

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 728 911**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/18** (2006.01)

**A61K 39/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.04.2010** E 15159780 (4)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2019** EP 2930184

54 Título: **Anticuerpos DKK-1**

30 Prioridad:

**10.04.2009 US 168411 P**

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

**29.10.2019**

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)  
Lilly Corporate Center  
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**CHEDID, MARCIO;  
DARLING, RYAN JAMES;  
GALVIN, RACHELLE JEANETTE y  
SWANSON, BARBARA ANNE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**Observaciones:**

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

**ES 2 728 911 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

## Anticuerpos DKK-1

La presente invención se refiere a anticuerpos manipulados contra DKK-1 y a su uso en el tratamiento de enfermedades en las que la patogenia está mediada por DKK-1.

5 Dickkopf-1 (Dkk-1) es un miembro de la familia de proteínas dickkopf que han demostrado ser reguladores negativos de la vía de señalización Wnt canónica. La vía desempeña un papel central en el desarrollo y la formación de hueso. Dkk-1 inhibe la señalización Wnt a través de su interacción con el correceptor Wnt LRP5 o LRP6 y las proteínas kremen. Dkk-1 impide que los miembros de la vía Wnt interaccionen con LRP5 o LRP6, evitando así la transducción de señal mediada por Wnt. DKK1 ha demostrado también que interviene en los cánceres con metástasis óseas, entre ellos mieloma múltiple, carcinoma de mama, carcinoma renal y cáncer de pulmón no microcítico.

10 Se han descrito anticuerpos que se unen a Dkk-1 (por ejemplo, véase WO2006015373). El documento WO2007/084.344 desvela anticuerpos que se unen a DKK-1 que se usan para tratar células con condiciones osteolíticas, en particular, las asociadas con el cáncer. Fulciniti y col. 2009 (Blood, vol.114(2) p.371-379) desvela un anticuerpo de DKK-1 como un posible agente terapéutico para el mieloma múltiple. A pesar de esto, existe todavía la necesidad de anticuerpos manipulados DKK-1 terapéuticos que inhiban la interacción de Dkk-1 con LRP5 y LRP6. Además, en vista de la intervención de Dkk-1 en la regulación de la formación de hueso, existe la necesidad de anticuerpos anti-DKK-1 manipulados terapéuticos para su uso en la cicatrización del hueso. Además, dada la participación de Dkk-1 en los cánceres, existe la necesidad de anticuerpos anti-DKK-1 manipulados para tratar cánceres, incluyendo mieloma múltiple, cáncer de mama y cáncer de pulmón no microcítico.

20 Los anticuerpos de la presente invención son antagonistas de DKK-1 útiles terapéuticamente que poseen un conjunto de propiedades convenientes. Los anticuerpos manipulados de la presente invención muestran una alta afinidad (Kd) por DKK-1 humano, DKK-1 de Cynomolgus, DKK-1 de rata, DKK-1 de ratón y DKK-1 de conejo. Los anticuerpos de la presente invención bloquean la inhibición mediada por DKK-1 de fosfatasa alcalina, un marcador de la actividad de osteoblastos. Además, los anticuerpos de la presente invención muestran un aumento en la densidad de masa ósea en las cortezas anterior y posterior en un modelo *in vivo* de defecto cortical y muestran una importante inhibición del crecimiento de xenoinjertos de pulmón no microcíticos *in vivo*.

25 Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado, que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que la LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y la HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

Preferentemente, el anticuerpo DKK-1 manipulado según la presente invención comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20.

35 Más preferentemente, el anticuerpo DKK-1 humano manipulado según la presente invención, comprende dos cadenas ligeras en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y dos cadenas pesadas en las que cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.

Según un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

40 Preferentemente, la composición farmacéutica comprende el DKK-1 manipulado de acuerdo con la presente invención junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable y opcionalmente además otros ingredientes terapéuticos.

45 La presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que tiene una Kd a 37°C inferior a  $5,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de Cynomolgus (SEQ ID NO: 30), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31), DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33) y DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32).

La presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión del mismo en el que LCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 5, LCDR2 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 47, LCDR3 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 49, HCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 1, HCDR2 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 2 y HCDR3 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 44.

50 La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona un procedimiento de cicatrización de hueso que comprende administrar un anticuerpo de DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención. La

presente invención proporciona un procedimiento de tratamiento de cáncer que comprende la administración de un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención, en el que el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en mieloma múltiple, cáncer de mama y cáncer de pulmón no microcítico.

- 5 La presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo tal como se describe en la presente memoria descriptiva, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  inferior a  $1,5 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29). Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  inferior a  $1,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29). De forma más preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  inferior a  $5,0 \times 10^{-12}$  M para DKK-1 (SEQ ID NO: 29). Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  entre  $0,5 \times 10^{-12}$  M y  $1,5 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29). De forma más preferida, la presente invención proporciona el anticuerpo DKK-1 humano manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  entre  $1,0 \times 10^{-12}$  M y  $1,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29). Los valores  $K_d$  se establecen mediante un equilibrio de unión a  $37^\circ\text{C}$  tal como se describe en el Ejemplo 2.

La presente invención proporciona también un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo tal como se describe en la presente memoria descriptiva, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  inferior a  $5,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de *Cynomolgus* (SEQ ID NO: 30), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31), DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33) y DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32). Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 humano manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  inferior a  $3,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de *Cynomolgus* (SEQ ID NO: 30), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31), DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33) y DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32). De forma más preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  inferior a  $2,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31) y DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33). Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  entre  $1,0 \times 10^{-11}$  M y  $5,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de *Cynomolgus* (SEQ ID NO: 30), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31), DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33) y DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32). De forma más preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 humano manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo tiene una  $K_d$  entre  $1,5 \times 10^{-11}$  M y  $3,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31) y DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33). Los valores  $K_d$  se establecen por un equilibrio de unión a  $37^\circ\text{C}$  tal como se describe en el Ejemplo 2.

Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una  $K_d$  inferior a  $3,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de *Cynomolgus* (SEQ ID NO: 30), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31), DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33) y DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32). De forma más preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una  $K_d$  inferior a  $2,5 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de *Cynomolgus* (SEQ ID NO: 30), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31), DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33) y DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32). Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una  $K_d$  inferior a  $2,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de *Cynomolgus* (SEQ ID NO: 30), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31), DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33) y DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32). De forma más preferida, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una  $K_d$  entre  $0,5 \times 10^{-12}$  M y  $3,0 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de *Cynomolgus* (SEQ ID NO: 30), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31), DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33) y DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32). Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo tiene una  $K_d$  entre  $1,0 \times 10^{-12}$  M y  $2,5 \times 10^{-11}$  M para DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29), DKK-1 de *Cynomolgus* (SEQ ID NO: 30), DKK-1 de rata (SEQ ID NO: 31), DKK-1 de ratón (SEQ ID NO: 33), y DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32). Los valores  $K_d$  se establecen por un equilibrio de unión a  $37^\circ\text{C}$  tal como se describe en el Ejemplo 2.

5 La presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión del mismo, que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que la LCVR comprende las regiones determinantes de complementariedad (CDR) LCDR1, LCDR2 y LCDR3 y la HCVR comprende las CDR HCDR1, HCDR2 y HCDR3, en el que LCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 5, HCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 1 y HCDR2 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 2.

10 La presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión del mismo en el que LCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 46, LCDR2 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 48, LCDR3 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 50, HCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 1, HCDR2 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 43 y HCDR3 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 45. La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión del mismo en el que LCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 5, LCDR2 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 47, LCDR3 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 49, HCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 1, HCDR2 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 2 y HCDR3 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 44.

15 La presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión del mismo en el que LCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 5, LCDR2 tiene una secuencia amino seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 10, LCDR3 tiene una secuencia amino seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 9, HCDR1 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 1, HCDR2 tiene la secuencia amino de SEQ ID NO: 2 y HCDR3 tiene una secuencia amino seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 4.

20 La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo en el que LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 y HCDR3 tienen secuencias de aminoácidos seleccionadas entre el grupo que consiste en:

- (i) LCDR1 presenta la SEQ ID NO: 5, LCDR2 presenta la SEQ ID NO: 6, LCDR3 presenta la SEQ ID NO: 7, HCDR1 presenta la SEQ ID NO: 1, HCDR2 presenta la SEQ ID NO: 2 y HCDR3 presenta la SEQ ID NO: 3,
- 25 (ii) LCDR1 presenta la SEQ ID NO: 5, LCDR2 presenta la SEQ ID NO: 8, LCDR3 presenta la SEQ ID NO: 7, HCDR1 presenta la SEQ ID NO: 1, HCDR2 presenta la SEQ ID NO: 2 y HCDR3 presenta la SEQ ID NO: 4,
- (iii) LCDR1 presenta la SEQ ID NO: 5, LCDR2 presenta la SEQ ID NO: 6, LCDR3 presenta la SEQ ID NO: 9, HCDR1 presenta la SEQ ID NO: 1, HCDR2 presenta la SEQ ID NO: 2 y HCDR3 presenta la SEQ ID NO: 3,
- 30 (iv) LCDR1 presenta la SEQ ID NO: 5, LCDR2 presenta la SEQ ID NO: 10, LCDR3 presenta la SEQ ID NO: 9, HCDR1 presenta la SEQ ID NO: 1, HCDR2 presenta la SEQ ID NO: 2 y HCDR3 presenta la SEQ ID NO: 3

La presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo en el que la LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 y la HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51.

35 La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo en el que la LCVR comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16.

La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que la HCVR comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 12.

40 La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que la LCVR y la HCVR comprenden secuencias de aminoácidos seleccionadas entre el grupo que consiste en:

- (i) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11;
- 45 (ii) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12;
- (iii) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11;
- 50 (iv) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11.

La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.

55 La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado comprende una cadena ligera en la que la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 y SEQ ID NO: 22.

La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado, en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado comprende una cadena pesada en la que la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18.

5 Más preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado, en el que el anticuerpo DKK-1 humano manipulado comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada y cadena ligera seleccionada entre el grupo que consiste en

(i) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19,

10 (ii) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20,

(iii) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, y

(iv) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22.

15 La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado que comprende dos cadenas ligeras en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, y dos cadenas pesadas en las que cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17.

20 La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado que comprende dos cadenas ligeras en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, y dos cadenas pesadas en las que cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17.

La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado que comprende dos cadenas ligeras en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22, y dos cadenas pesadas en las que cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17.

25 La presente invención proporciona preferentemente un anticuerpo DKK-1 manipulado que comprende dos cadenas ligeras en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y dos cadenas pesadas en las que cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.

30 La presente invención proporciona también un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que compite con el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención para unión a DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29) tal como se determina por medio de un ensayo de competencia de anticuerpos.

La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

35 Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento de cicatrización de hueso que comprende la administración de un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención.

40 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento de tratamiento de cáncer que comprende la administración de un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención, en el que el cáncer se selecciona preferentemente entre el grupo que consiste en mieloma múltiple, cáncer de mama y cáncer de pulmón no microcítico.

45 Además, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención para su uso en terapia. Preferentemente, la presente invención proporciona un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención para su uso en el tratamiento para la cicatrización del hueso o en el tratamiento del cáncer, en el que el cáncer se selecciona preferentemente entre el grupo que consiste en mieloma múltiple, cáncer de mama y cáncer de pulmón no microcítico.

50 Además, la presente invención proporciona también el uso de un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención en la fabricación de un medicamento para terapia, cicatrización del hueso o para tratar el cáncer, en el que el cáncer se selecciona preferentemente entre el grupo que consiste en mieloma múltiple, cáncer de mama y cáncer de pulmón no microcítico.

**Definiciones**

Un anticuerpo de longitud completa tal como existe en forma natural es una molécula de inmunoglobulina que comprende 2 cadenas pesadas (H) y 2 cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces de disulfuro. La parte del extremo amino de cada cadena incluye una región variable de aproximadamente 100-110 aminoácidos responsables principalmente del reconocimiento de antígenos por medio de las regiones de determinación de complementariedad (CDR) contenidas en los mismos. La parte del extremo carboxi de cada cadena define una región constante responsable principalmente de la función de efector.

