótido/cebador inverso R2 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 74-114 de IL-22

40 <400> 65  
ttgcccgc ctaataagg ctggaacctc tcaga 35

45 <210> 66  
<211> 32  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligonucleótido/cebador directo F3 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 113-179 de IL-22

50 <400> 66  
ttgggatcc tccctatat gcaggagggt gt 32

55 <210> 67  
<211> 33  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60 <220>  
<223> Oligonucleótido/cebador inverso R3 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 113-179 de IL-22

# ES 2 726 539 T3

<400> 67  
tttgcggccg ctcaaatgca ggcatttctc aga 33

5 <210> 68  
<211> 34  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Oligonucleótido/cebador directo 34-114-F1 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 34-114 de IL-22

15 <400> 68  
tttgggatcc tcgcgcccat cagctcccac tgca 34

20 <210> 69  
<211> 35  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
<223> Oligonucleótido/cebador inverso 34-114-R2 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 34-114 de IL-22

30 <400> 69  
tttgcggccg ctcaataagg ctggaacctc tcaga 35

35 <210> 70  
<211> 34  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Oligonucleótido/cebador directo 74-179-F2 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 74-179 de IL-22

45 <400> 70  
tttgggatcc tcctcattgg ggagaaaactg ttcc 34

50 <210> 71  
<211> 33  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

55 <220>  
<223> Oligonucleótido/cebador inverso 74-179-R3 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 74-179 de IL-22

60 <400> 71  
tttgcggccg ctcaaatgca ggcatttctc aga 33

65 <210> 72  
<211> 34  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligonucleótido/cebador directo F1 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 24-69 de IFN-alfa2a

<400> 72  
tttgggatcc tctgtgatct gcctcaaacc caca 34

<210> 73  
<211> 35

## ES 2 726 539 T3

<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
5 <223> Oligonucleótido/cebador inverso R1 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 24-69 de IFN-alfa2a

<400> 73  
10 tttgcgccg ctcactggtt gccaaactcc tctcg 35

<210> 74  
<211> 33  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> Oligonucleótido/cebador directo F2 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 67-124 de IFN-alfa2a

20 <400> 74  
ttgggatcc tcggcaacca gttccaaaag gct 33

<210> 75  
<211> 35  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

25 <220>  
30 <223> Oligonucleótido/cebador inverso R2 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 67-124 de IFN-alfa2a

<400> 75  
ttgcgccg ctcactgtat cacacaggct tccag 35

35 <210> 76  
<211> 33  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> Oligonucleótido/cebador directo F3 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 123-188 de IFN-alfa2a

<400> 76  
45 tttgggatcc tcatcacagg ggtgggggtg aca 33

<210> 77  
<211> 33  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

50 <220>  
55 <223> Oligonucleótido/cebador inverso R3 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 123-188 de IFN-alfa2a

<400> 77  
ttgcgccg cttacttctt aaacttctt gca 33

<210> 78  
<211> 34  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

60 <220>

## ES 2 726 539 T3

<223> Oligonucleótido/cebador directo 24-124-F1 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 24-124 de IFN-alfa2a

<400> 78  
5 tttgggatcc tctgtgatct gcctcaaacc caca 34

<210> 79  
<211> 35  
<212> ADN  
10 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligonucleótido/cebador inverso 24-124-R2 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 24-124 de IFN-alfa2a

15 <400> 79  
ttgcgcccg ctactgtat cacacaggct tccag 35

<210> 80  
20 <211> 33  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
25 <223> Oligonucleótido/cebador directo 67-188-F2 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 67-188 de IFN-alfa2a

<400> 80  
30 tttgggatcc tcggcaacca gttccaaaag gct 33

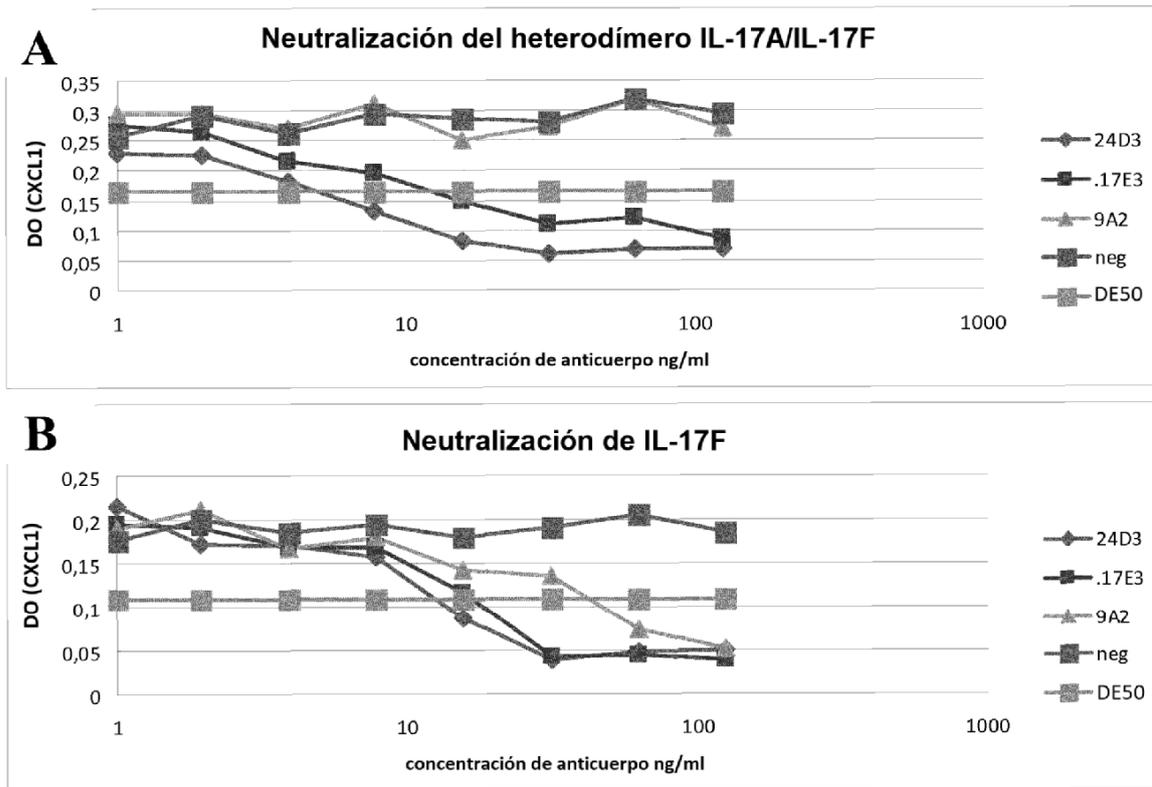
<210> 81  
<211> 33  
<212> ADN  
35 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Oligonucleótido/cebador directo 67-188-F3 para la amplificación de un fragmento que codifica los aa 67-188 de IFN-alfa2a