Las CDR están intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco ("FR"). Cada región variable de cadena ligera (LCVR) y cada región variable de cadena pesada (HCVR) está compuesta por 3 CDR y 4 FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxi en el orden siguiente: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las 3 CDR de la cadena ligera se refieren como "LCDR1, LCDR2 y LCDR3" y las 3 CDR de la cadena pesada se refieren como "HCDR1, HCDR2 y HCDR3". Las CDR contienen la mayor parte de los residuos que forman interacciones específicas con el antígeno. La numeración y la posición de los residuos de aminoácidos de las CDR en las regiones LCVR y HCVR están de acuerdo con la bien conocida convención de numeración de Kabat.

Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda, y se caracterizan por una región constante particular tal como se conoce en la técnica. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, y definen el isotipo de un anticuerpo como IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, respectivamente. Los anticuerpos IgG pueden dividirse adicionalmente en subclases, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Cada tipo de cadena pesada se caracteriza por una región constante particular con una secuencia bien conocida en la técnica.

Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "anticuerpo monoclonal" (AMc) se refiere a un anticuerpo que procede de una copia o clon único que incluye, por ejemplo, cualquier clon eucariota, procariota o de fagos, y no el procedimiento por el que se produce. Los AMc de la presente invención existen preferentemente en una población homogénea o sustancialmente homogénea. Los AMc completos contienen 2 cadenas pesadas y 2 cadenas ligeras. Los "fragmentos de unión a antígeno" de dichos anticuerpos monoclonales incluyen, por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos F(ab')<sub>2</sub> y fragmentos Fv monocatenarios. Los anticuerpos monoclonales y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención pueden producirse, por ejemplo, por tecnologías recombinantes, tecnologías de presentación de fagos, tecnologías sintéticas, por ejemplo, injerto de CDR, o combinaciones de dichas tecnologías, u otras tecnologías conocidas en la técnica. Por ejemplo, los ratones pueden estar inmunizados con DKK-1 humano o fragmentos del mismo, los anticuerpos resultantes pueden recuperarse y purificarse, y la determinación de si poseen propiedades de unión o funcionales similares o iguales a los compuestos descritos en la presente memoria descriptiva puede evaluarse por los procedimientos descritos en los Ejemplos mostrados a continuación. Los fragmentos de unión a antígeno también pueden prepararse por procedimientos convencionales. Los procedimientos para producir y purificar anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno son bien conocidos en la técnica y pueden encontrarse, por ejemplo, en Harlow y Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, capítulos 5-8 y 15, ISBN 0-87969-314-2.

La frase "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo que contiene dominios de diferentes especies (generalmente 2 especies). El anticuerpo V es un anticuerpo quimérico en el que los dominios variables de cadena ligera y cadena pesada contienen residuos de un anticuerpo murino, mientras que el dominio de cadena ligera de región constante contiene residuos que comprenden una cadena ligera kappa de rata y los dominios de cadena pesada de región constante contienen residuos que comprenden un anticuerpo IgG1 de rata. El anticuerpo V es una quimera murina/de rata y se usa en estudios para reducir la probabilidad de respuesta inmunitaria en modelos preclínicos a largo plazo.

La frase "anticuerpos manipulados" se refiere a anticuerpos monoclonales que tienen propiedades de unión y funcionales según la invención, y que tienen regiones marco que son sustancialmente humanas o totalmente humanas alrededor de las CDR obtenidas de un anticuerpo no humano. Los "fragmentos de unión a antígeno" de dichos anticuerpos manipulados incluyen, por ejemplo, fragmentos Fab, fragmentos Fab', fragmentos F(ab')<sub>2</sub> y fragmentos Fv monocatenarios. "Región marco" o "secuencia marco" se refiere a una cualquiera de las regiones marco 1 a 4. Los anticuerpos manipulados y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos comprendidos por la presente invención incluyen moléculas en las que una cualquiera o más de regiones marco 1 a 4 son sustancial o totalmente humanas, es decir, en las que está presente cualquiera de las posibles combinaciones de regiones marco individuales sustancial o totalmente humanas 1 a 4. Por ejemplo, esto incluye moléculas en las que la región marco 1 y la región marco 2, la región marco 1 y la región marco 3, la región marco 1, 2 y 3, etc., son sustancial o totalmente humanas. Los marcos sustancialmente humanos son aquellos que tienen al menos aproximadamente el 80% de identidad de secuencias con una secuencia marco de línea germinal humana conocida. Preferentemente, los marcos sustancialmente humanos tienen al menos aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 95% o aproximadamente el 99% de identidad de secuencias con una secuencia marco de línea germinal humana conocida.

Los marcos totalmente humanos son aquellos que son idénticos a una secuencia marco de línea germinal humana

conocida. Las secuencias de línea germinal marco humana pueden obtenerse de ImMunoGeneTics (IMGT) por medio de su página web <http://imgt.cines.fr>, o de The Immunoglobulin FactsBook de Marie-Paule Lefranc y Gerard Lefranc, Academic Press, 2001, ISBN 012441351. Por ejemplo, los marcos de cadena ligera de línea germinal pueden seleccionarse entre el grupo que consiste en: A11, A17, A18, A19, A20, A27, A30, L1, L11, L12, L2, L5, L15, L6, L8, 012, 02 y 08, y las regiones marco de cadena pesada de línea germinal pueden seleccionarse entre el grupo que consiste en: VH2-5, VH2-26, VH2-70, VH3-20, VH3-72, VHI-46, VH3-9, VH3-66, VH3-74, VH4-31, VHI-18, VHI-69, VI-13-7, VH3-11, VH3-15, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-48, VH4-39, VH4-59 y VH5-5I.

Pueden generarse anticuerpos manipulados además de los descritos en la presente memoria descriptiva que muestran propiedades funcionales similares según la presente invención usando varios procedimientos diferentes. Los compuestos de anticuerpos específicos descritos en la presente memoria descriptiva pueden usarse como plantillas o compuestos de anticuerpos progenitores para preparar compuestos de anticuerpos adicionales. En un enfoque, las CDR de compuesto de anticuerpo progenitor se injertan en un marco humano que tiene una alta identidad de secuencias con el marco del compuesto del anticuerpo progenitor. La identidad de secuencias del nuevo marco será generalmente al menos aproximadamente el 80%, al menos aproximadamente el 85%, al menos aproximadamente el 90%, al menos aproximadamente el 95% o al menos aproximadamente el 99% idéntica a la secuencia del marco correspondiente en el compuesto del anticuerpo progenitor. Este injerto puede producir una reducción en la afinidad de unión en comparación con el del anticuerpo progenitor. Si así sucede, el marco puede experimentar mutación restauradora en el marco progenitor en ciertas posiciones basándose en criterios específicos descritos por Queen y col. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 2869. Las referencias adicionales que describen procedimientos útiles en la humanización de anticuerpos de ratón incluyen las patentes de EE.UU. n° 4.816.397; 5.225.539 y 5.693.761; los programas informáticos ABMOD y ENCAD tal como se describe en Levitt (1983) J. Mol. Biol. 168: 595-620; y el procedimiento de Winter y col. (Jones y col. (1986) Nature 321: 522-525; Riechmann y col. (1988) Nature 332: 323-327; y Verhoeven y col. (1988) Science 239: 1534-1536.

La identificación de residuos que se considerarán para mutación restauradora puede realizarse del modo siguiente: Cuando un aminoácido se encuadra en la siguiente categoría, el aminoácido marco de la secuencia de línea germinal humana que se está usando (el "marco aceptor") es sustituida por un aminoácido marco de un marco del compuesto del anticuerpo progenitor (el "marco donador"):

- (a) el aminoácido en la región marco humana del marco aceptor es infrecuente para marcos humanos en esa posición, mientras que el aminoácido correspondiente en la inmunoglobulina donadora es típico para marcos humanos en esa posición;
- (b) la posición del aminoácido es inmediatamente adyacente a una de las CDR; o
- (c) cualquier átomo de cadena lateral de un aminoácido marco está a menos de aproximadamente 5-6 angstroms (entre centros) de cualquier átomo de un aminoácido de CDR en un modelo tridimensional de inmunoglobulina.

Cuando cada uno de los aminoácidos en la región marco humana del marco aceptor y un aminoácido correspondiente en el marco donador es en general infrecuente para marcos humanos en esa posición, dicho aminoácido puede ser sustituido por un aminoácido típico para marcos humanos en esa posición. Este criterio de mutación restauradora permite recuperar la actividad del compuesto del anticuerpo progenitor.

Otro enfoque para generar anticuerpos humanos manipulados que muestran propiedades funcionales similares a los compuestos de anticuerpos descritos en la presente memoria descriptiva implica la mutación aleatoria de aminoácidos en las CDR injertadas sin cambiar el marco, y el cribado de las moléculas resultantes según su afinidad de unión y otras propiedades funcionales que son tan buenas o mejores que las de los compuestos de anticuerpos progenitores. También pueden introducirse mutaciones individuales en cada posición de aminoácido en cada CDR, seguido por la valoración de los efectos de dichas mutaciones en la afinidad de unión y otras propiedades funcionales. Las mutaciones individuales que producen propiedades mejoradas pueden combinarse para evaluar sus efectos en combinación mutua.

Además, es posible una combinación de los dos enfoques anteriores. Después de injerto de CDR, se pueden someter a mutación restauradora regiones marco específicas además de introducir cambios de aminoácidos en las CDR. Esta metodología se describe en Wu y col. (1999) J. Mol. Biol. 294: 151-162.

Aplicando las enseñanzas de la presente invención, un experto en la materia puede usar técnicas comunes, por ejemplo, mutagenia dirigida al sitio, para sustituir aminoácidos en las secuencias marco y CDR descritas en la presente memoria descriptiva y generar así secuencias de aminoácidos de regiones variables obtenidas de las secuencias de la presente memoria descriptiva. Todos los aminoácidos alternativos de ocurrencia natural pueden introducirse en un sitio de sustitución específico. Los procedimientos descritos en la presente memoria descriptiva pueden usarse a continuación para cribar estas secuencias de aminoácidos de regiones variables adicionales con el fin de identificar secuencias que tienen las funciones *in vivo* indicadas. De este modo, pueden identificarse secuencias adicionales adecuadas para preparar anticuerpos humanos manipulados y porciones de unión a antígenos de los mismos de acuerdo con la presente invención. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos en los marcos se limita a una, dos o tres posiciones en una cualquiera o más de las 4 regiones marco de cadena ligera y/o cadena pesada descritas en la presente memoria descriptiva. Preferentemente, la sustitución de aminoácidos en las CDR se limita a una, dos o tres posiciones en una cualquiera o más de las 3 CDR de cadena ligera y/o de

cadena pesada. Son posibles también combinaciones de los diversos cambios en estas regiones marco y CDR descritas anteriormente. Con la máxima preferencia, estas técnicas se usan para generar secuencias de aminoácidos de regiones variables adicionales usando las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y ligera variables descritas en las SEQ ID NO: 12 y SEQ ID NO: 14 respectivamente.

5 Los anticuerpos manipulados o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que "compiten" con las moléculas descritas en la presente memoria descriptiva son aquellos que se unen a DKK-1 humano (SEQ ID NO: 29) en un sitio o sitios que son idénticos a, o que se solapan con, el sitio o sitios en los que se unen las moléculas de la presente memoria descriptiva. Los anticuerpos manipulados en competencia o fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden identificarse, por ejemplo, por medio de un ensayo de competencia de anticuerpos. Por ejemplo, 10 una muestra de DKK-1 humano purificado o parcialmente purificado (SEQ ID NO: 29) está unida a un vehículo sólido. A continuación, se añade un anticuerpo descrito en la presente memoria descriptiva y un anticuerpo monoclonal de prueba o un fragmento de unión a antígeno, con la prueba o el anticuerpo de la presente invención marcados. Si el anticuerpo marcado y el anticuerpo no marcado se unen a sitios separados y discretos en DKK-1, el anticuerpo marcado se unirá al mismo nivel esté presente o no el anticuerpo en competencia sospechado. Sin embargo, si los sitios de interacción son idénticos o están solapados, el anticuerpo no marcado competirá, y la cantidad de anticuerpo marcado unida al antígeno se reducirá. Si el anticuerpo no marcado está presente en exceso, no se unirá el anticuerpo marcado. Para los fines de la presente invención, los anticuerpos manipulados en competencia o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos son aquellos que disminuyen la unión de los anticuerpos de la presente invención a DKK-1 en aproximadamente el 50%, aproximadamente el 60%, 20 aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 95% o aproximadamente el 99%. Los detalles de los procedimientos para llevar a cabo dichos ensayos de competencia son bien conocidos en la técnica y pueden encontrarse, por ejemplo, en Harlow y Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, páginas 567-569, ISBN 0-87969-314-2. Dichos ensayos pueden hacerse cuantitativos usando anticuerpos purificados. Se establece una curva estándar valorando un anticuerpo frente a una versión marcada de sí mismo. Se valora la capacidad de un anticuerpo monoclonal en competencia no marcado o un fragmento de unión a antígeno del mismo para inhibir la unión de la molécula marcada a la placa. Se representan gráficamente los resultados y se comparan las concentraciones necesarias para conseguir el grado deseado de inhibición de unión. Puede determinarse si los anticuerpos monoclonales o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que compiten con anticuerpos humanos manipulados o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención en dichos ensayos de competencia poseen propiedades funcionales idénticas similares de los anticuerpos humanos manipulados de la presente invención por medio de los procedimientos descritos en los Ejemplos mostrados en la presente memoria descriptiva.

35 El término "inhibir" significa capacidad de antagonizar, prohibir, prevenir, limitar, ralentizar, perturbar, eliminar, detener, reducir o revertir sustancialmente los efectos biológicos de DKK-1.

El término "que trata" (o "tratar" o "tratamiento") se refiere a procedimientos que implican ralentización, interrupción, detención, control, parada, reducción o reversión de la progresión o la gravedad de un síntoma, trastorno, afección o enfermedad, pero no implica necesariamente una eliminación total de todos los síntomas, afecciones o trastornos relacionados con la enfermedad asociados con la actividad de DKK-1.

40 El término "que previene" (o "prevenir" o "prevención") significa prohibir, limitar o inhibir la incidencia u ocurrencia de un síntoma, trastorno, afección o enfermedad. Los episodios agudos y las afecciones crónicas pueden tratarse o prevenirse. En un episodio agudo, se administra un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo al inicio de un síntoma, trastorno, afección o enfermedad, y se interrumpe cuando termina el episodio agudo. En cambio, un síntoma, trastorno, afección o enfermedad crónicos se tratan durante un marco temporal más prolongado.

El término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis de un compuesto de anticuerpo de la presente invención que, tras la administración de una única o múltiples dosis a un paciente, proporciona el tratamiento o prevención deseados. Las cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos de anticuerpos de la presente invención pueden comprender una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg por 50 dosis individual. Una cantidad terapéuticamente eficaz para cualquier paciente individual puede ser determinada por el proveedor de atención sanitaria monitorizando el efecto de los compuestos de anticuerpos en un biomarcador.

El término "cicatrización del hueso" se refiere a la estimulación de formación de hueso en puntos de lesión bloqueando el DKK-1. Los ejemplos de indicaciones de cicatrización del hueso incluyen, pero no se limitan a, curación de fracturas, fijación/retención de implantes y fijación/retención de implantes dentales.

55 Los anticuerpos manipulados de la presente invención pueden usarse como medicamentos en medicina humana, administrados por diversas vías. Con la máxima preferencia, dichas composiciones son para administración parenteral. Dichas composiciones farmacéuticas pueden prepararse por procedimientos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington: *The Science and Practise of Pharmacy*, 19<sup>a</sup> ed. (1995), A. Gennaro y col., Mack Publishing Co.) y comprenden un anticuerpo manipulado tal como se describe en la presente memoria descriptiva, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Los resultados de los ensayos siguientes muestran que los anticuerpos monoclonales y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, de la presente invención son útiles como inhibidor de DKK-1. Los anticuerpos de la presente invención poseen un conjunto de propiedades convenientes. Por ejemplo, el Anticuerpo II de la presente invención tiene una mayor estabilidad química y física, y solubilidad. Se realizan estudios acelerados para evaluar la estabilidad química de los anticuerpos incubando los anticuerpos de la presente invención en diferentes condiciones tampón (variación de pH y NaCl) e incubando a 4°C, 25°C y 40°C durante 4 semanas. Las modificaciones químicas de los anticuerpos de la presente invención se detectan por cromatografía de intercambio de cationes ("CEX") para separar las variantes de carga (por ejemplo., desamidación de asparagina en ácido aspártico) y análisis LC-MS para identificar sitios específicos de degradación. El Anticuerpo II tiene la mínima cantidad de degradación detectada por CEX y este resultado es confirmado adicionalmente por datos de LC-MS que muestran que los tres residuos de asparagina en las CDR tenían la mínima cantidad de desamidación en comparación con los otros anticuerpos descritos en la presente memoria descriptiva después de incubación de 4 semanas a 40°C en tampón de pH 8. La solubilidad para el Anticuerpo II es más favorable que con el Anticuerpo I cuando se formula a pH 6 + NaCl 150 mM. Además, el Anticuerpo II mantenía una solubilidad > 105 mg/mL cuando se almacenó a 4°C, mientras que la solubilidad para el Anticuerpo I era de sólo 48 mg/mL y precipitó en estas mismas condiciones. Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, "CE50" se refiere a la concentración de un agente que produce el 50% de la respuesta máxima posible para ese agente. "Kd" se refiere a la constante de disociación en equilibrio que puede calcularse mediante la fórmula:  $k_{off}/k_{on} = Kd$ .

**Ejemplo 1 - Producción de anticuerpos**

Los Anticuerpos I, II, III y IV pueden prepararse y purificarse del modo siguiente. Se transfecta de forma transitoria o estable una célula hospedadora apropiada, tal como HEK 293 EBNA o CHO, con un sistema de expresión para secretar anticuerpos usando una proporción de vector HC:LC predeterminada óptima o un único sistema de vectores que codifica al mismo tiempo HC, por ejemplo SEQ ID NO: 23 o SEQ ID NO: 24, y LC, por ejemplo SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 o SEQ ID NO: 28. Se purifica el medio aclarado, en el que se ha secretado el anticuerpo, usando cualquiera de las numerosas técnicas usadas comúnmente. Por ejemplo, el medio puede aplicarse cómodamente a una columna de Sefarosa FF de Proteína A o G que se ha equilibrado con un tampón compatible, tal como suero salino con tampón de fosfato (pH 7,4). Se lava la columna para eliminar los componentes de unión no específicos. Se eluye el anticuerpo unido, por ejemplo, por gradiente de pH (tal como tampón de fosfato de sodio 0,1 M pH 6,8 a tampón de citrato de sodio 0,1 M pH 3,0). Se detectan las fracciones de anticuerpo, por ejemplo, por SDS-PAGE, y a continuación se almacenan en reserva. La purificación adicional es opcional, dependiendo del uso pretendido. El anticuerpo puede concentrarse y/o filtrarse en condiciones estériles usando técnicas comunes. El agregado soluble y los multímeros pueden eliminarse de manera efectiva mediante técnicas comunes, que incluyen exclusión por tamaños, interacción hidrófoba, intercambio de iones o cromatografía de hidroxiapatita. La pureza del anticuerpo después de estas etapas de cromatografía es superior al 99%. El producto puede congelarse inmediatamente a -70°C o puede liofilizarse. A continuación, se proporcionan las secuencias de aminoácidos para estos anticuerpos.

**SEQ ID NO**

Anticuerpo	Cadena pesada	Cadena ligera	HCVR	LCVR
I	17	19	11	13
II	18	20	12	14
III	17	21	11	15
IV	17	22	11	16
V	35	34	37	36

Anticuerpo	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
I	1	2	3	5	6	7
II	1	2	4	5	8	7
III	1	2	3	5	6	9
IV	1	2	3	5	10	9
V	1	38	39	40	41	42

**Ejemplo 2: Medidas de afinidad (Kd) para anticuerpos DKK-1**

Para establecer un equilibrio de unión, se mezcla una concentración constante de anticuerpo con concentraciones variables de DKK-1 His-tagged (SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32 o SEQ ID NO: 33) (intervalo 1 nM - 1 pM) en PBS (pH 7,4) + 1 mg/mL de albúmina de suero bovino("BSA") o tampón en solitario y se incubaba durante varios días a 37°C. Se establecen dos conjuntos de reacciones de unión, un conjunto a baja

concentración de anticuerpo (3 pM) y un conjunto a alta concentración de anticuerpo (30 ó 50 pM).

Después de establecer el equilibrio, se usa un instrumento KinExA 3000 (Sapidyne Inst. Inc.) para sondear la fracción de anticuerpo 'libre' (no unido). Brevemente, el DKK-1 His-tagged se acopla de forma covalente con perlas de flujo rápido de Sefarosa 4 activadas por NHS (GE Healthcare) que son empaquetadas por el instrumento para crear una pequeña columna. Las mezclas preequilibradas de anticuerpo + DKK-1 His-tagged se pasan sobre las perlas para capturar sólo anticuerpo libre. La cantidad de anticuerpo libre capturado es proporcional a la concentración libre en las muestras en equilibrio, y se detecta por inyección de un anticuerpo secundario marcado por fluorescencia. Los conjuntos de datos de concentraciones de anticuerpo altas y bajas se ajustan globalmente usando análisis de curva  $n$  en el software KinExA. Este ajuste devuelve un valor de  $K_d$ , así como el intervalo de confianza al 95%.

**Tabla 1: Afinidad de Anticuerpo II a DKK-1 de distintas especies**

Especie DKK-1	$K_d$ (pM)	Intervalo de confianza al 95% para $K_d$ (pM)
Human	3,3	1,4 - 7,5
Cynomolgus	14	8,4 - 26
Rata	8,4	3,9 - 23
Murina	7,0	4,7 - 11
Conejo	17	11 - 27

### Ejemplo 3: Efecto de los anticuerpos DKK-1 en el ensayo de fosfatasa alcalina C2C12

La señalización Wnt canónica es importante para la diferenciación y la actividad de osteoblastos. Wnt-3a de CM (Medios Acondicionados) combinado con BMP-4 induce a las células C2C12 de ratón pluripotentes a diferenciarse en osteoblastos con un criterio de valoración mensurable de fosfatasa alcalina ("AP"), un marcador de actividad de osteoblastos. DKK-1, un inhibidor de la señalización Wnt canónica, inhibe la diferenciación y la producción de AP. Los Anticuerpos DKK-1 de neutralización evitan la inhibición mediada por DKK-1 de AP. Los anticuerpos que bloquean la actividad inhibidora de DKK-1 previenen la pérdida de actividad de AP.

Las células C2C12 se cultivan en confluencia al 60%-80% en matraces de cultivo de tejidos en medio de crecimiento (Medio Eagle Modificado de Dulbecco ("DMEM") que contiene L-glutamina, suero bovino fetal ("FBS") inactivado por calor al 10%, 1x antibiótico/antimicótico, 1x piruvato de sodio). Las células C2C12 se vuelven a suspender a una concentración de 30.000 células/mL en medio de crecimiento y se añaden 100  $\mu$ L/pocillo a una placa de cultivo de tejido de 96 pocillos y se incuban durante toda la noche a 37°C, 95% de humedad, CO<sub>2</sub> al 5%. El medio de cultivo se sustituye por 50  $\mu$ L de medio de ensayo (DMEM que contiene L-glutamina, FBS inactivado por calor al 5%, 1x antibiótico/antimicótico, 1x piruvato de sodio). Para estimular la diferenciación (y así inducir la producción de AP), se añaden 100  $\mu$ L de medio de ensayo más 1,5x Wnt-3a CM + BMP-4 (R&D Systems catálogo #314-BP). Esto produce una concentración final de 1x Wnt-3a CM y 25 ng/mL de BMP-4. Los controles negativos contienen células L CM (no Wnt-3a o BMP-4). Las células se incuban a 37°C, 95% de humedad, CO<sub>2</sub> al 5% durante 72 horas. El medio se elimina, se lavan las células con 200  $\mu$ L de solución salina con tampón de fosfato ("PBS"), y se elimina el PBS. Se liofilizan las células 3 veces. Se añaden 100  $\mu$ L de sustrato pNPP (Thermo Scientific catálogo #37621) por pocillo y se incuban la placa a temperatura ambiente. Se lee la absorbancia a 405 nm. Para determinar la concentración de DKK-1 necesaria para inhibir la diferenciación, se valoran moléculas de Dkk-1 de diversas especies para identificar la concentración mínima necesaria para inhibir totalmente la inducción de AP.

La concentración mínima de DKK-1 de cada especie que inhibe totalmente la inducción de AP es la siguiente: DKK-1 humano = 38 nM, DKK-1 de Cynomolgus = 11,4 nM, DKK-1 de rata = 5,8 nM y DKK-1 de conejo = 25,0 nM.