40 <400> 81  
ttgcgcccg ctacttctt aaacttctt gca 33

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un anticuerpo monoclonal humano anti-interleucina-17F (IL-17F), o fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo reconoce a un epítipo conformacional en IL-17F y es capaz de neutralizar la actividad biológica de IL-17F, y el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende en su cadena pesada variable (VH) y en su cadena ligera variable (VL), la secuencia de aminoácidos de la cadena VH y VL de las SEQ ID NO: 15 y 17, respectivamente, o de las SEQ ID NO: 23 y 25, respectivamente.
- 10 2. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 1, que es un fragmento Fv monocatenario (scFv), un fragmento F(ab'), un fragmento F(ab) o un fragmento F(ab')<sub>2</sub>.
- 15 3. El anticuerpo de la reivindicación 1 o 2, que comprende una región constante C<sub>H</sub> y/o C<sub>L</sub> que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las secuencias de aminoácidos de C<sub>H</sub> y C<sub>L</sub> expuestas en las SEQ ID NO: 11, 13, 19, 21, 27 y 29 o de una secuencia de aminoácidos con una identidad de al menos 60 %.
- 20 4. Uno o más polinucleótidos que codifican al menos la región variable del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
- 25 5. Uno o más vectores de expresión que comprenden el polinucleótido o los polinucleótidos de la reivindicación 4.
- 30 6. Una célula hospedadora que comprende el polinucleótido o los polinucleótidos de la reivindicación 4 o el vector o los vectores de la reivindicación 5.
- 35 7. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que está marcado de manera detectable o unido a un fármaco.
- 40 8. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 7, en el que el marcador detectable se selecciona del grupo que consiste en una enzima, un radioisótopo, un fluoróforo y un metal pesado.
- 45 9. Una composición que comprende el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 7 u 8, el polinucleótido o los polinucleótidos de la reivindicación 4, el vector o los vectores de la reivindicación 5 o la célula de la reivindicación 6, en la que preferentemente la composición comprende los dos anticuerpos que comprenden en su cadena VH y en su cadena VL, las secuencias de aminoácidos de la cadena VH y VL de las SEC ID NO: 15 y 17, respectivamente, y de las SEQ ID NO: 23 y 25, respectivamente.
- 50 10. La composición de la reivindicación 9, que es
  - (a) una composición farmacéutica y que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable, que comprende, preferentemente, un agente adicional útil para tratar una inflamación o un trastorno autoinmunitario, seleccionado del grupo que consiste en fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), corticosteroides, antihistaminas y combinaciones de los mismos, o
  - (b) una composición o kit de diagnóstico y que comprende además reactivos para su uso en métodos de diagnóstico inmunológicos o basados en ácidos nucleicos.
- 55 11. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 7 u 8, para su uso en el tratamiento o prevención de la progresión de una inflamación o de un trastorno autoinmunitario; para la mejora de los síntomas asociados a una inflamación o a un trastorno autoinmunitario; para diagnosticar o examinar a un sujeto para determinar la presencia o el riesgo de que un sujeto desarrolle una inflamación o un trastorno autoinmunitario, preferentemente, en el que dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno está diseñado para administrarse por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intranasal, parenteral, o como un aerosol.
12. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicho trastorno se selecciona del grupo que consiste en acné común; artritis, tal como artritis gotosa, lupus eritematoso sistémico (LES), artrosis, artritis psoriásica, artritis reumatoide; asma; celiacía; prostatitis crónica; dermatitis; diabetes mellitus de tipo 1; glomerulonefritis; hipersensibilidad; miocarditis; esclerosis múltiple; enfermedades inflamatorias intestinales; enfermedad inflamatoria pélvica; polimiositis; psoriasis; sarcoidosis; vasculitis; cistitis intersticial, o la inflamación se produce debido a lesión por reperusión o a rechazo de trasplante.



**Fig. 1**

**A 9A2 (secuencia VH de cadena pesada variable) - SEQ ID NO: 7**

FR1-----CDR1--FR2-----CDR2-----  
 EVQLEESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFPFSNYEMNWVRQAPGKGLEWISYISVSGGPAHYADSVKG

FR3-----CDR3-----FR4-----  
 RFTISRDDATKSLFLQMNRLRADDTAVYYCVRREYVTGRNYNYYPYMDVWGTGTTVTVSP

**9A2 (secuencia VL de cadena kappa variable) - SEQ ID NO: 9**

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---  
 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQTISDYLNWYQHKPGEAPKLLIYSASTLQR

FR3-----CDR3-----FR4-----  
 GVPSRFSGSGSGTDFVFTISSLQSDDFATYYCQQTSSALTFGGGTKVEVK

**B 17E3 (secuencia VH de cadena pesada variable) - SEQ ID NO: 15**

FR1-----CDR1--FR2-----CDR2-----  
 QVQLVQSGAEVAKPGASVRLSCKASGFSFIKYYMHWVRQAPQGLEWMGVIEPTGGGTSSAQKFRD

FR2-----CDR3-----FR4-----  
 RVTLSRDTSTATVHLEVSRLTLEDTGIFCVRDSIYCKHGTCHRTVIDAFDIWGQGTAVTVSS

**17E3 (secuencia VL de cadena kappa variable) - SEQ ID NO: 17**

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---  
 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRSSQDIKNDLAWYQQKPGKAPERLIYAASNLQS

FR3-----CDR3-----FR4-----  
 GVPSRFSGSGSGTDFVFTISSLQSDDFATYYCCLQHNSYPLLTFGGGTKVEIK

**C 24D3 (secuencia VH de cadena pesada variable) - SEQ ID NO: 23**

FR1-----CDR1--FR2-----CDR2-----  
 EVKLEESGGDLVKPGGSLRLSCVASGFTFGTAWMSWVRQAPGKGLEWVGRISNKDTGGRIDYAAPVRG

FR3-----CDR3-----FR4-----  
 RFAISRDDSKATLFLQMNLSLKTEDTAVYFCTTNFYDVLTGDHVDYWGQGTVVVVSS

**24E3 (secuencia VL de cadena lambda variable) - SEQ ID NO: 25**

FR1-----CDR1-----FR2-----CDR2---  
 SYELTQPPSVSVSPGETARIPCSGETLPKKL<sup>VY</sup>WYQQKPGQAPVLMIIYKDSERPS

FR3-----CDR3-----FR4-----  
 RISERFSGSNSGTMASLTISGVQAEDEADYYCQTSDSSGVVFGGGTKLTVL

**Fig. 2**

**ExptLZ** Protocolo LIF: **YH006** PPL: 80/2480

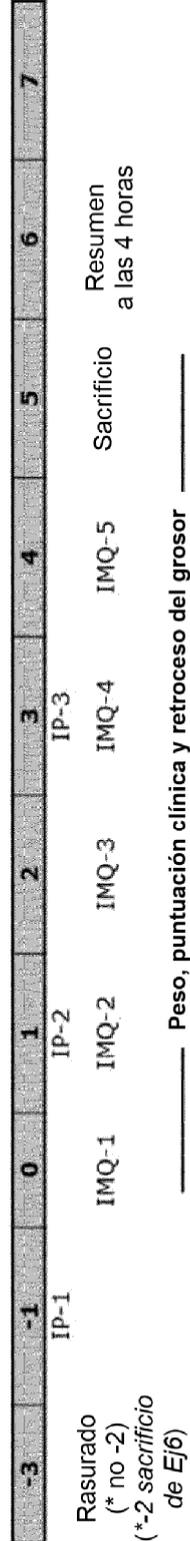
Mi #	Tratamiento	Grupo
1	IgG+Vas	A
2	IgG+Vas	A
3	IgG+Vas	A
7	IgG+IMQ	B
8	IgG+IMQ	B
9	IgG+IMQ	B
10	IgG+IMQ	B
4	aIL22+Vas	C
5	aIL22+Vas	C
6	aIL22+Vas	C
11	aIL22+IMQ	D
12	aIL22+IMQ	D
13	aIL22+IMQ	D
14	aIL22+IMQ	D

**B**

	Conc	Volumen/IP	Cantidad/IP	Total	Total
IgG humana	1mg/ml	200ul	200ug	7x3x200ug	4,2mg
aIL-22	1mg/ml	200ul	200ug	7x3x200ug	4,2mg

**C**

Dia experimental



LN estim o/n  
 Sin estim/B  
 PMA/Iono/B  
 IL23/IL1b/B  
 Bazo  
 Peso  
 Piel OCT  
 Piel para ARN