Una vez determinada la concentración de DKK-1 que inhibe totalmente la inducción de AP, se preincuban concentraciones crecientes de un anti-anticuerpo DKK-1 en medio de ensayo con una concentración inhibidora de Dkk-1 durante 30 minutos a temperatura ambiente. La inducción de AP se determina tal como se describe anteriormente. Los resultados se comunican como una CE50 (nM  $\pm$  error estándar).

El Anticuerpo II bloquea la inhibición mediada por Dkk-1 de AP C2C12. Para el DKK-1 de diversas especies, los CE50 (expresados como nM  $\pm$  error estándar) son los siguientes: ser humano = 9,8  $\pm$  0,41, cynomolgus = 6,4  $\pm$  0,25, rata = 2,9  $\pm$  0,25 y conejo = 6,0  $\pm$  0,32.

### Ejemplo 4: Ensayo in vivo de defecto cortical (DC)

Se someten a ovariectomía ratas Sprague-Dawley hembra de seis meses y se permite la pérdida ósea durante dos meses. Se introducen defectos de 2 mm de diámetro en los fémures izquierdo y derecho mediante un taladro eléctrico con una broca dental de 2 mm. Este orificio se extiende a través de las cortezas anterior y posterior. La cicatrización del hueso se monitoriza longitudinalmente evaluando la densidad de masa ósea ("DMO") a través del

uso de tomografía computarizada cuantitativa ("qCT") durante 35 días después de la intervención quirúrgica. Al final del experimento, se sacrifican los animales y se someten los fémures enteros a determinaciones de carga hasta fallo para establecer la resistencia biomecánica de la diáfisis completa. Los anticuerpos se administran por vía subcutánea en las dosis e intervalos indicados.

- 5 Se administra la dosis del Anticuerpo II del modo siguiente: 5 mg/kg una vez cada dos semanas empezando un día después de la intervención quirúrgica (Grupo 1), 1 mg/kg (Grupo 2), 5 mg/kg (Grupo 3) o 15 mg/kg (Grupo 4) una vez cada dos semanas empezando nueve días después de la intervención quirúrgica. La DMO se valora mediante qCT en el día 35. El grupo 1 mostró un aumento estadísticamente significativo en DMO en las cortezas anterior y posterior. El Grupo 4 mostró un aumento estadísticamente significativo en DMO en las dos cortezas, aunque los Grupos 2 y 3 mostraron un aumento no significativo en DMO.

**Ejemplo 5: Ensayo de eficacia in vivo en cáncer**

15 Se aclimata a ratones (ratones C.B-17 hembra, modelo inmunodeficiente combinado grave Fox Chase # CB17SC-M) durante una semana en un centro de animales antes del inicio del experimento. Después de la aclimatación, se distribuye aleatoriamente a los ratones en grupos de 10 por tratamiento. Se implantan células de carcinoma pulmonar no microcítico A549 humano en cultivo por vía subcutánea en el flanco trasero de los ratones y se deja que el tumor alcance un volumen tumoral medio ~ 100 mm<sup>3</sup>. Se administra Anticuerpo II (1 mg/kg y 5 mg/kg), anticuerpo IgG de control (1 mg/kg y 5 mg/kg) o vehículo (solución salina con tampón de citrato suplementada con Tween 80 al 0,02%) por medio de inyección subcutánea. Los animales reciben 2 tratamientos separados por 7 días.

20 Los tumores se miden 2 veces por semana mediante calibres electrónicos para representar gráficamente curvas de crecimiento. Los animales se monitorizan también dos veces por semana para analizar las fluctuaciones en el peso corporal y signos de toxicidad. Las medidas del volumen tumoral mostradas en la tabla 3 se toman en el día 29.

Tal como se muestra en la Tabla 2, los grupos de tratamiento que reciben Anticuerpo II mostraron una inhibición de crecimiento significativa de xenoinjertos de pulmón microcítico A549 humanos in vivo.

**Tabla 2: Eficacia de Anticuerpo II en modelo de xenoinjerto de carcinoma de pulmón no microcítico A549**

Grupo de tratamiento	Volumen tumoral ± Error estándar (mm <sup>3</sup> )	Valor p (relativo al grupo control del vehículo)
Vehículo de citrato	402 ± 36	-
Control IgG (1 mg/kg)	372 ± 45	-
Control IgG (5 mg/kg)	492 ± 72	-
Anticuerpo II (1 mg/kg)	279 ± 32	0,01 - 0,05
Anticuerpo II (5 mg/kg)	202 ± 21	< 0,001

25

**Ejemplo 6: Ensayo de xenoinjerto in vivo de renormalización angiogénica**

30 Para comprender el mecanismo de la eficacia antitumoral, se efectúa un análisis de imágenes de alto contenido en tumores A549 tratados con Anticuerpo II o IgG de control. Se analizan varios marcadores de base fenotípica en términos cuantitativos y cualitativos para valorar los procedimientos biológicos relevantes de cáncer de angiogenia (CD31 y actina de músculo liso, SMA), inducción de hipoxia (transportador de glucosa 1, GLUT1), proliferación celular (Ki67) y apoptosis (Terminal UDP Nick-End Labeling, TUNEL).

Se aclimatan ratones C.B-17 hembra (Fox Chase SCID) modelo # CB17SC-M de 7 a 8 semanas de vida durante una semana y se deja que ingieran *ad libitum* una dieta normal baja en grasas (4,5%), que se continúa a lo largo de la duración del estudio.

35 Se cultivan células A549 de origen ATCC y se dividen en medio de Kaighn F-12 (InVitrogen #21127) suplementadas con FBS al 10% (InVitrogen #0, y diluciones 100x de piruvato de sodio, aminoácidos no esenciales y penicilina-estreptomicina (Invitrogen #11360, #11140 y #15140 respectivamente). Se separan y se preparan a una concentración final de 50 x 10<sup>6</sup> células/ml en PBS en el paso 19 con viabilidad del 95%.

40 Se inyectan 5 x 10<sup>6</sup> células de carcinoma pulmonar humano A549 por vía subcutánea en el flanco de los ratones objeto en una mezcla 1:1 de PBS y Matrigel (Becton Dickinson, Bedford, MA). Se realizan medidas del tumor y el peso corporal dos veces por semana. Antes del tratamiento, se aleatoriza a los ratones basándose en el tamaño del tumor usando un algoritmo de aleatorización.

45 Empezando cuando el tumor llegó a 200 mm<sup>3</sup>, se separan los ratones aleatorizados en 2 grupos de 10 animales y se les administra la dosis subcutánea en el día 1 y de nuevo en el día 8 con 5 mg/kg de Anticuerpo II o el control de IgG4. El estudio se termina 10 días después de la administración de la primera dosis de anticuerpo.

El Anticuerpo II se prepara en solución salina con tampón de citrato (CBS) (citrato 10 mM pH6, NaCl 150 mM y polisorbato al 0,2%). Se proporciona control de IgG4 a 6,0 mg/ml en suero salino con tampón de fosfato (PBS).

Los tumores de xenoinjertos se extirpan en los ratones después de 17 días de dosis y se colocan en fijador Cinc-Tris (BD Pharmingen). Los tumores fijados se procesan, se bloquean en parafina y se seccionan en cortes de 3 µm en cortes histológicos estándar. Los cortes histológicos se hornean a 15°C durante 1 hora y después se desparafinan en xileno (4 tratamientos, 10 minutos cada uno). Se hidratan los cortes histológicos a través de una serie de inmersiones en etanol/agua con lavados finales en solución salina con tampón Tris/Tween (TBST). A continuación, se bloquean los cortes histológicos con Bloque de Proteína (DAKO) durante 30 minutos. Para el Panel Tumoral, se tiñen los cortes histológicos con una combinación de Hoechst 33324 (Invitrogen), CD31 antihumano de rata (Pharmingen)/Alexa-488 anti-rata (Invitrogen), anti-Ki67 de conejo (NeoMarkers)/Alexa 647 anti-conejo (Invitrogen) y rojo TUNEL-TMR (diluido 1:5 en tampón de dilución TUNEL; Roche). Para el Panel de Angiogenia, se tiñen los cortes histológicos con una combinación de Hoechst 33324 (Invitrogen), CD31 anti-humano de rata (Pharmingen)/Alexa-488 anti-rata (Invitrogen), anti-GLUT1 de conejo (Chemicon)/Alexa 647 anti-conejo (Invitrogen) y anti-Actina de músculo liso/Cy3 de ratón (Sigma). Se obtienen imágenes de los cortes histológicos usando un citómetro de exploración láser iCys (CompuCito) y una estación de trabajo Marianas Digital Imaging configurada con un microscopio de fluorescencia invertido Zeiss Axiovert 200M (Intelligent Imaging Innovations). Se realizan comparaciones de datos cuantitativos de los grupos de tratamiento usando el análisis de Dunnet en el software estadístico JMP (SAS).

Tal como se muestra en la Tabla 3, los xenoinjertos A549 de animales tratados con IgG de control están moderadamente vascularizados, tienen niveles moderados de miofibroblastos y numerosas áreas focalizadas de hipoxia. Los tumores tratados con IgG de control tienen una red extensa de vasos consistentes en brotes vasculares neoangiogénicos y vasos maduros que están deficientemente cubiertos por pericitos. Los tumores tratados con IgG de control tienen áreas hipóxicas (marcadas por GLUT1) que son zonas claramente demarcadas a cierta distancia de los vasos perfundidos y las áreas necróticas que están todavía más alejadas de los vasos. El tratamiento con Anticuerpo II produce un área de los vasos disminuida, un área de pericitos reducida y una cobertura por pericitos de los vasos disminuida. Sin embargo, este tratamiento no produjo una diferencia significativa en la hipoxia tumoral. Cualitativamente, la vasculatura tumoral tratada con anticuerpo II parece consistir en vasos más pequeños menos en red y con menor cobertura de pericitos que el grupo tratado con IgG de control.

Tal como se muestra en la Tabla 3, los tumores tratados con IgG tienen las células tumorales en proliferación distribuidas uniformemente, pero también muestran con frecuencia una o más áreas grandes de necrosis que son avasculares. El tratamiento con Anticuerpo II no produce cambios en la apoptosis y sólo una disminución ligera no significativa en el área de proliferación total. Sin embargo, existe una disminución acusada en el porcentaje de área de células Ki67 de alta intensidad en los tumores tratados con anticuerpo II, lo que podría indicar una menor cantidad de células en la fase del ciclo celular G2.

**Tabla 3: Anticuerpo II en ensayo de xenoinjerto *in vivo* de renormalización angiogénica**

Panel fenotípico	Parámetro biológico	Valor IgG de control: valor de tratamiento con anticuerpos II	Significación estadística (valor p de Dunnet)
Panel de angiogenia tumoral	<b>% área de vaso total</b>	10,26: 7,88	0,001
Panel de angiogenia tumoral	<b>% área de vaso funcional</b>	9,84: 7,59	0,0009
Panel de angiogenia tumoral	<b>% área de vaso no funcional</b>	0,42: 0,30	0,1341
Panel de angiogenia tumoral	<b>% vasos cubiertos por pericito</b>	42,44: 30,88	0,0234
Panel de angiogenia tumoral	<b>% área hipóxica tumoral</b>	14,90: 11,77	0,3615
Panel de proliferación tumoral	<b>% área de proliferación tumoral</b>	12,16: 9,68	0,1739
Panel de proliferación tumoral	<b>% área con Ki67 alto</b>	0,66: 0,19	0,0012
Panel de proliferación tumoral	<b>% células tumorales en ciclo con Ki67 alto</b>	5,24: 1,68	<0,0001
Panel de apoptosis tumoral	<b>% área de apoptosis tumoral</b>	8,63: 8,24	0,7466
<b>% área de vaso total</b> - Porcentaje de área de tejido tumoral cubierta por todos los vasos con independencia de su estado funcional.			
<b>% área de vaso funcional</b> - Porcentaje de área de tejido tumoral cubierta por vasos en regiones no hipóxicas.			
<b>% área de vaso no funcional</b> - Porcentaje de área de tejido tumoral cubierta por vasos en regiones hipóxicas.			
<b>% vasos cubiertos por pericito</b> - Porcentaje de todos los vasos tumorales que se asocian con células que expresan actina del músculo liso (SMA).			

(continuación)

Panel fenotípico	Parámetro biológico	Valor IgG de control: valor de tratamiento con anticuerpos II	Significación estadística (valor p de Dunnett)
% <b>área hipóxica tumoral</b> - Porcentaje de área de tejido tumoral cubierta por células que expresan GLUT1, un marcador sustituto de hipoxia.			
% <b>área de proliferación tumoral</b> - Porcentaje de área de tejido tumoral que es positiva para Ki67, una proteína nuclear usada rutinariamente como marcador de células de proliferación activa.			
% <b>área con Ki67 alto</b> - Porcentaje de área de tejido tumoral que se tiñe intensamente para Ki67. Las células que expresan niveles altos de Ki67 están en las fases del ciclo celular más tardías que aquellas que expresan niveles inferiores de Ki67.			
% <b>células tumorales en ciclo con Ki67 alto</b> - Porcentaje de todas las células Ki67 positivas que están diseñadas para tener un nivel alto de expresión de Ki67. Las células que expresan niveles altos de Ki67 se encuentran en fases del ciclo celular más tardías que aquellas que expresan niveles inferiores de Ki67.			
% <b>área de apoptosis tumoral</b> - Porcentaje de área de tejido tumoral con alta tinción TUNEL. TUNEL es un procedimiento usado rutinariamente para detectar roturas de ADN bicatenario que es indicativo de apoptosis terminal.			

**Ejemplo 7: Ensayo de eficacia in vivo en hueso**

5 Para evaluar la capacidad del Anticuerpo V (cadena ligera SEQ ID NO: 34 y cadena pesada SEQ ID NO: 35) que acelera la formación de hueso periimplante y regenera el tejido óseo, se usan ratas Sprague-Dawley macho de cuatro meses (Harlan Sprague Dawley Inc) que pesaban 425 gramos aproximadamente. En las ratas se implanta quirúrgicamente un tornillo de titanio (2 mm x 4 mm) en las dos patas del lado derecho medio por encima de la unión tibial-peronea. A continuación, se distribuyen las ratas aleatoriamente en 2 grupos según el peso corporal y reciben 10 mg/kg de Anticuerpo V o 10 mg/kg de IgG de control por inyección subcutánea una vez por semana empezando el mismo día de la intervención quirúrgica durante 21 días. Se usa tomografía computarizada cuantitativa (escáner TC modelo Aloka LaTheta LTC-100) para exploración *ex vivo* y se cuantifica el hueso recién formado con un tamaño de vóxel de 60 µm. El volumen de interés (VOI) se define como 28 cortes a intervalos de 0,1 mm sobre el punto de implante anterior. Las diferencias entre grupos se valoran con software JMP versión 5.1. (Cary, Carolina del Norte), y se compara frente al control de IgG usando el método de Dunnett con un nivel de significación de P<0,05. 10 15 Cualitativamente la evaluación por imágenes de rayos X faxitron *ex vivo* indica que las ratas tratadas con el Anticuerpo V tienen más hueso nuevo y callo alrededor del implante. Los análisis de TC cuantitativos revelan un aumento estadísticamente significativo del contenido mineral del hueso cortical periimplante (14%), nueva área de hueso (16%), grosor cortical (7%) y nuevo contenido mineral del hueso periimplante esponjoso en la médula ósea (18%), y área de hueso (16%) en ratas tratadas con Anticuerpo V en comparación con el IgG de control. Los datos 20 revelan que el Anticuerpo V estimula la nueva formación de hueso y acelera la regeneración del tejido óseo en ratas con implante de titanio.

**Tabla 4: Análisis de micro-TC de formación de hueso nuevo periimplante**

Grupo	n	Análisis periimplante de la médula ósea		Análisis periimplante corticales		
		Contenido mineral del hueso (mg)	Área de hueso (cm <sup>2</sup> )	Contenido mineral del hueso (mg)	Área de hueso (cm <sup>2</sup> )	Grosor cortical (cm)
Control IgG	10	0,84 ± 0,04	0,034 ± 0,001	6,70 ± 0,07	0,064 ± 0,001	0,054 ± 0,001
Anticuerpo V	10	1,00 ± 0,04*	0,039 ± 0,002*	7,61 ± 0,06*	0,074 ± 0,001*	0,057 ± 0,001*

Los datos se presentan como media ± EE. \*, p<0,05, con respecto a IgG de control, prueba de Dunnett JMP.

**LISTADO DE SEQ ID**

25 **CDR de cadena pesada**

SEQ ID NO: 1 GFTFSSYTMS  
 SEQ ID NO: 2 TISGGGFGTYYPDSVKG  
 SEQ ID NO: 3 PGYHNYFDI  
 SEQ ID NO: 4 PGYNNYFDI

**CDR de cadena ligera**

5            SEQ ID NO: 5        HASDSISNSLH  
              SEQ ID NO: 6        YGRQSIQ  
              SEQ ID NO: 7        QQSESWPLH  
              SEQ ID NO: 8        YARQSIQ  
              SEQ ID NO: 9        QQSASWPLH  
              SEQ ID NO: 10       YARQSEQ

**Regiones variables de cadena pesada**

SEQ ID NO: 11

10            EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMSWVRQAPGKGLEWVATISGG  
               FFGTYYPDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPGYHNYYFDI  
               WGQGTTVTVSS

SEQ ID NO: 12

              EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMSWVRQAPGKGLEWVATISGG  
               FFGTYYPDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPGYNNYYFDI  
               WGQGTTVTVSS

**Regiones variables de cadena ligera**

SEQ ID NO: 13

15            EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASDSISNSLHWYQQKPGQAPRLLIYYGRQSIQG  
               IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSESWPLHFGGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 14

              EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASDSISNSLHWYQQKPGQAPRLLIYYARQSIQG  
               IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSESWPLHFGGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 15

20            EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASDSISNSLHWYQQKPGQAPRLLIYYGRQSIQG  
               IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSASWPLHFGGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 16

              EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASDSISNSLHWYQQKPGQAPRLLIYYARQSEQ  
               GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSASWPLHFGGGGTKVEIK

**Cadenas pesadas completas**

SEQ ID NO: 17

25            EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMSWVRQAPGKGLEWVATISGG  
               FFGTYYPDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPGYHNYYFDI  
               WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG  
               ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV  
               SKYGPCCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSDQEDPEVQF  
               NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL  
               LPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES  
               NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT  
               QKLSLSLGLG

SEQ ID NO: 18

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMSWVRQAPGKGLEWVATISGG  
GFGTYYPDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPGYNNYYFDI  
WGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG  
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRV  
SKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQF  
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL  
LPSSIEKTKAKKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES  
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT  
QKLSLSLG

**Cadenas ligeras completas**

SEQ ID NO: 19

5 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASDSISNSLHWYQQKPGQAPRLLIYYGRQSIQG  
IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSESWPLHFGGGTKVEIKRTVAAPS  
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS  
KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 20

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASDSISNSLHWYQQKPGQAPRLLIYYARQSIQG  
IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSESWPLHFGGGTKVEIKRTVAAPS  
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS  
KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 21

10 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASDSISNSLHWYQQKPGQAPRLLIYYGRQSIQG  
IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSASWPLHFGGGTKVEIKRTVAAP  
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS  
KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 22

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASDSISNSLHWYQQKPGQAPRLLIYYARQSEQ  
GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSASWPLHFGGGTKVEIKRTVAA  
PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD  
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

**Secuencias de nucleótidos - Regiones variables de cadena pesada**

SEQ ID NO: 23

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCC  
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAGCTATAACCATGTCTT  
GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCACCATTTCGG  
TGGTGGTTTCGGCACATACTATCCCGACAGTGTGAAGGGTCGATTCACCATCT  
CCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGC  
CGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACCTGGATATCACAATACTACT  
TTGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAA  
GGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGC  
ACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG  
TGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTC  
CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG  
CAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAAC  
ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCCT  
GCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAA  
ACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTG  
GTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATG  
GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACA  
GCACGTACCGTGTGGTCCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAAC  
GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCG  
AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACA  
CCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG  
CCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAAT  
GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACG  
GCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGA  
GGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACA  
CACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

SEQ ID NO: 24

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTCCC  
TGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAGCTATAACCATGTCTT  
GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCCACCATTTCGG  
TGGTGGTTTCGGCACATACTATCCCGACAGTGTGAAGGGTCGATTCACCATCT  
CCAGAGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGC  
CGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACCTGGATATAATACTACTACT

5

TTGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAA  
 GGGCCCATCGGTCTTCCCGCTAGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGC  
 ACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG  
 TGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTC  
 CTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGGACCGTGCCCTCCAG  
 CAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAAC  
 ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACACCT  
 GCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCAA  
 ACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTG  
 GTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATG  
 GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACA  
 GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTGCACCAGGACTGGCTGAAC  
 GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCG  
 AGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACA  
 CCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTG  
 CCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAAT  
 GGGCAGCCGGAGAACAATAAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACG  
 GCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGA  
 GGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACA  
 CACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

**Secuencias de nucleótidos - Regiones variables de cadena ligera**

SEQ ID NO: 25

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG  
 AGCCACCCTCTCCTGCCACGCCAGCGACAGTATTAGCAACAGCCTACACTGGT  
 ACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATTATGGCAGACA  
 GTCCATCCAGGGCATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC  
 TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTG  
 TCAACAGAGTGAGAGCTGGCCGCTCCACTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAG  
 ATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA  
 GCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATC  
 CCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA  
 CTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC  
 AGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
 GCCTGCGAAGTACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA  
 ACAGGGGAGAGTGC

5 SEQ ID NO: 26

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG  
 AGCCACCCTCTCCTGCCACGCCAGCGACAGTATTAGCAACAGCCTACACTGGT  
 ACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATTATGCTAGACA  
 GTCCATCCAGGGCATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC  
 TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTG  
 TCAACAGAGTGAGAGCTGGCCGCTCCACTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAG  
 ATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA

GCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATC  
CCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA  
CTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC  
AGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA  
ACAGGGGAGAGTGC

SEQ ID NO: 27

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG  
AGCCACCCTCTCCTGCCACGCCAGCGACAGTATTAGCAACAGCCTACACTGGT  
ACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATTATGGCAGACA  
GTCCATCCAGGGCATCCCAGCCAGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC  
TTCCTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTG  
TCAACAGAGTGCCAGCTGGCCCGCTCCACTTCGGCGGAGGGGACCAAGGTGGAG  
ATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA  
GCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATC  
CCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA  
CTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC  
AGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA  
ACAGGGGAGAGTGC

SEQ ID NO: 28

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAG  
AGCCACCCTCTCCTGCCACGCCAGCGACAGTATTAGCAACAGCCTACACTGGT  
ACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATTATGCTAGACA  
GTCCGAGCAGGGCATCCCAGCCAGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC  
TTCCTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTG  
TCAACAGAGTGCCAGCTGGCCCGCTCCACTTCGGCGGAGGGGACCAAGGTGGAG  
ATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA  
GCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATC  
CCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA  
CTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC  
AGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTAC  
GCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA  
ACAGGGGAGAGTGC

5

**DKK-1 humano**

SEQ ID NO: 29

TLNSVLNSNAIKNLPPPLGGAAGHPGSAVSAAPGILYPGGNKYQTIDNYQPYP  
EDEECGTDEYCASPTRGGDAGVQICLACRKRRCMRHAMCCPGNYCKNGICV  
SSDQNHFRGEIETITESFGNDHSTLDGYSRRTTLSSKMYHTKGQEGSVCLRSSDC  
ASGLCCARHFWSKICKPVLKEGQVCTKHRRKGSHGLEIFQRICYGEGLSCRIQKD  
HHQASNSSRLHTCQRH

**DKK-1 de Cynomolgus**

SEQ ID NO: 30

TLNSVLNSNAIKNLPPPLGGGAAGHPGSAVSAAPGILYPGGNKYQTIDNYQPYP  
CAEDEECGTDEYCASPTRGGDAGVQICLACRKRRCMRHAMCCPGNYCKNGICV  
SSDQNNFRGEIEETITESFGNDHSTLDGYSRRTTLSSKMYHSGQEGSVCLRSSDC  
ATGLCCARHFWSKICKPVLKEGQVCTKHRRKGSHGLEIFQRCYCGEGLScriQKD  
HHQASNSSRLHTCQR

**DKK-1 de rata**

5 SEQ ID NO: 31

TLNSVLINSNAIKNLPPPLGGAGGQPGSAVSVAPGVLYEGGNKYQTLDNYQPYP  
CAEDEECGTDEYCSSPSRGAAGVGGVQICLACRKRRCMRHAMCCPGNYCKNG  
ICMPSDHSHLPRGEIEEGIIENLGNDHGAGDGYPRRTTLTSKIYHTKGQEGSVCLR  
SSDCATGLCCARHFWSKICKPVLKEGQVCTKHRRKGSHGLEIFQRCYCGEGLAC  
RIQKDDHHQTSNSSRLHTCQRHAFIDYKDDDDKHV