Fix/I.Tinción  
 CD3  
 TCRgd  
 IL22  
 IL17

FACS

Muerte

**Fig. 3**

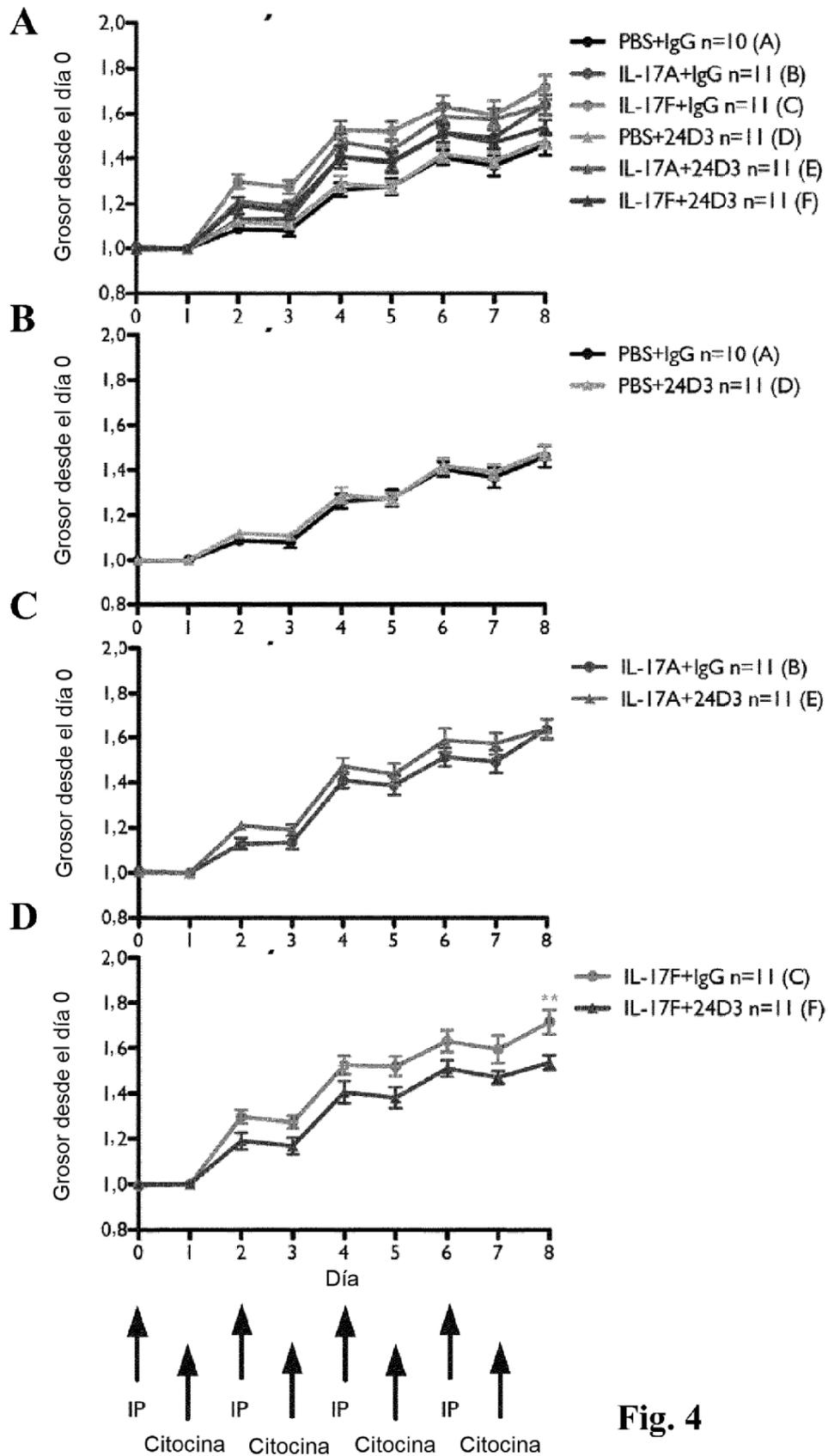
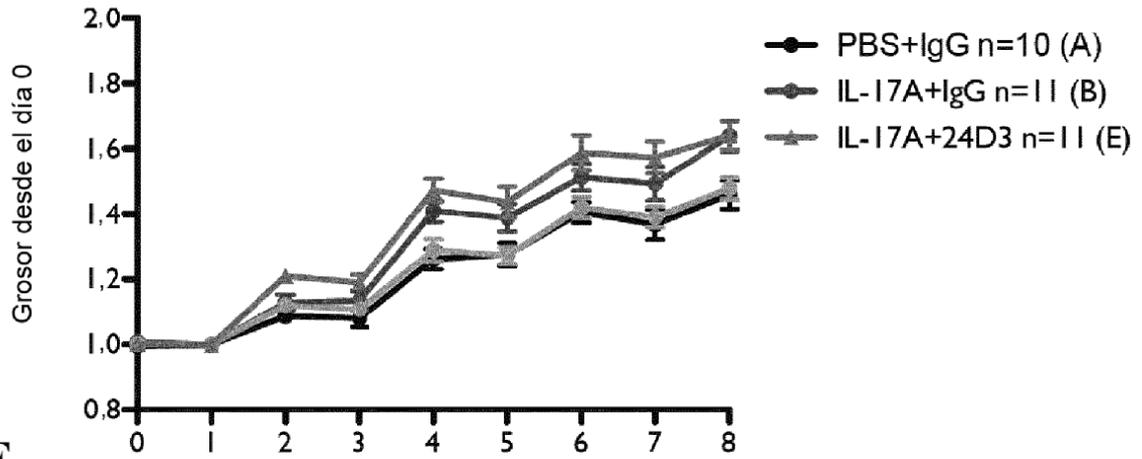
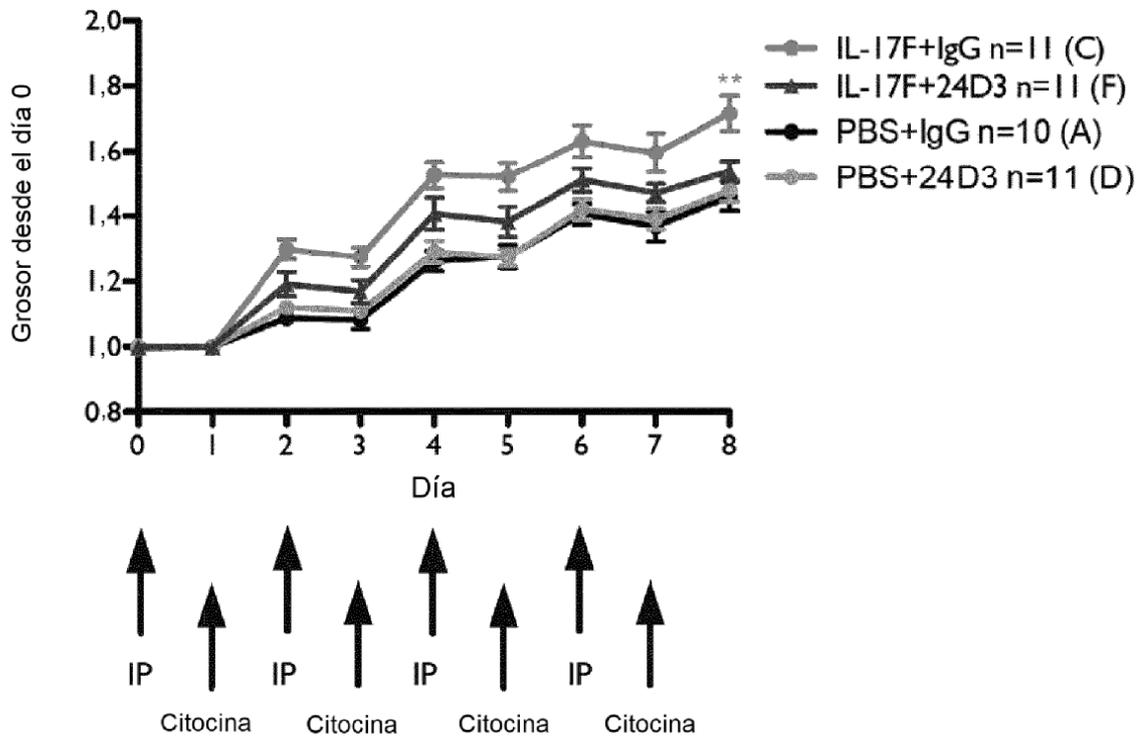


Fig. 4

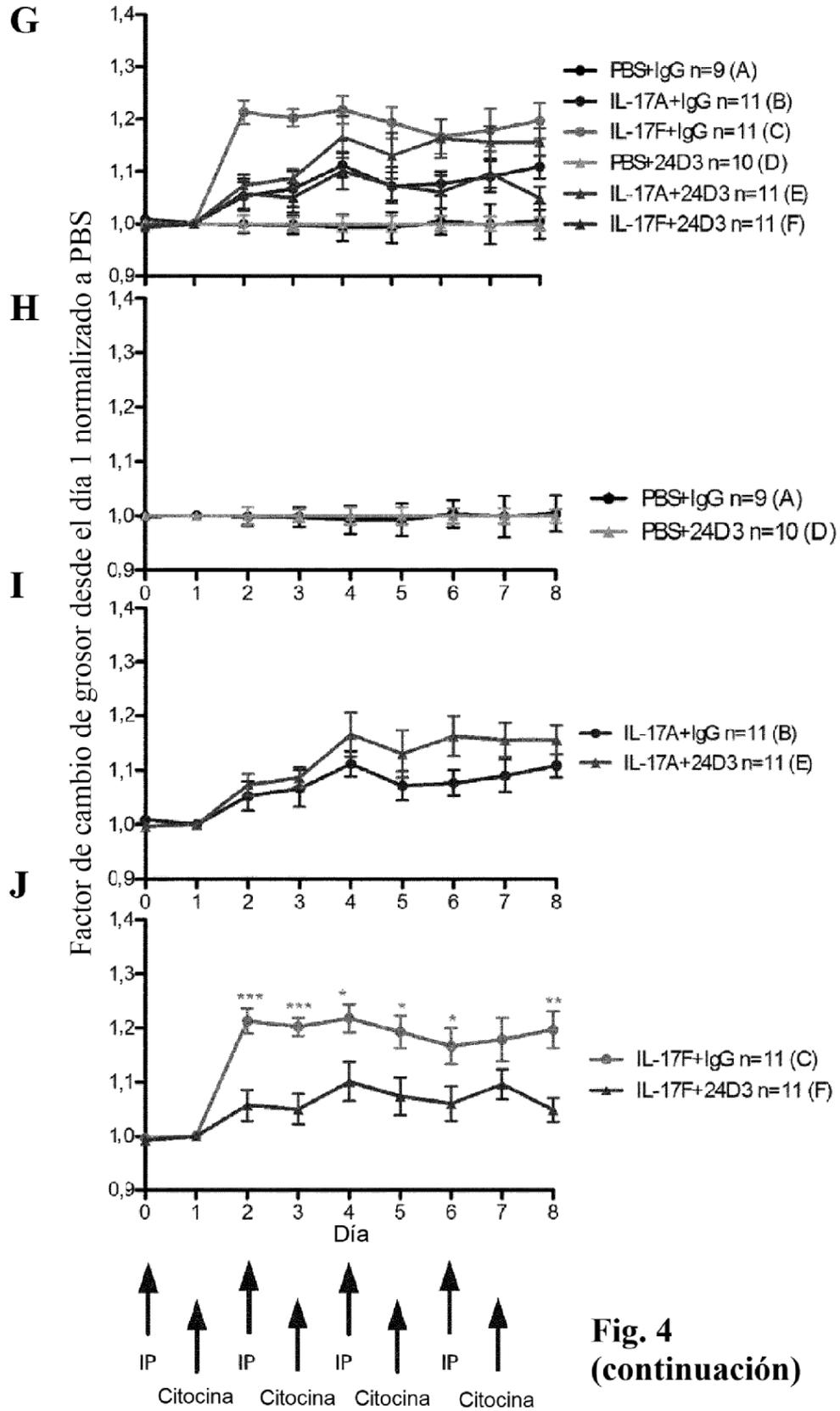
**E**



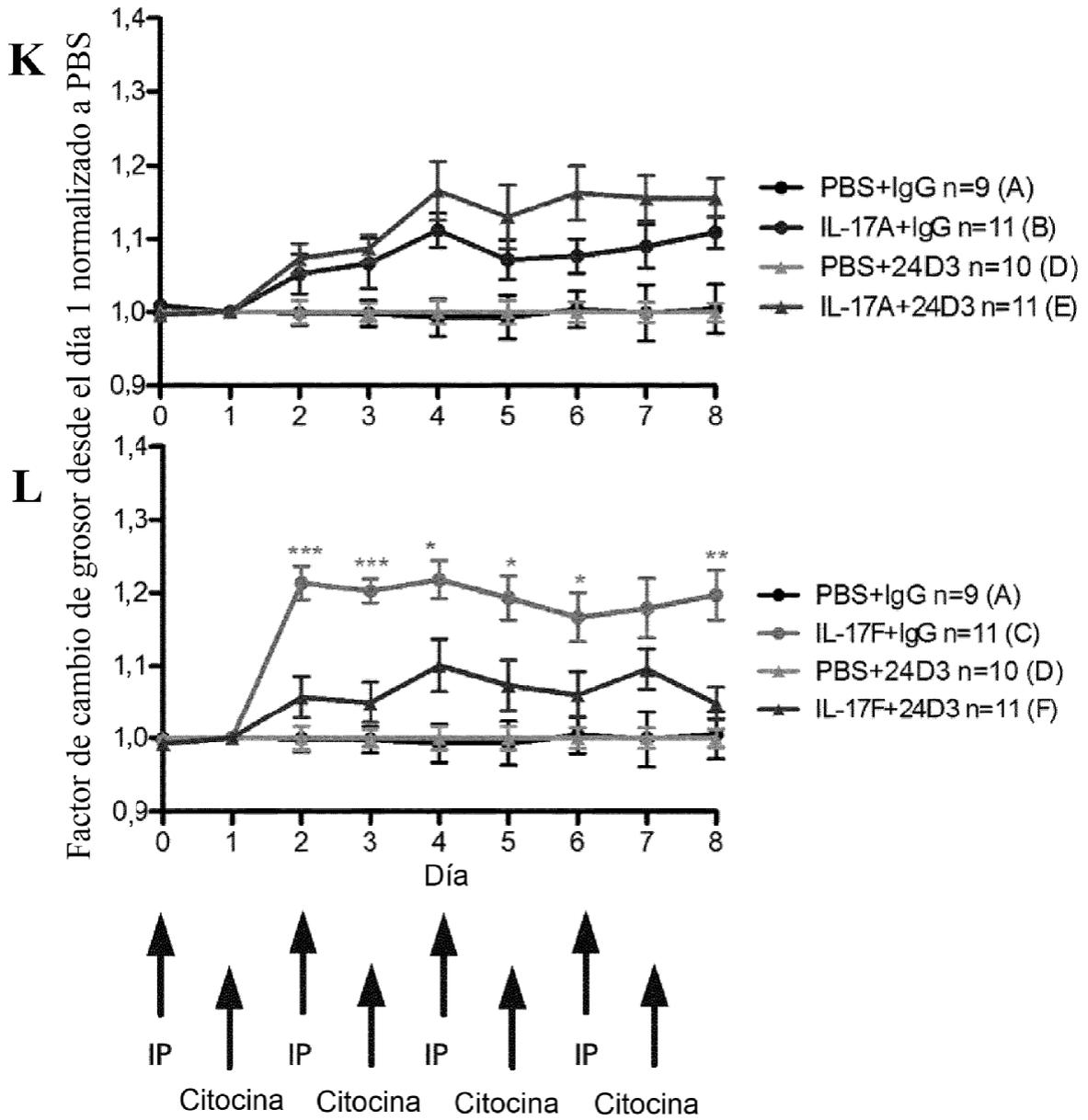