**DKK-1 de conejo**

SEQ ID NO: 32

TLNSVLVNSNAIKNLPPPLGGANGHPGSAVSAATPGILYEGGNKYLPLDNYQPYP  
CAEDEECGTDEYCASPARGGGAGVQICLACRKRRCMRHAMCCPGNYCKNGIC  
MPSDHNHFHRGEIEETIVESFGNDHSTSDGYSRRTTLSSKMYHAKGQEGSVCLRS  
SDCATGLCCARHFWSKICKPVLKEGQVCTKHRRKGSHGLEIFQRCYCGDGLSCR  
LQNDQHEASNSSRLHTCQR

10 **DKK-1 de ratón**

SEQ ID NO: 33

TLNSVLINSNAIKNLPPPLGGAGGQPGSAVSVAPGVLYEGGNKYQTLDNYQPYP  
CAEDEECGSDEYCSSPSRGAAGVGGVQICLACRKRRCMRHAMCCPGNYCKNG  
ICMPSDHSHFPRGEIEESIIENLGNDHNAAAGDGYPRRTTLTSKIYHTKGQEGSV  
CLRSSDCAAGLCCARHFWSKICKPVLKEGQVCTKHRRKGSHGLEIFQRCYCGEGL  
ACRIQKDDHHQASNSSRLHTCQRH

**Anticuerpo V - Cadena ligera completa**

SEQ ID NO: 34

15 DILLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASDSISGSLHWYQQKSHESPRLLIKYASQSISGI  
PSRFSGSGSGTDFTLSINSVETEDFGMYFCQQSNSWPLNFGAGTKLELKRADAAP  
TVSIFPPSTEQLATGGASVVCLMNNFYPRDISVKWKIDGTERRDGVLDSVTDQDS  
KDSTYSMSSTLSLSKADYESHNLYTCEVVHKTSSSPVVKSFNRNEC

**Anticuerpo V - Cadena pesada completa**

SEQ ID NO: 35

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLS~~CA~~ASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRLEWVATISGG  
GGNTYYPDSVKGRFTISRDN~~AKNTLYL~~QLSSLRSEDTALYYCARPGYNNYYFDY  
WGQGTTLTVSSAKTTPPSVYPLAPGTALKSNSM~~VTLGCL~~VKGYFPEPVTVTWNS  
GALSSGVHTFPAVLQSGLYTLTSSVTVPSSTWPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIV  
PRNCGGDCKPCICTGSEVSSVFIFPPKPKDVL~~TITLTPK~~VTCVVDISQDDPEVHFS  
WFVDDVEVHTAQRPEEQFNSTFRSVSELPILHQDWLNGR~~TFRCK~~VTSAAFPSP  
EKTISKPEGRTQVPHVYTMSP~~TK~~EEMTQNEVSITCMVKG~~F~~YPPDIYVEWQMNGQ  
PQENYKNTPTMDTDGSYFLY~~SKLNV~~KK~~EW~~Q~~Q~~NTFTCSVLHEGLHNH~~HT~~EK  
SLSHSPGK

**Anticuerpo V - Región variable de cadena ligera**

5 SEQ ID NO: 36

DILLTQSPATLSVTPGDSVLS~~CRAS~~SDSISGSLHWYQQKSHESPRLLIKYASQ~~SISGI~~  
PSRFSGSGSGTDFTLSINSVETEDFGMYFCQ~~QNSW~~PLNFGAGTKLELK

**Anticuerpo V - Región variable de cadena pesada**

SEQ ID NO: 37

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLS~~CA~~ASGFTFSSYTMSWVRQTPEKRLEWVATISGG  
GGNTYYPDSVKGRFTISRDN~~AKNTLYL~~QLSSLRSEDTALYYCARPGYNNYYFDY  
WGQGTTLTVSS

10 **Anticuerpo V - CDR de cadena pesada**

SEQ ID NO: 38 TISGGGGNTYYPDSVKG  
SEQ ID NO: 39 PGYNNYYFDY

**Anticuerpo V - CDR de cadena ligera**

15 SEQ ID NO: 40 RASDSISGSLH  
SEQ ID NO: 41 YASQ~~SIS~~  
SEQ ID NO: 42 QQNSWPLN

**CDR de cadena pesada de consenso**

20 SEQ ID NO: 43 TISGGG~~X<sub>1</sub>~~~~X<sub>2</sub>~~TYYPDSVKG  
~~X<sub>1</sub>~~ es F, G  
~~X<sub>2</sub>~~ es G, N

SEQ ID NO: 44 PGY~~X<sub>3</sub>~~NY~~Y~~FDI  
~~X<sub>3</sub>~~ es H, N

25 SEQ ID NO: 45 PGY~~X<sub>4</sub>~~NY~~Y~~FD~~X<sub>5</sub>~~  
~~X<sub>4</sub>~~ es H, N  
~~X<sub>5</sub>~~ es I, Y

**CDR de cadena ligera de consenso**

30 SEQ ID NO: 46 ~~X<sub>6</sub>~~ASDSIS~~X<sub>7</sub>~~SLH  
~~X<sub>6</sub>~~ es H, R  
~~X<sub>7</sub>~~ es N, G

SEQ ID NO: 47 Y~~X<sub>8</sub>~~RQS~~X<sub>9</sub>~~Q  
~~X<sub>8</sub>~~ es G, A  
~~X<sub>9</sub>~~ es I, E

SEQ ID NO: 48 Y~~X<sub>10</sub>~~~~X<sub>11</sub>~~QS~~X<sub>12</sub>~~~~X<sub>13</sub>~~  
~~X<sub>10</sub>~~ es G, A

X<sub>11</sub> es R, S  
X<sub>12</sub> es I, E  
X<sub>13</sub> es Q, S

5 SEQ ID NO: 49 QQSX<sub>14</sub>SWPLH  
X<sub>14</sub> es E, A

SEQ ID NO: 50 QQSX<sub>15</sub>SWPLX<sub>16</sub>  
X<sub>15</sub> es E, A, N  
X<sub>16</sub> es H, N

**Región variable de cadena pesada de consenso**

10 SEQ ID NO: 51

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYTMSWVRQAPGKGLEWVATISGG  
FGFTYYPDSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPGYX<sub>17</sub>NYYF  
DIWGQGTTVTVSS

X<sub>17</sub> es H, N

**Región variable de cadena ligera de consenso**

SEQ ID NO: 52

15 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASDSISNSLHWYQQKPGQAPRLLIYYX<sub>18</sub>RQS  
X<sub>19</sub>QGIPARFSGSGSGTDFLTISLLEPEDFAVYYC QQSX<sub>20</sub>SWPLHFGGGTKVEIK

X<sub>18</sub> es G, A

X<sub>19</sub> es I, E

X<sub>20</sub> es E, A

A continuación se describirá la presente invención en referencia a las siguientes cláusulas numeradas.

- 20 1. Un anticuerpo DKK-1 manipulado que tiene una Kd de menos de  $5,0 \times 10^{-11}$  M para la DKK-1 humana (SEQ ID NO:29), la DKK-1 de cinomolgo (SEQ ID NO:30), la Dkk-1 de rata (SEQ ID NO:31), la DKK-1 de ratón (SEQ ID NO:33) y la DKK-1 de conejo (SEQ ID NO: 32) o un fragmento de unión a antígeno de los mismos.
2. Un anticuerpo manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la Cláusula 1, en el que la Kd se determina a 37 °C usando un instrumento KinExA 3000.
- 25 3. Un anticuerpo DKK-1 manipulado o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de la Cláusula 1 o la Cláusula 2, que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en el que la LCVR comprende las regiones determinantes de complementariedad (CDR) LCDR1, LCDR2 y LCDR3 y la HCVR comprende las CDR HCDR1, HCDR2 y HCDR3, en la que la LCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, la HCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y la HCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2.
- 30 4. Un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de la Cláusula 3, en el que la LCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, la LCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la LCDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:49, la HCDR1 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 y la HCDR3 tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44.
- 35 5. El anticuerpo DKK-1 manipulado o el fragmento de unión a antígeno del mismo, de la Cláusula 3 o la Cláusula 4, en el que la LCDR1, la LCDR2, la LCDR3, la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 tienen las secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en:
- 40 (i) la LCDR1 es la SEQ ID NO: 5, la LCDR2 es la SEQ ID NO: 6, la LCDR3 es la SEQ ID NO: 7, la HCDR1 es la SEQ ID NO: 1, la HCDR2 es la SEQ ID NO: 2 y la HCDR3 es la SEQ ID NO: 3,
- (ii) la LCDR1 es la SEQ ID NO: 5, la LCDR2 es la SEQ ID NO: 8, la LCDR3 es la SEQ ID NO: 7, la HCDR1 es la SEQ ID NO: 1, la HCDR2 es la SEQ ID NO: 2 y la HCDR3 es la SEQ ID NO: 4,
- (iii) la LCDR1 es la SEQ ID NO: 5, la LCDR2 es la SEQ ID NO: 6, la LCDR3 es la SEQ ID NO: 9, la HCDR1 es la SEQ ID NO: 1, la HCDR2 es la SEQ ID NO: 2 y la HCDR3 es la SEQ ID NO: 3,
- 45 (iv) la LCDR1 es la SEQ ID NO: 5, la LCDR2 es la SEQ ID NO: 10, la LCDR3 es la SEQ ID NO: 9, la HCDR1 es la SEQ ID NO: 1, la HCDR2 es la SEQ ID NO: 2 y la HCDR3 es la SEQ ID NO: 3.

6. El anticuerpo DKK-1 manipulado de la Cláusula 3 o la Cláusula 4, en el que la LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52 y la HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 51.
7. El anticuerpo DKK-1 manipulado de una cualquiera de las Cláusulas 3 a 6, en el que la LCVR comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 13, la SEQ ID NO: 14, la SEQ ID NO: 15 y la SEQ ID NO: 16.
8. El anticuerpo DKK-1 manipulado de una cualquiera de las Cláusulas 3 a 7, en el que la HCVR comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 11 y la SEQ ID NO: 12.
9. El anticuerpo DKK-1 manipulado de una cualquiera de las Cláusulas 3 a 8, en el que la LCVR y la HCVR comprenden las secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consisten en:
- (i) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11;
  - (ii) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12;
  - (iii) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11;
  - (iv) una LCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16 y una HCVR que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.
10. El anticuerpo DKK-1 manipulado de la Cláusula 9, en el que la LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14 y la HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12.
11. El anticuerpo DKK-1 manipulado de una cualquiera de las Cláusulas 3 a 9, en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado comprende una cadena ligera en la que la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 19, la SEQ ID NO: 20, la SEQ ID NO: 21 y la SEQ ID NO: 22.
12. El anticuerpo DKK-1 manipulado de una cualquiera de las Cláusulas 3 a 9 o las Cláusulas 11 a 12, en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado comprende una cadena pesada en la que la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 17 y la SEQ ID NO: 18.
13. El anticuerpo DKK-1 manipulado de una cualquiera de las Cláusulas 3 a 9 o las Cláusulas 11 a 12, en el que el anticuerpo DKK-1 manipulado comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada y de cadena ligera seleccionados del grupo que consiste en
- a. una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19,
  - b. una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20,
  - c. una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21, y
  - d. una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 u una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22.
14. El anticuerpo DKK-1 manipulado de una cualquiera de las Cláusulas 3 a 13 que comprende dos cadenas ligeras en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y dos cadenas pesadas en las que cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18.
15. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que compite con el anticuerpo DKK-1 manipulado o el fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las Cláusulas 3 a 14 por la unión a la DKK-1 humana (SEQ ID NO:29) tal como se determina mediante un ensayo de competición de anticuerpos.
16. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo DKK-1 manipulado o el fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las Cláusulas 1 a 15, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
17. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo DKK-1 manipulado o el fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las Cláusulas 1 a 15 junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos.
18. Un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las Cláusulas 1 a 15 para su uso en terapia.
19. Un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las Cláusulas 1 a 15 para su uso en el tratamiento de cicatrización del hueso.

20. Uso del anticuerpo DKK-1 manipulado o del fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las Cláusulas 1 a 15 en la fabricación de un medicamento para la cicatrización del hueso.

21. Un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las Cláusulas 1 a 15 para su uso en el tratamiento de cáncer.

5 22. Un anticuerpo DKK-1 manipulado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las Cláusulas 1 a 15 para su uso en el tratamiento de cáncer, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en mieloma múltiple, cáncer de mama y cáncer pulmonar no microcítico.

23. Uso del anticuerpo DKK-1 manipulado o del fragmento de unión a antígeno del mismo, de una cualquiera de las Cláusulas 1 a 15 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer.

10 24. El uso de acuerdo con la Cláusula 23, en el que el cáncer se selecciona del grupo que consiste en mieloma múltiple, cáncer de mama y cáncer pulmonar no microcítico.

LISTADO DE SECUENCIAS

15 <110> Eli Lilly and Company

<120> Anticuerpos DKK-1

<130> X18097A EP

20 <150> 61/168411

<151> 10-04-2009

<150> PCT/US2010/030039

<151> 06-04-2010

25 <150> 10712681.5

<151> 06-04-2010

<160> 52

30 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 10

35 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> Construcción sintética

<400> 1

**Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser**  
**1 5 10**

45 <210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50 <220>

<223> Construcción sintética

<400> 2

ES 2 728 911 T3

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

Gly

5 <210> 3  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 10 <400> 3

Pro Gly Tyr His Asn Tyr Tyr Phe Asp Ile  
 1 5 10

15 <210> 4  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 4

Pro Gly Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Ile  
 1 5 10

25 <210> 5  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 35 <400> 5

His Ala Ser Asp Ser Ile Ser Asn Ser Leu His  
 1 5 10

40 <210> 6  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 45 <223> Construcción sintética  
 <400> 6

Tyr Gly Arg Gln Ser Ile Gln  
 1 5

50 <210> 7

ES 2 728 911 T3

<211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 7  
  
 Gln Gln Ser Glu Ser Trp Pro Leu His  
 1 5  
 10  
 <210> 8  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 15 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 20 <400> 8  
  
 Tyr Ala Arg Gln Ser Ile Gln  
 1 5  
 25 <210> 9  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 30 <223> Construcción sintética  
 <400> 9  
  
 Gln Gln Ser Ala Ser Trp Pro Leu His  
 1 5  
 35 <210> 10  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 10  
 45  
  
 Tyr Ala Arg Gln Ser Glu Gln  
 1 5  
 50 <210> 11  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 55 <223> Construcción sintética  
 <400> 11

ES 2 728 911 T3

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Pro Gly Tyr His Asn Tyr Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 12  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

10

<400> 12

ES 2 728 911 T3

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

- <210> 13
- <211> 107
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Construcción sintética
- 5
- 10 <400> 13

ES 2 728 911 T3

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys His Ala Ser Asp Ser Ile Ser Asn Ser  
 20 25 30

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

Tyr Tyr Gly Arg Gln Ser Ile Gln Gly Ile 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 Tyr Cys Gln Gln Ser Glu Ser Trp Pro Leu  
 85 90 95

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

<210> 14  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 14

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys His Ala Ser Asp Ser Ile Ser Asn Ser  
 20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Arg Gln Ser Ile Gln Gly Ile 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

ES 2 728 911 T3

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

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

5 <210> 15  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Construcción sintética  
<400> 15

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys His Ala Ser Asp Ser Ile Ser Asn Ser  
20 25 30

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

Tyr Tyr Gly Arg Gln Ser Ile Gln Gly Ile 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 Tyr Cys Gln Gln Ser Ala Ser Trp Pro Leu  
85 90 95

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

15 <210> 16  
<211> 107  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> Construcción sintética  
<400> 16

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys His Ala Ser Asp Ser Ile Ser Asn Ser

25



ES 2 728 911 T3

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro  
 210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
 260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

ES 2 728 911 T3

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 385 390 395 400

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 435 440 445

<210> 18  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 18

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140

ES 2 728 911 T3

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro  
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro  
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe  
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

ES 2 728 911 T3

385					390						395				400
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
				405					410						415
Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
			420					425					430		
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly			
		435					440					445			

<210> 19  
<211> 214  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Construcción sintética

10

<400> 19

ES 2 728 911 T3

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

<210> 20  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 20

5

10

ES 2 728 911 T3

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

5

<210> 21  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Construcción sintética

ES 2 728 911 T3

<400> 21

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys His Ala Ser Asp Ser Ile Ser Asn Ser  
 20 25 30

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

Tyr Tyr Gly Arg Gln Ser Ile Gln Gly Ile 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 Tyr Cys Gln Gln Ser Ala Ser Trp Pro Leu  
 85 90 95

His Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

5

<210> 22  
 <211> 214  
 <212> PRT

ES 2 728 911 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

5

<400> 22

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys His Ala Ser Asp Ser Ile Ser Asn Ser  
 20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Arg Gln Ser Glu Gln Gly Ile 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 Tyr Cys Gln Gln Ser Ala Ser Trp Pro Leu  
 85 90 95

His Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

10

<210> 23

<211> 1335

ES 2 728 911 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 23

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc      60
tctctgtcag cctctggatt cactttcagt agctatacca tgtcttgggt ccgccagget      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtggccacc atttccggtg gtggtttcgg cacatactat      180
cccgcagctg tgaagggtcg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccactgtat      240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacctgga      300
tatcacaact actactttga catctggggc caagggacca cggtcaccgt ctccctcagcc      360
tccaccaagg gcccatcggt ctcccgcta ggcacctgct ccaggagcac ctccgagagc      420
acagccgccc tgggtgcct ggtcaaggac tacttccccg aacoggtgac ggtgtcgtgg      480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtccctcagga      540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg cctccagca gcttgggcac gaagacctac      600
acctgcaacg tagatcacia gccacgcaac accaaggtgg acaagagagt tgagtccaaa      660
tatggtcccc catgcccacc ctgcccagca cctgaggccg ccgggggacc atcagtcttc      720
ctgttcccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc      780
gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc      840

gtggaggtgc ataatgcca gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt      900
gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc      960
aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg     1020
cagccccgag agccacaggt gtacaccctg ccccatccc aggaggagat gaccaagaac     1080
caggtcagcc tgacctgct ggtcaaaggc ttctaccca ggcacatgc cgtggagtgg     1140
gaaagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgctgt ggactccgac     1200
ggctccttct tctctacag caggctaacc gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat     1260
gtcttctcat gtcctgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc     1320
tcctgtctc tgggt                                     1335
    