**F**



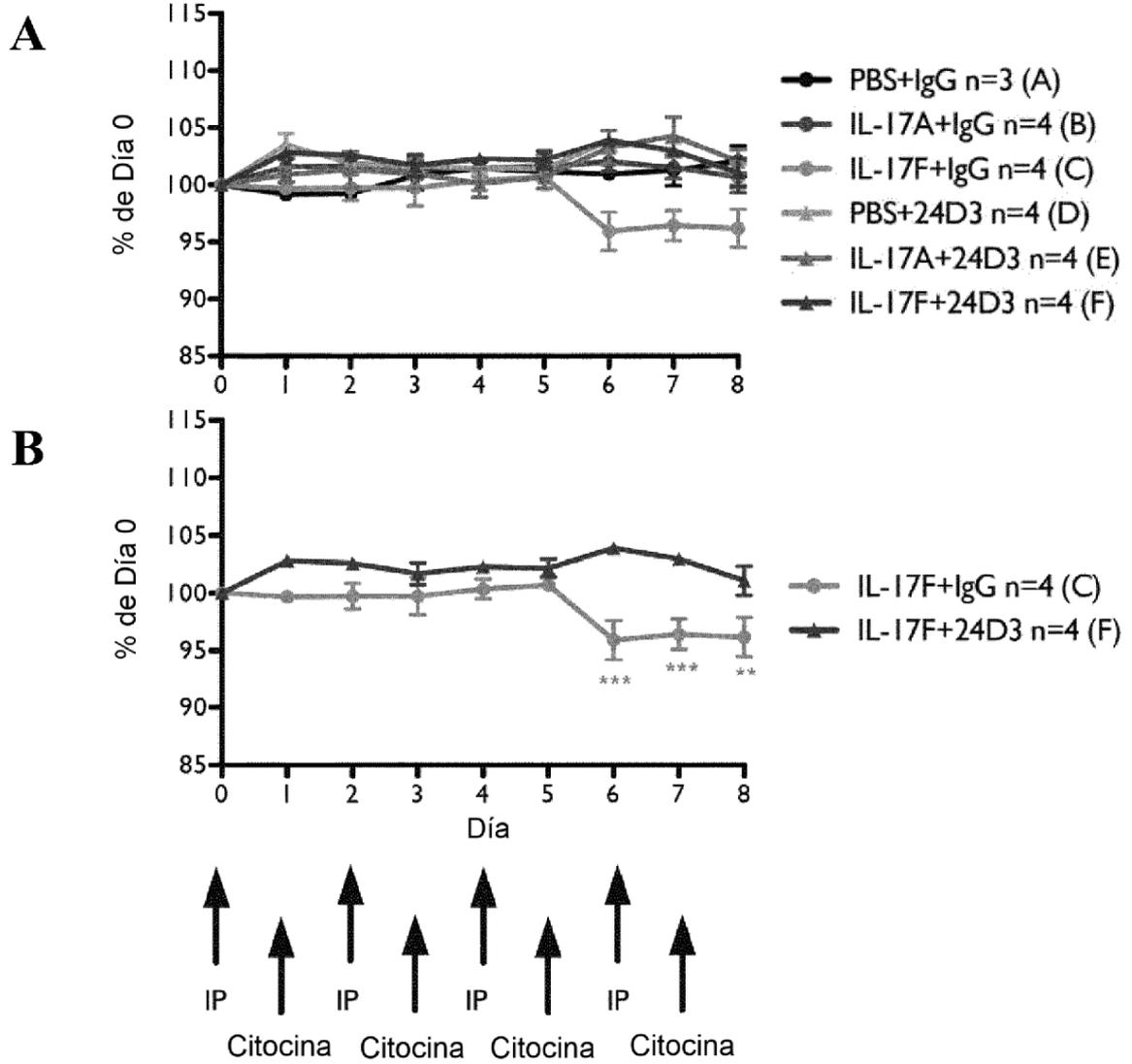
**Fig. 4 (continuación)**



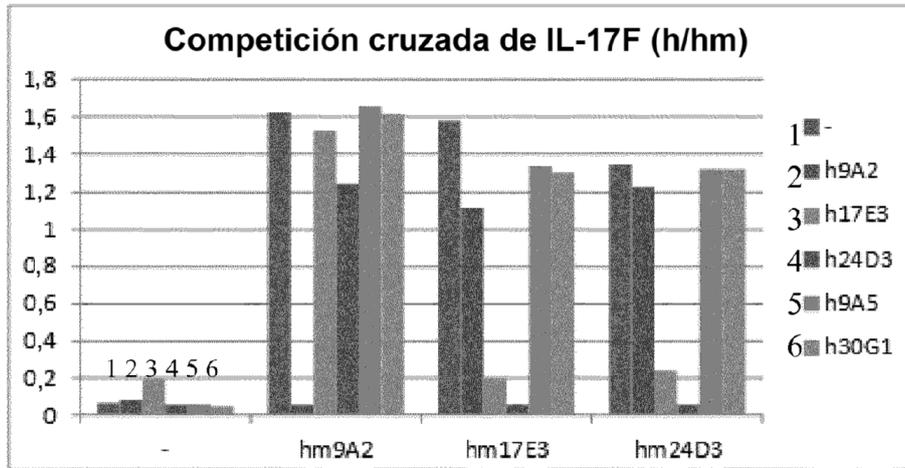
**Fig. 4**  
**(continuación)**



**Fig. 4 (continuación)**



**Fig. 5**



**Fig. 6**

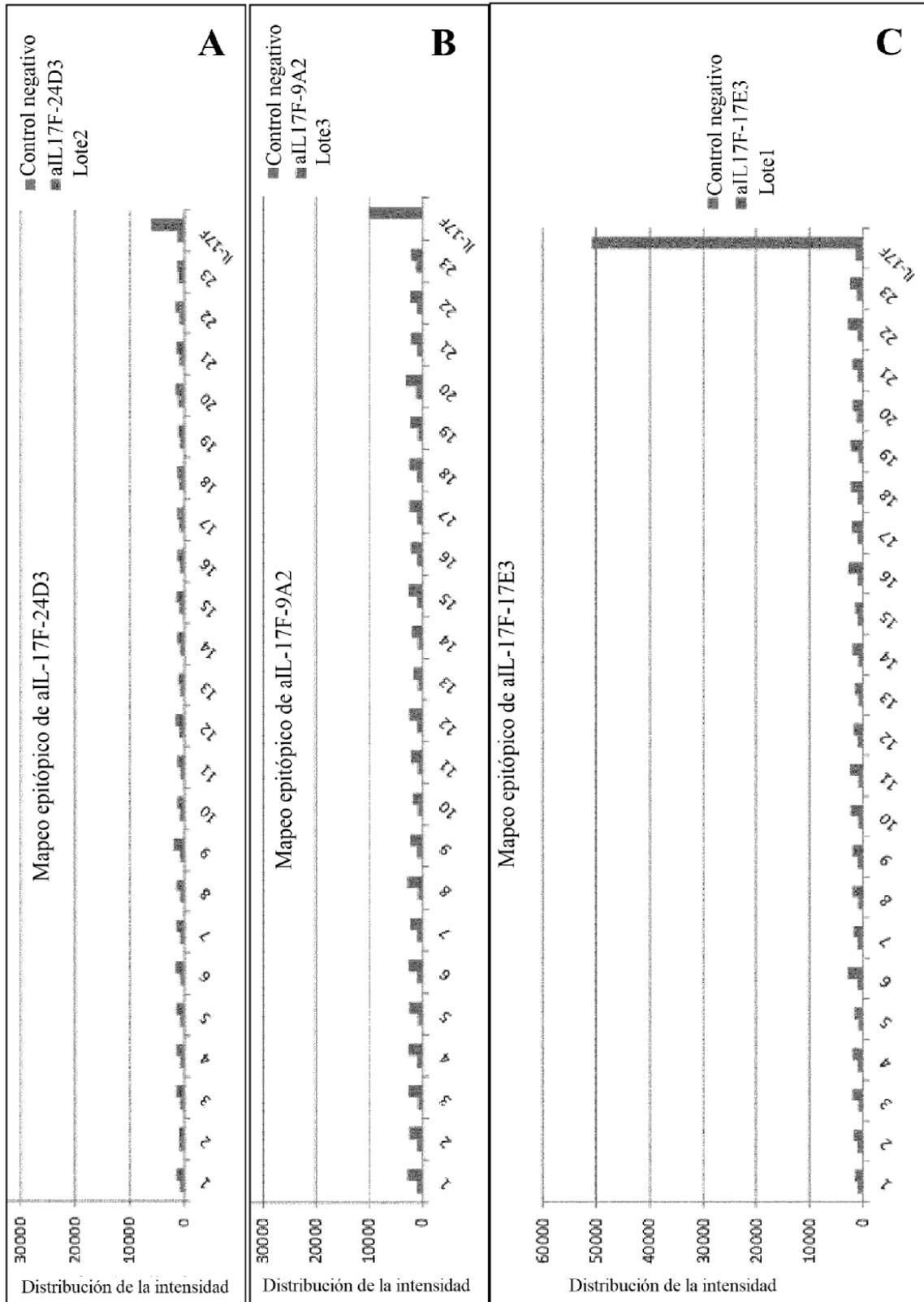


Fig. 7

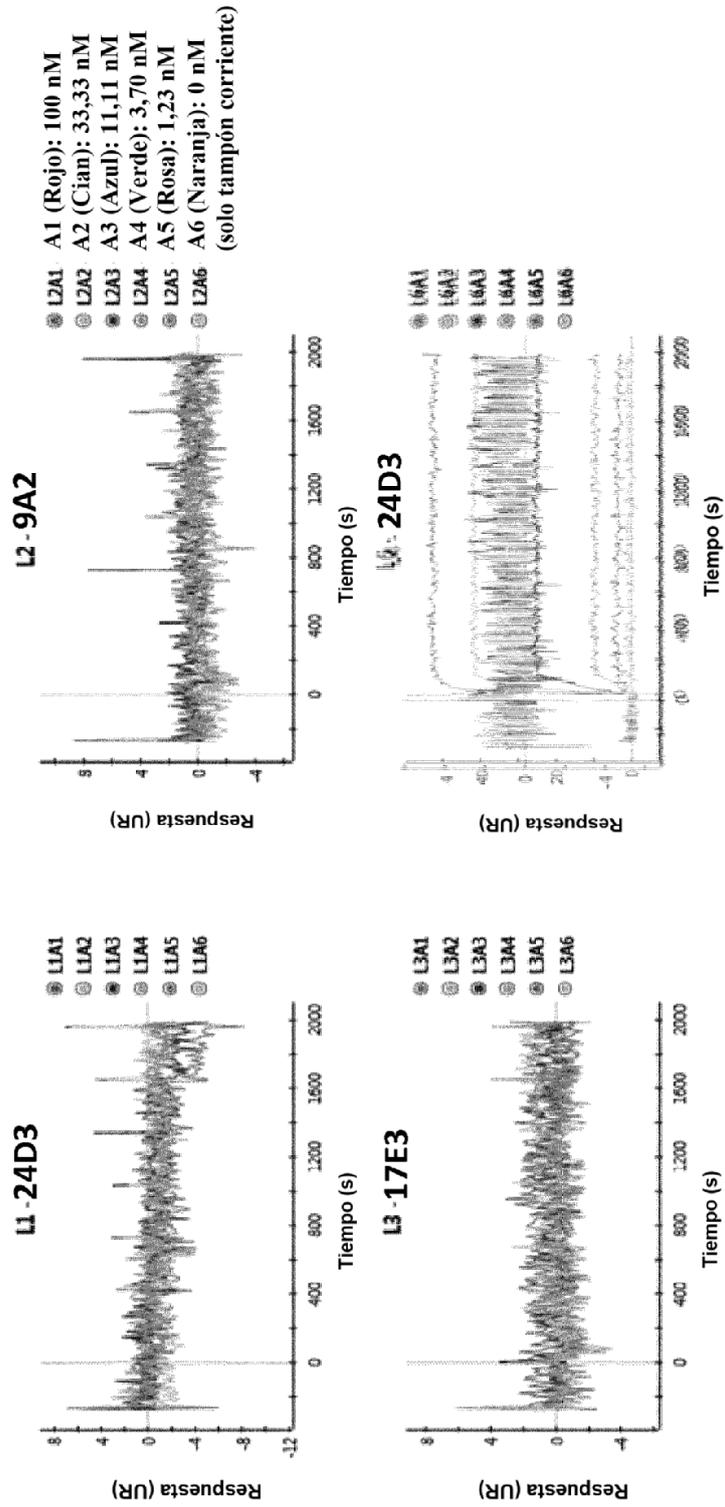


Fig. 8