```

10 <210> 24  
 <211> 1335  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Construcción sintética

ES 2 728 911 T3

<400> 24

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agotatacca tgtcttgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaagg ggctggagtg ggtggccacc atttccggtg gtggtttcgg cacatactat 180  
 cccgacagtg tgaagggtcg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacctgga 300  
 tataataact actactttga catctggggc caagggacca cggtcaccgt ctccctcagcc 360  
 tccaccaagg gcccatcggg ttccccgta ggcacctgct ccaggagcac ctccgagagc 420  
 acagccgccc tgggtgcctt ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480  
 aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac acottccccg ctgtcctaca gtccctcagga 540  
 ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac gaagacctac 600  
 acctgcaacg tagatcacia gccccagcaac accaagggtg acaagagagt tgagtccaaa 660  
 tatggtcccc catgcccacc ctgcccagca cctgaggccg ccgggggacc atcagtcttc 720  
 ctgttcccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 780  
 gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggagtgg 840  
 gtggaggtgc ataatgcaa gacaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt 900  
 gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 960  
 aaggctctca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggg 1020  
 cagccccgag agccacagggt gtacaccctg cccccatccc aggaggagat gaccaagaac 1080  
 caggtcagcc tgacctgctt ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140  
 gaaagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200  
 ggctccttct tcctctacag caggctaacc gtggacaaga gcagggtgca ggaggggaat 1260  
 gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc 1320  
 tcctgtctc tgggt 1335

5

<210> 25  
 <211> 642  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Construcción sintética

15

<400> 25

ES 2 728 911 T3

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgcc acgccagcga cagtattagc aacagcctac actggtacca acagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctattat ggcagacagt ccatccaggg catcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcaacag agtgagagct ggccgctcca cttcgcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 ccagagagg ccaaagtaca gtggaagtg gataacgccc tccaatcggg taactccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gc 642

5 <210> 26  
 <211> 642  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 26

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgcc acgccagcga cagtattagc aacagcctac actggtacca acagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctattat gctagacagt ccatccaggg catcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240  
 gaagattttg cagtttatta ctgtcaacag agtgagagct ggccgctcca cttcgcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 ccagagagg ccaaagtaca gtggaagtg gataacgccc tccaatcggg taactccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gc 642

15 <210> 27  
 <211> 642  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> Construcción sintética

ES 2 728 911 T3

<400> 27

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgcc acgccagcga cagtattagc aacagcctac actggtacca acagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctattat ggcagacagt ccatccaggg catcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240  
 gaagatthtg cagthtatta ctgtcaacag agtgccagct ggccgctoca cttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgthgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgct gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gc 642

5

<210> 28  
 <211> 642  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Construcción sintética

15

<400> 28

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60  
 ctctcctgcc acgccagcga cagtattagc aacagcctac actggtacca acagaaacct 120  
 ggccaggctc ccaggctcct catctattat gctagacagt ccgagcaggg catcccagcc 180  
 aggttcagtg gcagtggtgc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagagcct 240  
 gaagatthtg cagthtatta ctgtcaacag agtgccagct ggccgctoca cttcggcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgthgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgcc tccaatcggg taactcccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgct gcgaagtcac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gc 642

20

<210> 29  
 <211> 235  
 <212> PRT

ES 2 728 911 T3

<213> *Homo sapiens*

<400> 29

Thr Leu Asn Ser Val Leu Asn Ser Asn Ala Ile Lys Asn Leu Pro Pro  
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly Ala Ala Gly His Pro Gly Ser Ala Val Ser Ala Ala  
 20 25 30

Pro Gly Ile Leu Tyr Pro Gly Gly Asn Lys Tyr Gln Thr Ile Asp Asn  
 35 40 45

Tyr Gln Pro Tyr Pro Cys Ala Glu Asp Glu Glu Cys Gly Thr Asp Glu  
 50 55 60

Tyr Cys Ala Ser Pro Thr Arg Gly Gly Asp Ala Gly Val Gln Ile Cys  
 65 70 75 80

Leu Ala Cys Arg Lys Arg Arg Lys Arg Cys Met Arg His Ala Met Cys  
 85 90 95

Cys Pro Gly Asn Tyr Cys Lys Asn Gly Ile Cys Val Ser Ser Asp Gln  
 100 105 110

Asn His Phe Arg Gly Glu Ile Glu Glu Thr Ile Thr Glu Ser Phe Gly  
 115 120 125

Asn Asp His Ser Thr Leu Asp Gly Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Leu Ser  
 130 135 140

Ser Lys Met Tyr His Thr Lys Gly Gln Glu Gly Ser Val Cys Leu Arg  
 145 150 155 160

Ser Ser Asp Cys Ala Ser Gly Leu Cys Cys Ala Arg His Phe Trp Ser  
 165 170 175

Lys Ile Cys Lys Pro Val Leu Lys Glu Gly Gln Val Cys Thr Lys His  
 180 185 190

Arg Arg Lys Gly Ser His Gly Leu Glu Ile Phe Gln Arg Cys Tyr Cys  
 195 200 205

Gly Glu Gly Leu Ser Cys Arg Ile Gln Lys Asp His His Gln Ala Ser  
 210 215 220

Asn Ser Ser Arg Leu His Thr Cys Gln Arg His  
 225 230 235

<210> 30

ES 2 728 911 T3

<211> 234  
 <212> PRT  
 <213> *Cebus albifrons*

5 <400> 30

Thr Leu Asn Ser Val Leu Asn Ser Asn Ala Ile Lys Asn Leu Pro Pro  
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Gly Ala Ala Gly His Pro Gly Ser Ala Val Ser Ala Ala  
 20 25 30

Pro Gly Ile Leu Tyr Pro Gly Gly Asn Lys Tyr Gln Thr Ile Asp Asn  
 35 40 45

Tyr Gln Pro Tyr Pro Cys Ala Glu Asp Glu Glu Cys Gly Thr Asp Glu  
 50 55 60

Tyr Cys Ala Ser Pro Thr Arg Gly Gly Asp Ala Gly Val Gln Ile Cys  
 65 70 75 80

Leu Ala Cys Arg Lys Arg Arg Lys Arg Cys Met Arg His Ala Met Cys  
 85 90 95

Cys Pro Gly Asn Tyr Cys Lys Asn Gly Ile Cys Val Ser Ser Asp Gln  
 100 105 110

Asn Asn Phe Arg Gly Glu Ile Glu Glu Thr Ile Thr Glu Ser Phe Gly  
 115 120 125

Asn Asp His Ser Thr Leu Asp Gly Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Leu Ser  
 130 135 140

Ser Lys Met Tyr His Ser Lys Gly Gln Glu Gly Ser Val Cys Leu Arg  
 145 150 155 160

Ser Ser Asp Cys Ala Thr Gly Leu Cys Cys Ala Arg His Phe Trp Ser  
 165 170 175

Lys Ile Cys Lys Pro Val Leu Lys Glu Gly Gln Val Cys Thr Lys His  
 180 185 190

Arg Arg Lys Gly Ser His Gly Leu Glu Ile Phe Gln Arg Cys Tyr Cys  
 195 200 205

Gly Glu Gly Leu Ser Cys Arg Ile Gln Lys Asp His His Gln Ala Ser  
 210 215 220

Asn Ser Ser Arg Leu His Thr Cys Gln Arg  
 225 230

ES 2 728 911 T3

<210> 31  
 <211> 252  
 <212> PRT  
 <213> *Rattus rattus*

5

<400> 31

Thr Leu Asn Ser Val Leu Ile Asn Ser Asn Ala Ile Lys Asn Leu Pro  
 1 5 10 15

Pro Pro Leu Gly Gly Ala Gly Gly Gln Pro Gly Ser Ala Val Ser Val  
 20 25 30

Ala Pro Gly Val Leu Tyr Glu Gly Gly Asn Lys Tyr Gln Thr Leu Asp  
 35 40 45

Asn Tyr Gln Pro Tyr Pro Cys Ala Glu Asp Glu Glu Cys Gly Thr Asp  
 50 55 60

Glu Tyr Cys Ser Ser Pro Ser Arg Gly Ala Ala Gly Val Gly Gly Val  
 65 70 75 80

Gln Ile Cys Leu Ala Cys Arg Lys Arg Arg Lys Arg Cys Met Arg His  
 85 90 95

Ala Met Cys Cys Pro Gly Asn Tyr Cys Lys Asn Gly Ile Cys Met Pro  
 100 105 110

Ser Asp His Ser His Leu Pro Arg Gly Glu Ile Glu Glu Gly Ile Ile  
 115 120 125

Glu Asn Leu Gly Asn Asp His Gly Ala Gly Asp Gly Tyr Pro Arg Arg

ES 2 728 911 T3

130		135		140											
Thr	Thr	Leu	Thr	Ser	Lys	Ile	Tyr	His	Thr	Lys	Gly	Gln	Glu	Gly	Ser
145					150					155					160
Val	Cys	Leu	Arg	Ser	Ser	Asp	Cys	Ala	Thr	Gly	Leu	Cys	Cys	Ala	Arg
				165					170					175	
His	Phe	Trp	Ser	Lys	Ile	Cys	Lys	Pro	Val	Leu	Lys	Glu	Gly	Gln	Val
			180					185					190		
Cys	Thr	Lys	His	Arg	Arg	Lys	Gly	Ser	His	Gly	Leu	Glu	Ile	Phe	Gln
		195					200					205			
Arg	Cys	Tyr	Cys	Gly	Glu	Gly	Leu	Ala	Cys	Arg	Ile	Gln	Lys	Asp	His
	210					215					220				
His	Gln	Thr	Ser	Asn	Ser	Ser	Arg	Leu	His	Thr	Cys	Gln	Arg	His	Ala
225					230					235					240
Phe	Ile	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	His	Val				
				245					250						

<210> 32  
 <211> 236  
 <212> PRT  
 <213> *Lepus americanus*

5

<400> 32

ES 2 728 911 T3

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

<210> 33  
 <211> 241  
 <212> PRT

ES 2 728 911 T3

<213> *Mus musculus*

<400> 33

Thr Leu Asn Ser Val Leu Ile Asn Ser Asn Ala Ile Lys Asn Leu Pro  
 1 5 10 15

Pro Pro Leu Gly Gly Ala Gly Gly Gln Pro Gly Ser Ala Val Ser Val  
 20 25 30

Ala Pro Gly Val Leu Tyr Glu Gly Gly Asn Lys Tyr Gln Thr Leu Asp  
 35 40 45

Asn Tyr Gln Pro Tyr Pro Cys Ala Glu Asp Glu Glu Cys Gly Ser Asp  
 50 55 60

Glu Tyr Cys Ser Ser Pro Ser Arg Gly Ala Ala Gly Val Gly Gly Val  
 65 70 75 80

Gln Ile Cys Leu Ala Cys Arg Lys Arg Arg Lys Arg Cys Met Thr His  
 85 90 95

Ala Met Cys Cys Pro Gly Asn Tyr Cys Lys Asn Gly Ile Cys Met Pro  
 100 105 110

Ser Asp His Ser His Phe Pro Arg Gly Glu Ile Glu Glu Ser Ile Ile  
 115 120 125

Glu Asn Leu Gly Asn Asp His Asn Ala Ala Ala Gly Asp Gly Tyr Pro  
 130 135 140

Arg Arg Thr Thr Leu Thr Ser Lys Ile Tyr His Thr Lys Gly Gln Glu  
 145 150 155 160

Gly Ser Val Cys Leu Arg Ser Ser Asp Cys Ala Ala Gly Leu Cys Cys  
 165 170 175

Ala Arg His Phe Trp Ser Lys Ile Cys Lys Pro Val Leu Lys Glu Gly  
 180 185 190

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

Phe Gln Arg Cys Tyr Cys Gly Glu Gly Leu Ala Cys Arg Ile Gln Lys  
 210 215 220

Asp His His Gln Ala Ser Asn Ser Ser Arg Leu His Thr Cys Gln Arg  
 225 230 235 240

His

ES 2 728 911 T3

<210> 34  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

10

<400> 34

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Gly Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu  
 85 90 95

Asn Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Ala Asp Ala Ala  
 100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Thr Glu Gln Leu Ala Thr Gly  
 115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Leu Met Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Asp Ile  
 130 135 140

Ser Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Thr Glu Arg Arg Asp Gly Val Leu  
 145 150 155 160

Asp Ser Val Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Ser Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Ser His Asn Leu Tyr  
 180 185 190

Thr Cys Glu Val Val His Lys Thr Ser Ser Ser Pro Val Val Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
 210

ES 2 728 911 T3

<210> 35  
<211> 445  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Construcción sintética

10

<400> 35

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

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

ES 2 728 911 T3

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

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

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

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr  
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Gly Thr Ala Leu Lys Ser Asn Ser Met Val Thr Leu  
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp  
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
165 170 175

Gln Ser Gly Leu Tyr Thr Leu Thr Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser  
195 200 205

Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asn Cys Gly Gly Asp  
210 215 220

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

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys  
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Gln Asp Asp Pro Glu Val His  
260 265 270

Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Arg  
275 280 285

ES 2 728 911 T3

Pro Pro Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu  
 290 295 300

Pro Ile Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Arg Thr Phe Arg Cys Lys  
 305 310 315 320

Val Thr Ser Ala Ala Phe Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
 325 330 335

Pro Glu Gly Arg Thr Gln Val Pro His Val Tyr Thr Met Ser Pro Thr  
 340 345 350

Lys Glu Glu Met Thr Gln Asn Glu Val Ser Ile Thr Cys Met Val Lys  
 355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Pro Asp Ile Tyr Val Glu Trp Gln Met Asn Gly Gln  
 370 375 380

Pro Gln Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Pro Pro Thr Met Asp Thr Asp Gly  
 385 390 395 400

Ser Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Asn Val Lys Lys Glu Lys Trp Gln  
 405 410 415

Gln Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn  
 420 425 430

His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 36  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 36

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

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

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

5

10

ES 2 728 911 T3

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

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

Glu Asp Phe Gly Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu  
85 90 95

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

5 <210> 37  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Construcción sintética  
<400> 37

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

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser  
115

15 <210> 38  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>

ES 2 728 911 T3

<223> Construcción sintética

<400> 38

5

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

Gly

<210> 39

<211> 10

10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15

<400> 39

Pro Gly Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr  
1 5 10

20

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25

<220>

<223> **Construcción sintética**

<400> 40

Arg Ala Ser Asp Ser Ile Ser Gly Ser Leu His  
1 5 10

30

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

35

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

40

<400> 41

Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser  
1 5

45

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 42

ES 2 728 911 T3

Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu Asn  
1 5

5 <210> 43  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Construcción sintética

15 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (7)..(7)  
<223> Xaa en la posición 7 = Phe o Gly

20 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (8)..(8)  
<223> Xaa en la posición 8 = Gly o Asn

<400> 43

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

**Gly**

25 <210> 44  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

30 <220>  
<223> Construcción sintética

35 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (4)..(4)  
<223> Xaa en la posición 4 = His o Asn

<400> 44

Pro Gly Tyr Xaa Asn Tyr Tyr Phe Asp Ile  
1 5 10

40 <210> 45  
<211> 10  
<212> PRT  
45 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Construcción sintética

50 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (4)..(4)  
<223> Xaa en la posición 4 = His o Asn

55 <220>  
<221> MISC\_FEATURE  
<222> (10)..(10)

ES 2 728 911 T3

<223> Xaa en la posición 10 = Ile o Tyr

<400> 45

5                                   **Pro Gly Tyr Xaa Asn Tyr Tyr Phe Asp Xaa**  
   **1  5  10**

<210> 46

<211> 11

<212> PRT

10     <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

15     <220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa en la posición 1 = His o Arg

20     <220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa en la posición 8 = Asn o Gly

25     <400> 46

**Xaa Ala Ser Asp Ser Ile Ser Xaa Ser Leu His**  
   **1  5  10**

30     <210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35     <220>

<223> Construcción sintética

40     <220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa en la posición 2 = Gly o Ala

45     <220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa en la posición 6 = Ile o Glu

<400> 47

**Tyr Xaa Arg Gln Ser Xaa Gln**  
   **1  5**

50     <210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

55     <220>

<223> Construcción sintética

60     <220>

<221> MISC\_FEATURE

ES 2 728 911 T3

<222> (2)..(2)  
 <223> Xaa en la posición 2 = Gly o Ala

5 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa en la posición 3 = Arg o Ser

10 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa en la posición 6 = Ile o Glu

15 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Xaa en la posición 7 = Gln o Ser

20 <400> 48  
  
**Tyr Xaa Xaa Gln Ser Xaa Xaa**  
**1 5**

25 <210> 49  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> Construcción sintética

35 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa en la posición 4 = Glu o Ala  
  
 <400> 49  
  
**Gln Gln Ser Xaa Ser Trp Pro Leu His**  
**1 5**

40 <210> 50  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> Construcción sintética

50 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa en la posición 4 = Glu, Ala o Asn

55 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..(9)  
 <223> Xaa en la posición 9 = His o Asn  
  
 <400> 50  
  
**Gln Gln Ser Xaa Ser Trp Pro Leu Xaa**  
**1 5**

60

5  
 <210> 51  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

10  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (102)..(102)  
 <223> Xaa en la posición 102 = His o Asn

15  
 <400> 51

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Pro Gly Tyr Xaa Asn Tyr Tyr Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115

20  
 <210> 52  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25  
 <220>  
 <223> Construcción sintética

30  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (51)..(51)  
 <223> Xaa en la posición 51 = Gly o Ala

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE

ES 2 728 911 T3

<222> (55)..(55)

<223> Xaa en la posición 55 = Ile o Glu

<220>

5 <221> MISC\_FEATURE

<222> (92)..(92)

<223> Xaa en la posición 92 = Glu o Ala

<400> 52

10

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys His Ala Ser Asp Ser Ile Ser Asn Ser  
 20 25 30

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

Tyr Tyr Xaa Arg Gln Ser Xaa Gln Gly Ile 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 Tyr Cys Gln Gln Ser Xaa Ser Trp Pro Leu  
 85 90 95

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

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un anticuerpo DKK-1 diseñado por ingeniería genética o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región variable de cadena ligera (LCVR) y una región variable de cadena pesada (HCVR), en la que la LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14 y la HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12.
2. Un anticuerpo DKK-1 diseñado por ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el anticuerpo DKK-1 diseñado por ingeniería genética comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20.
- 10 3. Un anticuerpo DKK-1 diseñado por ingeniería genética de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que comprende dos cadenas ligeras en el que cada una de las cadenas ligeras comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y dos cadenas pesadas en el que cada una de las cadenas pesadas comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18.
- 15 4. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo DKK-1 diseñado por ingeniería genética o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.